

**EKSTRÜZYON PİŞİRMENİN MAILLARD REAKSİYONU  
ÜZERİNE ETKİLERİ**

**EFFECTS OF EXTRUSION COOKING ON MAILLARD  
REACTION**

**MUSTAFA TUĞRUL MASATCIOĞLU**

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

GIDA MÜHENDİSLİĞİ Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

DOKTORA TEZİ

olarak hazırlanmıştır.

2013

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bu çalışma jürimiz tarafından **GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI'nda DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan :.....

Prof. Dr. Ender S. POYRAZOĞLU

Üye (Danışman) :.....

Prof. Dr. Hamit KÖKSEL

Üye :.....

Prof. Dr. Vural GÖKMEN

Üye :.....

Prof. Dr. Dilek SİVRİ ÖZAY

Üye :.....

Doç. Dr. Behiç MERT

ONAY

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından ...../...../..... tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulunca ...../...../..... tarihinde kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Fatma SEVİN DÜZ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

# EKSTRÜZYON PIŞİRMENİN MAILLARD REAKSİYONU ÜZERİNE ETKİLERİ

**Mustafa Tuğrul Masatcioğlu**

## ÖZ

Bu çalışmada ekstrüzyon pişirme sırasında sistem parametreleri ve ürün formülasyonunda kullanılan ingredienlerin Maillard reaksiyonu üzerine etkileri araştırılmıştır. İndirgen şekerler (D-glukoz ve D-riboz), kabartma ajanları (sodyum bikarbonat ve amonyum bikarbonat), soya protein izolatu, asparajin, sitrik asit ve beyaz mısır unu kullanılarak farklı formülasyonlar hazırlanmıştır. Bu formülasyonlarla geleneksel ekstrüzyon ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemleri kullanılarak farklı sistem parametreleri ile ekstrüzyon ürünleri üretilmiştir. Maillard reaksiyon ürünlerinden furozin, furfural, hidroksimetilfurfural (HMF) ve akrilamid seviyeleri takip edilmiştir. Ayrıca, formülasyon bileşenleri ve sistem parametrelerinin, ekstrüzyon ürünlerinin fiziksel özellikleri üzerine etkileri de incelenmiştir.

D-glukoz yerine D-riboz'un kullanılması, ekstrüzyon ürünlerinde furozin içeriğinin azalmasına neden olmuştur. Buna ek olarak, sodyum bikarbonat ve amonyum bikarbonat ilave edilen ekstrüzyon ürünlerinde furozin içeriği önemli ölçüde azalmıştır. Sitrik asit ilavesi (1% w/w) furfural oluşumunu teşvik ederken, Uluslararası Kanseri Araştırma Ajansı (IARC) tarafından "insanlar için olası karsinojen" olarak sınıflandırılan akrilamid oluşumunu önemli ölçüde sınırlandırmıştır. Bu çalışmada kullanılan kimyasal kabartma ajanlarından amonyum bikarbonat; furfural, HMF ve akrilamid içeriğini önemli ölçüde artırmıştır. Diğer kimyasal kabartma ajanı, sodyum bikarbonat da HMF ve akrilamid içeriğini önemli ölçüde artırmıştır, fakat bu artış daha düşük düzeydedir. Yüksek sıcaklık ve düşük besleme nem koşullarında 75 psi basınçta CO<sub>2</sub> enjeksiyonu uygulaması ile üretilen ekstrüzyon ürünlerinin akrilamid içeriğinde %61 oranında bir azalma gözlenmiştir. Akrilamid oluşumu hem geleneksel ekstrüzyon hem de CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemlerinde besleme nem içeriğinin %22'den %26'ya artırılmasıyla önemli ölçüde sınırlandırılmıştır, ancak CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yönteminin etkisi daha belirgin olmuştur. Akrilamid içeriğinde gözlenen bu dikkate değer azalma, yüksek besleme nem içeriğinde uygulanan CO<sub>2</sub> enjeksiyonunun akrilamid oluşumunda dekarboksilasyon ve dehidrasyon basamakları üzerine bloke edici etkisi ile ilişkili olabilir. Bu çalışmada ayrıca, CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yönteminin düşük sıcaklık uygulamalarında ekstrüzyon ürünlerinde genişlemeyi teşvik ettiği, daha yüksek sıcaklıklarda ise tersi bir etkisinin olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte genişleme indeksi ve motor torku değerleri arasında pozitif bir korelasyon, genişleme indeksi ve yığın yoğunluğu arasında ise negatif bir korelasyon tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Ekstrüzyon pişirme, CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi, Maillard reaksiyonu, furozin, furfural, hidroksimetilfurfural, akrilamid

**Danışman:** Prof. Dr. Hamit KÖKSEL, Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü

# EFFECTS OF EXTRUSION COOKING ON MAILLARD REACTION

**Mustafa Tuğrul Masatcioğlu**

## ABSTRACT

In this study, effects of system parameters and ingredients used in product formulations on Maillard reaction during extrusion cooking were investigated. Different formulations were prepared by using reducing sugars (D-glucose and D-ribose), chemical leavening agents (sodium bicarbonate and ammonium bicarbonate), soy protein isolate, asparagine, citric acid and white corn flour. These formulations were used to produce extrudates by conventional extrusion and CO<sub>2</sub> injection methods at different system parameter settings. Among the Maillard reaction products, levels of furosine, furfural, hydroxymethylfurfural (HMF) and acrylamide were monitored. Furthermore, effects of formula ingredients and system parameters on physical properties of extrusion products were also investigated.

Replacing D-glucose with D-ribose resulted in decreases in furosine contents of the extrusion products. Additionally, furosine contents significantly decreased in sodium bicarbonate and ammonium bicarbonate added extrudates. While the addition of citric acid (1% w/w) promoted the formation of furfural, limited the formation of acrylamide significantly which has been classified as a “probably carcinogen to humans” by the International Agency for Research on Cancer (IARC). One of the chemical leavening agents used in the present study, ammonium bicarbonate increased the furfural, HMF and acrylamide contents significantly. The other one, sodium bicarbonate also increased the HMF and acrylamide contents significantly, but at a lower level. By application of CO<sub>2</sub> injection at a pressure of 75 psi, a 61% decrease was observed in acrylamide content of the extrudates produced at high temperature and low feed moisture conditions. Acrylamide formation was significantly restricted by increasing the feed moisture content from 22% to 26% in both conventional extrusion and CO<sub>2</sub> injection methods; however, the effect of CO<sub>2</sub> injection method was more distinct. The observed considerable decrease in acrylamide content might be related to blocking effect of CO<sub>2</sub> injection applied at high feed moisture content on decarboxilation and dehydration steps of acrylamide formation. Furthermore, in this study, it was observed that CO<sub>2</sub> injection method stimulated the expansion in extrudates at lower temperature applications while a reverse effect was observed at higher temperatures. Moreover, there was a positive correlation between expansion index and motor torque value while a negative correlation was noted between expansion index and bulk density.

**Key words:** Extrusion cooking, CO<sub>2</sub> injection method, Maillard reaction, furosine, furfural, hydroxymethylfurfural, acrylamide

**Advisor:** Prof. Dr. Hamit KÖKSEL, Hacettepe University, Department of Food Engineering

## TEŞEKKÜR

Doktora tezimin her anında değerli öngörülerini, bilimsel katkıları ve yol göstericiliği ile desteğini gördüğüm, ayrıca doktora çalışmalarımın farklı dönemlerinde sunmuş olduğu imkanlar sayesinde uluslararası platformda da deneyim kazanmamı sağlayan danışmanım Sayın Prof.Dr. Hamit KÖKSEL'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın şekillenmesinde bilgi ve deneyimleri ile yön veren, değerli görüş ve önerileri ile doktora eğitimimde önemli yeri olan Tez İzleme Komitesinin değerli üyeleri, sayın hocalarım Prof.Dr. Vural GÖKMEN ve Prof.Dr. Dilek SİVRİ ÖZAY'a,

Doktora çalışmamın bir kısmını yürütmek amacıyla laboratuvarında çalışma imkanı bulduğum ve ekstrüzyon teknolojisi konusunda bilgi birikiminden faydalandığım Michigan State Üniversitesi (A.B.D.) öğretim üyelerinden Prof.Dr. Perry K.W. NG'e,

Desteğini daima yanımda hissettiğim değerli hocam Doç.Dr. Erkan YALÇIN'a,

Hacettepeli olduğum ilk günden beri hayatımda önemli yer edinen sevgili dostlarım Deniz BAŞ, Yelda ZENCİR, Serpil ÖZTÜRK, F. Ceyda DUDAK ŞEKER, Meltem YILDIRIM ve Eren NUMANOĞLU'na,

Laboratuvar çalışmalarım süresince bana destek olan, moral ve güç veren başta Abdulkadir TURAN, Ş. Özden İSMAİLOĞLU ve Akif Göktuğ BOZKURT olmak üzere, Seher GÜMÜŞ, Demet KÖROĞLU, Sine YENER, Dilay AYHAN, Aslıhan ÜNÜVAR, Servet KIVANÇ, Özlem TORUN, Tümay TEMİZ, Tolgahan KOCADAĞLI ve tüm çalışma arkadaşlarıma,

Teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatımın her anında sevgi ve hoşgörülerini ile bana moral ve güç veren, tüm eğitim yaşantım boyunca aldığım kararlarda yanımda olan, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, annem Necla MASATCIOĞLU, babam Mehmet MASATCIOĞLU, kardeşlerim İlknur, Gülnur ve Gözde'ne göstermiş oldukları sabır ve anlayışlarından dolayı tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Mustafa Tuğrul MASATCIOĞLU

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZ .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Ekstrüzyon Pişirme Teknolojisi .....	3
2.1.1. Ekstrüzyon proses parametreleri .....	4
2.1.2. Ekstrüzyon ürünlerinin özellikleri üzerine etki eden faktörler.....	5
2.2. Enzimatik Olmayan Esmerleşme Reaksiyonları .....	11
2.3. Maillard Reaksiyonu.....	11
2.4. Bazı Maillard Reaksiyon Ürünleri .....	15
2.4.1. Furozin.....	15
2.4.1.1. Furozin oluşum mekanizması .....	15
2.4.2. HMF ve Furfural .....	18
2.4.2.1. HMF ve furfural oluşum mekanizması.....	19
2.4.2.2. HMF'nin sağlık üzerine etkileri ve toksisitesi.....	22
2.4.3. Akrilamid .....	24
2.4.3.1. Akrilamid oluşum mekanizması.....	26
2.4.3.2. Akrilamidin sağlık üzerine etkileri ve toksik ve karsinojenik özellikleri.....	29
2.4.3.3. Akrilamid düzeyini azaltma stratejileri .....	31
3. MATERYAL ve METOT .....	33

3.1.	Materyal .....	33
3.1.1.	Hammadde .....	33
3.1.2.	Denemede kullanılan formülasyonlar .....	33
3.1.2.1.	Ekstrüzyon ürünlerinin üretiminde kullanılan formülasyonların hazırlanması .....	34
3.2.	Metotlar .....	36
3.2.1.	Ekstrüzyon ürünlerinin üretilmesi .....	36
3.2.1.1.	Geleneksel ekstrüzyon yöntemi .....	36
3.2.1.2.	Karbondiyoksit enjeksiyonu yöntemi .....	37
3.2.2.	Genişleme indeksi .....	38
3.2.3.	Namlu basıncı ve motor torku .....	38
3.2.4.	Yığın yoğunluğu .....	38
3.2.5.	Furozin analizi .....	39
3.2.6.	HMF ve Furfural analizleri .....	40
3.2.7.	Akrilamid analizi .....	41
3.2.8.	pH tayini .....	41
3.2.9.	Analitik metot validasyonu .....	42
3.2.10.	İstatistiksel analizler .....	42
4.	ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA .....	43
4.1.	Genişleme İndeksi .....	43
4.1.1.	Kontrol grubu ekstrüzyon ürünlerinde genişleme indeksi .....	43
4.1.2.	Formülasyonun genişleme indeksi üzerine etkisi .....	47
4.1.2.1.	Şeker tipinin genişleme indeksi üzerine etkisi .....	47
4.1.2.2.	Kabartma ajanlarının genişleme indeksi üzerine etkisi .....	48
4.1.3.	Uygulanan ekstrüzyon yöntemlerinin genişleme indeksi üzerine etkisi ...	50
4.1.4.	Sistem parametrelerinin genişleme indeksi üzerine etkisi .....	53
4.1.4.1.	Besleme nem içeriğinin genişleme indeksi üzerine etkisi .....	53
4.1.4.2.	Namlu sıcaklığının genişleme indeksi üzerine etkisi .....	55

4.1.5.	Motor torkunun genişleme indeksi üzerine etkisi.....	57
4.2.	Yığın Yoğunluğu .....	61
4.2.1.	Formülasyonun yığın yoğunluğu üzerine etkisi .....	61
4.2.1.1.	Şeker tipinin yığın yoğunluğu üzerine etkisi .....	61
4.2.1.2.	Kabartma ajanlarının yığın yoğunluğu üzerine etkisi.....	62
4.2.2.	Uygulanan ekstrüzyon yöntemlerinin yığın yoğunluğu üzerine etkisi .....	64
4.2.3.	Sistem parametrelerinin yığın yoğunluğu üzerine etkisi .....	65
4.2.3.1.	Besleme nem içeriğinin yığın yoğunluğu üzerine etkisi.....	65
4.2.3.2.	Namlu sıcaklığının yığın yoğunluğu üzerine etkisi .....	67
4.3.	Furozin.....	68
4.3.1.	Furozin analizinin validasyon sonuçları.....	68
4.3.2.	Kontrol grubu ekstrüzyon ürünlerinde furozin oluşumu .....	69
4.3.3.	Formülasyonun furozin oluşumu üzerine etkisi .....	71
4.3.3.1.	Şeker tipinin furozin oluşumu üzerine etkisi .....	71
4.3.3.2.	Kabartma ajanlarının furozin oluşumu üzerine etkisi.....	72
4.3.4.	Uygulanan ekstrüzyon yöntemlerinin furozin oluşumu üzerine etkisi .....	76
4.3.5.	Sistem parametrelerinin furozin oluşumu üzerine etkisi .....	78
4.3.5.1.	Besleme nem içeriğinin furozin oluşumu üzerine etkisi.....	78
4.3.5.2.	Namlu sıcaklığının furozin oluşumu üzerine etkisi .....	80
4.4.	HMF .....	82
4.4.1.	HMF analizinin validasyon sonuçları.....	82
4.4.2.	Kabartma ajanlarının HMF oluşumu üzerine etkisi.....	83
4.4.3.	Uygulanan ekstrüzyon yöntemlerinin HMF oluşumu üzerine etkisi .....	85
4.4.4.	Sistem parametrelerinin HMF oluşumu üzerine etkisi .....	87
4.4.4.1.	Besleme nem içeriğinin HMF oluşumu üzerine etkisi.....	87
4.4.4.2.	Namlu sıcaklığının HMF oluşumu üzerine etkisi .....	88
4.5.	Furfural .....	89



4.5.1.	Furfural analizinin validasyon sonuçları .....	89
4.5.2.	Kabartma ajanları ve sitrik asidin furfural oluşumu üzerine etkisi.....	90
4.5.3.	Uygulanan ekstrüzyon yöntemlerinin furfural oluşumu üzerine etkisi.....	93
4.5.4.	Sistem parametrelerinin furfural oluşumu üzerine etkisi.....	93
4.5.4.1.	Besleme nem içeriğinin furfural oluşumu üzerine etkisi .....	93
4.5.4.2.	Namlu sıcaklığının furfural oluşumu üzerine etkisi.....	95
4.6.	Akrilamid .....	96
4.6.1.	Akrilamid analizinin validasyon sonuçları.....	96
4.6.2.	Formülasyonun akrilamid oluşumu üzerine etkisi.....	97
4.6.2.1.	Şeker tipinin akrilamid oluşumu üzerine etkisi .....	97
4.6.2.2.	Kabartma ajanlarının akrilamid oluşumu üzerine etkisi.....	98
4.6.2.3.	Sitrik asidin akrilamid oluşumu üzerine etkisi.....	100
4.6.3.	Uygulanan ekstrüzyon yöntemlerinin akrilamid oluşumu üzerine etkisi.	102
4.6.4.	Sistem parametrelerinin akrilamid oluşumu üzerine etkisi .....	104
4.6.4.1.	Besleme nem içeriğinin akrilamid oluşumu üzerine etkisi .....	104
4.6.4.2.	Namlu sıcaklığının akrilamid oluşumu üzerine etkisi.....	106
5.	SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	108
	KAYNAKLAR.....	111
	ÖZGEÇMİŞ .....	126

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

3-APA	3-aminopropionamid
3-MCPD	3-monokloropropandiol
ALARA	Makul bir şekilde ya da teknik olarak ulaşılabilir düzeyde düşük (as low as reasonably or technically achievable)
BMU	Beyaz mısır unu
CML	N <sup>ε</sup> -karboksimetillizin
EC JRC	Avrupa Komisyonu Ortak Araştırma Merkezi (European Commission Joint Research Center)
EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Ajansı (European Food Safety Agency)
F	Furfural
FA	Furoik asit
FDA	Furildialdehit
FDCA	2,5-furandikarboksilik asit
Gİ	Genişleme indeksi
HMF	Hidroksimetilfurfural
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography)
IARC	Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (International Agency for Research on Cancer)
L-Asn	L-asparajin
LD <sub>50</sub>	Letal doz 50
LOD	Tespit sınırı (limit of detection)
LOQ	Tayin sınırı (limit of quantification)
MF	Metilfurfural
MHFA	5-hidroksimetil-2-furanoik asit
MHFG	N-(5-hidroksimetil-2-furoil)glisin
MRÜ	Maillard Reaksiyon Ürünleri
NOAEL	Olumsuz etkinin gözlenmediği düzey (No Observable Adverse Effect Level)
PAPS	3'fosfoadenozin-5'-fosfosülfat
SMF	5-sülfoksimetilfurfural
SPI	Soya protein izolatı
SULTs	Süfotransferazlar
UPLC	Ultra performanslı sıvı kromatografisi (Ultra Performance Liquid Chromatography)
US EPA	Amerika Çevre Koruma Ajansı (United States Environmental Agency)
YY	Yığın yoğunluğu

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Hammadde özellikleri, proses parametreleri ve ürün karakteristiklerinin etkileşimi .....	5
Şekil 2.2. Maillard reaksiyon şeması .....	12
Şekil 2.3. Siklizasyon ile N-glikozilamin oluşumu. ....	13
Şekil 2.4. Amadori ve Heyns yeniden düzenlenmesi.....	13
Şekil 2.5. Furozin oluşum mekanizması .....	16
Şekil 2.6. 5-hidroksimetilfurfural oluşum mekanizması.....	20
Şekil 2.7. Maillard reaksiyonu yoluyla akrilamid oluşum mekanizması.....	27
Şekil 2.8. Pridoksal fosfat kofaktör olarak kullanılarak asparajinin dekarboksilasyonu ile 3-APA oluşumunun biyokimyasal mekanizması .....	29
Şekil 3.1. Çift vidalı ekstrüzyon cihazının vida konfigürasyonu .....	36
Şekil 3.2. 150 psi basınçta uygulanan CO <sub>2</sub> enjeksiyonunun ürün özellikleri üzerine etkileri .....	38
Şekil 4.1. Beyaz mısır unu kullanılarak, 150°C namlu sıcaklığı ve %22 besleme neminde geleneksel ekstrüzyon ve CO <sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemleri ile üretilen ekstrüzyon ürünleri.....	45
Şekil 4.2. Şeker tipinin ekstrüzyon ürünlerinde genişleme indeksi üzerine etkisi .....	47
Şekil 4.3. Kabartma ajanlarının ekstrüzyon ürünlerinde genişleme indeksi üzerine etkisi.....	49
Şekil 4.4. Uygulanan ekstrüzyon yöntemlerinin genişleme indeksi üzerine etkisi .....	51
Şekil 4.5. Yüksek namlu sıcaklığında CO <sub>2</sub> enjeksiyonu yönteminin genişleme indeksi üzerine etkisi .....	53
Şekil 4.6. Besleme nem içeriğinin genişleme indeksi üzerine etkisi .....	54
Şekil 4.7. Namlu sıcaklığının genişleme indeksi üzerine etkisi.....	56
Şekil 4.8. Motor torkunun genişleme indeksi üzerine etkisi-1 .....	58
Şekil 4.9. Motor torkunun genişleme indeksi üzerine etkisi-2.....	60
Şekil 4.10. Şeker tipinin yığın yoğunluğu üzerine etkisi.....	61

Şekil 4.11. Kabartma ajanlarının yığın yoğunluğu üzerine etkisi .....	63
Şekil 4.12. Uygulanan ekstrüzyon yöntemlerinin yığın yoğunluğu üzerine etkisi.	64
Şekil 4.13. Besleme nem içeriğinin yığın yoğunluğu üzerine etkisi .....	66
Şekil 4.14. Namlu sıcaklığının yığın yoğunluğu üzerine etkisi .....	67
Şekil 4.15. Furozin kalibrasyon grafiği.....	69
Şekil 4.16. Şeker tipinin furozin oluşumu üzerine etkisi.....	72
Şekil 4.17. Kabartma ajanlarının furozin oluşumu üzerine etkisi .....	73
Şekil 4.18. D-riboz içeren ekstrüzyon ürünlerinin furozin düzeyleri üzerine kabartma ajanlarının etkisi.....	75
Şekil 4.19. Uygulanan ekstrüzyon yöntemlerinin furozin oluşumu üzerine etkisi.	77
Şekil 4.20. Besleme nem içeriğinin furozin oluşumu üzerine etkisi .....	79
Şekil 4.21. Namlu sıcaklığının furozin oluşumu üzerine etkisi .....	81
Şekil 4.22. HMF kalibrasyon grafiği.....	83
Şekil 4.23. Kabartma ajanlarının HMF oluşumu üzerine etkisi .....	84
Şekil 4.24. Uygulanan ekstrüzyon yöntemlerinin HMF oluşumu üzerine etkisi....	85
Şekil 4.25. Besleme nem içeriğinin HMF oluşumu üzerine etkisi .....	87
Şekil 4.26. Namlu sıcaklığının HMF oluşumu üzerine etkisi .....	89
Şekil 4.27. Furfural kalibrasyon grafiği .....	90
Şekil 4.28. Kabartma ajanları ve sitrik asidin furfural oluşumu üzerine etkisi .....	91
Şekil 4.29. Uygulanan ekstrüzyon yöntemlerinin furfural oluşumu üzerine etkisi	93
Şekil 4.30. Besleme nem içeriğinin furfural oluşumu üzerine etkisi .....	94
Şekil 4.31. Namlu sıcaklığının furfural oluşumu üzerine etkisi.....	95
Şekil 4.32. Akrlamid kalibrasyon grafiği.....	96
Şekil 4.33. Geleneksel ve CO <sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemleri kullanılarak üretilen ekstrüzyon ürünlerinde şeker tipinin akrilamid oluşumu üzerine etkisi .....	97
Şekil 4.34. Sodyum bikarbonat ve amonyum bikarbonat kullanılarak üretilen ekstrüzyon ürünlerinde şeker tipinin akrilamid oluşumu üzerine etkisi .....	98

Şekil 4.35. Kabartma ajanlarının akrilamid oluşumu üzerine etkisi.....	99
Şekil 4.36. Sitrik asidin akrilamid oluşumu üzerine etkisi.....	101
Şekil 4.37. Uygulanan ekstrüzyon yöntemlerinin akrilamid oluşumu üzerine etkisi .....	103
Şekil 4.38. Besleme nem içeriğinin akrilamid oluşumu üzerine etkisi.....	105

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1. Bazı gıda maddelerinin HMF içerikleri .....	19
Çizelge 2.2. Bazı gıda maddelerinin akrilamid içerikleri.....	25
Çizelge 3.1. Ekstrüzyon ürünlerinin üretiminde kullanılan formülasyonlar .....	35
Çizelge 4.1. Kontrol grubu örneklerin genişleme indeksi değerleri .....	43
Çizelge 4.2. Kontrol grubu örneklerindeki Furozin miktarı değişimi .....	70
Çizelge 4.3. CO <sub>2</sub> enjeksiyonu uygulamasının ürün pH değerleri üzerine etkisi ..	86
Çizelge 4.4. Kabartma ajanları ve sitrik asit uygulamasının ürün pH değerleri üzerine etkisi .....	92
Çizelge 4.5. Namlu sıcaklığının akrilamid oluşumu üzerine etkisi.....	106

## 1. GİRİŞ

Ekstrüzyon pişirme yüksek sıcaklıkta kısa süre ile uygulanan bir ısıl işlem olup, üründe pişirme, şekil verme ve kurutmayı birlikte sağlayan bir prosestir. Yeni gıda ürünleri geliştirmek amacıyla kullanılan en önemli proseslerden biri olan ekstrüzyonla pişirme teknolojisinde, materyal yoğun mekanik kesme etkisine maruz kaldığı için diğer ısıl işlemlerle karşılaştırıldığında bazı avantajlara sahiptir. Ekstrüzyon pişirme işlemi sırasında meydana gelen ısı, kütle ve momentum transferleri ile alıkonma süreleri; gıda bileşenlerinin fonksiyonel ve besinsel özellikleri üzerinde güçlü bir etkiye sahip olmakla birlikte, nihai ürünün hem fiziksel hem de kimyasal özelliklerini önemli ölçüde değiştirmektedir.

Ekstrüzyon pişirmede yüksek sıcaklık ve düşük nemin birlikte uygulanması Maillard reaksiyon ürünleri (MRÜ)'nin oluşumunu teşvik etmektedir. Maillard reaksiyonu indirgen şekerler ile amino asitler arasında meydana gelen kompleks bir dizi kimyasal reaksiyondur. MRÜ gıdaların arzu edilen organoleptik özelliklerinin bazılarında ve rengin oluşmasından sorumludur. Diğer taraftan bu reaksiyon gıdalarda besin kaybına ve istenmeyen bazı parçalanma ürünlerinin oluşmasına da neden olmaktadır. Yararlanılabilir lizin kaybı, Maillard reaksiyonun en önemli sonuçlarından biridir ve bu durum esansiyel bir amino asit olan lizinin sınırlı düzeyde bulunduğu tahıllarda oldukça önemlidir. Maillard reaksiyonunun erken aşamasında oluşan Amadori bileşiklerinin asit hidrolizi ile ortaya çıkan furozinin (2-furoylmethyl-lysine) belirlenmesi tahıl ürünlerinde lizin kaybının değerlendirilmesi amacıyla kullanılmaktadır.

Gıdalara uygulanan ısıl işlem neticesinde insan sağlığı için olası zararlı etkiler gösteren bileşikler de oluşabilmektedir. Bu bileşikler literatürde "termal proses kontaminantları" olarak tanımlanmaktadır. Anılan termal proses kontaminantları arasında akrilamid ve 5-hidroksimetilfurfural (HMF) son yıllarda bilim insanlarının dikkatini çekmiş ve tespiti, metabolizması, sağlık üzerine etkileri, düzeylerinin azaltılmasına yönelik stratejilerin geliştirilmesi gibi birçok araştırmaya konu olmuştur.

Akrilamid Uluslararası Kanseri Araştırma Ajansı (International Agency for Research on Cancer, IARC) tarafından "insanlar için olası karsinogen (IARC Grup 2A)" olarak

sınıflandırılmıştır. Akrilamidin kemirgenler için karsinojen olduğu kanıtlanmıştır ve son yıllarda yapılan bazı epidemiyolojik çalışmalar, diyet yoluyla alınan akrilamid ile bazı kanser türlerinde meydana gelen artış arasındaki ilişkiye dikkat çekmektedir. Literatür incelendiğinde HMF'nin toksisitesi üzerine yapılan *in vitro* çalışmalardan çelişkili sonuçlar elde edilmiş olsa da, yakın dönemde yapılan *in vivo* araştırmalar HMF'nin genotoksik bir bileşik olan 5-sülfoksimetilfurfural (SMF)'a dönüştüğünü açıkça göstermektedir.

Bu çalışmanın ana amacı ekstrüzyon pişirme tekniğinde uygulanan sistem parametrelerinin ve üretim aşamasında kullanılan bileşenlerin Maillard reaksiyonu üzerine etkilerinin araştırılmasıdır. Bu kapsamda farklı şeker tipleri ve kabartma ajanları, sitrik asit, soya protein izolatu, asparajin, beyaz mısır unu kullanılarak çeşitli formülasyonlar hazırlanmış ve ekstrüzyon pişirme tekniğinde uygulanan bazı sistem parametreleri değiştirilerek, geleneksel ekstrüzyon ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemleri ile ekstrüzyon ürünleri üretilmiştir. Elde edilen örneklerde Maillard reaksiyonunun oluşumunu takip edebilmek amacıyla; furozin, furfural, HMF ve akrilamid düzeyleri belirlenmiş ve ayrıca formülasyonlarda yer alan bileşenlerin son ürünün bazı fiziksel özellikleri üzerine etkileri takip edilmiştir.

Günümüze kadar termal proses kontaminantlarının özellikle de akrilamid oluşumunun sınırlandırılmasına yönelik birçok strateji geliştirilmiştir. Ancak bunlardan bazıları diğer riskleri de beraberinde getirdiği için kullanımları önerilmemektedir. Bu nedenle tez çalışması kapsamında alternatif bir sınırlandırılma yaklaşımı olarak CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi üzerinde durulmuştur.

Özet olarak bu çalışmada ekstrüzyon pişirme tekniğinde sistem parametrelerinin ve formülasyonun MRÜ üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu kapsamda yeni bir ekstrüzyon tekniği olan CO<sub>2</sub> enjeksiyonu ile geleneksel ekstrüzyon yöntemleri MRÜ oluşumu ve fiziksel özelliklere etkileri açısından karşılaştırılmıştır. Termal proses kontaminantlarının sınırlandırılmasında alternatif olarak CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yönteminin kullanım olanakları araştırılmıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Ekstrüzyon Pişirme Teknolojisi

Plastik sanayinde uzun yıllardır bilinen ekstrüzyon teknolojisi, gıda endüstrisinde *ekstrüzyon pişirme* olarak anılan ve son yıllarda yaygın olarak kullanılan bir teknoloji haline gelmiştir (Moscicki and van Zuilichem, 2011). Ekstrüzyonla pişirme teknolojisi yüksek sıcaklıkta kısa-süre ile uygulanan bir ısıl işlemdir ve gıdalarda pişirme, nişasta bazlı gıdalarda kabartma/hacim attırma ve tekstürü geliştirme amacıyla kullanılmaktadır. Gıda ekstrüderleri, baro termal koşullar altında geniş aralıkta nem içeriğine (%10-40) sahip gıda maddelerinin farklı alıkonma sürelerinde işlenmesine olanak sağlamaktadır. Ekstrüzyon pişirme işlemi sırasında meydana gelen ısı transferi, kütle transferi, momentum transferi ve alıkonma süresi gıdalar üzerinde güçlü bir etkiye sahiptir ve nihai ürünün hem fiziksel hem de kimyasal özelliklerini önemli ölçüde değiştirmektedir (Harper, 1989; Moscicki and van Zuilichem, 2011).

Ekstrüzyon işleminin en önemli özelliği, sürekli bir proses olmasıdır. Bu proses, girdi değişkenleri ile çıktılarının denge halinde olduğu dinamik bir kararlı denge durumunda çalışmaktadır. Dolayısıyla, istenilen özelliklerde bir ekstrüzyon ürününü elde etmek için, namlu içindeki bağımlı fiziksel koşullar ve kimyasal işlem değişikliklerini sağlayan çok değişkenli girdilerin uygun seviyelerde ayarlanması gerekir. Üründen beklenen özellikler, bu bağımlı sistem değişkenleri tarafından belirlenmektedir (Guy, 2001). Beslenen materyal; basınç, sıcaklık ve motor yükü gibi değişkenlerin boyutunu belirlemede aktif rol oynamaktadır. Ayrıca nihai ürünün kalite özellikleri üzerine etkisi de oldukça önemlidir (Guy, 2001; Moscicki and van Zuilichem, 2011). Tipik bir besleme karışımı nişasta, protein, nem, lipid ve çeşitli katkıları içerebilir.

Gıda bileşenlerinin fonksiyonel ve besinsel özellikleri ekstrüzyon prosesi sırasında değişebilir. İşlenen hububatın, örneğin mısır irmiğinin yaklaşık %70 kadarını nişasta oluşturmaktadır. Mısır irmiğinde bulunan nişasta granülleri sisteme beslenen suyu absorbe ederek şişer ve ileriki süreçte sıcaklığın da etkisiyle granüler yapı bozulur. Ekstrüzyonla pişirmede uygulanan ısıl işlem sonucu nişasta granülleri jelatinize, proteinler ise denatüre olmakta, protein sindirilebilirliği

artmakta ve ekstrüzyon ürünleri yapısal olarak iyileşmektedir (Bhattacharya and Hanna, 1988; Matthey and Hanna, 1997). Yapısı değişmiş, jelatinize olmuş nişastayı içeren hamur kalıp çıkışıındaki genişlemeyle ve ani soğumanın etkisiyle sert bir yapı kazanır.

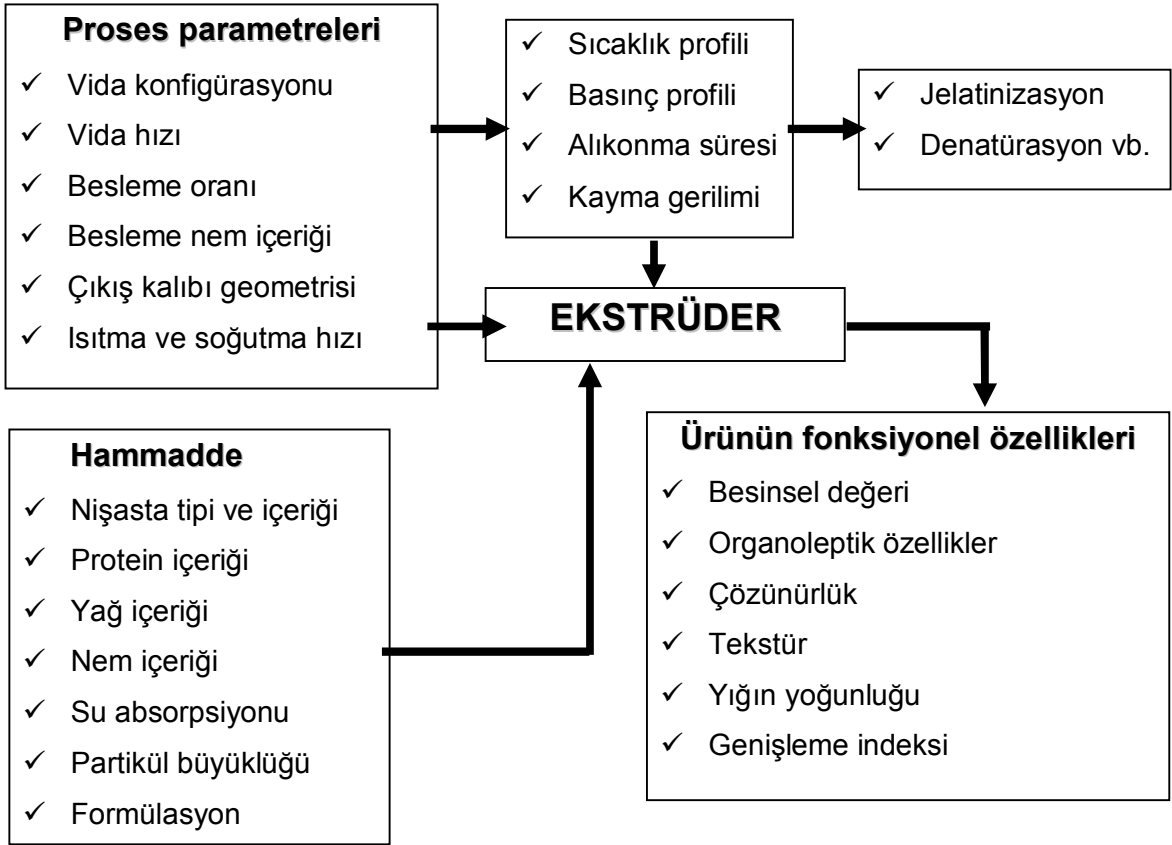
Ekstrüdere beslenen hammaddenin işlenebilirliği için hem mekanik hem de termal enerjiye ihtiyaç duyulmaktadır. Mekanik enerji motor gücü ile elde edilirken, termal enerji ekstrüzyon cihazının namlusuna yerleştirilen rezistanslar ile sağlanmaktadır. Ürünün tekstür özellikleri üzerine etkili olan bir diğer parametre vida tipi ve konfigürasyonudur. Her vida tipi farklı bir işlevden sorumludur. Geniş hatveli vidalar transfer, daha sık hatveli olanlar ise yoğurma-karıştırma-pişirme işlevini yerine getirmektedir (Mercier et al., 1989; Guy, 2001).

Özetle, ekstrüzyon prosesini hammaddenin bileşiminden, ekstrüder çıkış kalıbı çapına kadar pek çok parametre (bağımlı ve bağımsız değişkenler) etkilemektedir. Bu da son ürünün hem tekstürel hem de besinsel değeri ile doğrudan ilişkilidir.

Geleneksel Ekstrüzyon Yöntemi (Conventional Extrusion Process) hububat bazlı ekstrüzyon ürünlerinin endüstriyel üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemde yüksek sıcaklıklara çıkılması, üretilen ürünlerde vitaminler, antioksidanlar ve fenolik maddeler gibi bazı fonksiyonel bileşiklerde kayıplara neden olabilmektedir. Son yıllarda namlu içerisine karbondioksit gazı enjekte edilerek basınç oluşturma ve bunun sonucu üründe genişleme sağlama esasına dayanan “Soğuk Ekstrüzyon Tekniği” (Cold-Extrusion Technique) konusunda da araştırmalar yapılmaktadır. Genellikle 100°C'nin altındaki sıcaklıklarda çalışılan bu yöntem, ekstrüzyon teknolojisinde yeni bir tekniktir. Bu yöntemin en önemli avantajı; ısıya karşı duyarlı bileşenlerde yıkımın geleneksel yöntemle oranla daha düşük olmasıdır (Ryu et al., 2002; Schmid et al., 2005; Bilgi Boyacı et al., 2012).

### **2.1.1. Ekstrüzyon proses parametreleri**

Ekstrüzyon pişirmede biyopolimerler, başlıca nişasta ve proteinler, su ile plastikleşmekte, mekanik ve termal enerjiye maruz kalarak son üründen beklenen tekstürel yapıya ulaşmaktadır. Besleme karışımının özellikleri, proses değişkenleri ve ürün özellikleri arasındaki etkileşimler Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



**Şekil 2.1.** Hammadde özellikleri, proses parametreleri ve ürün karakteristiklerinin etkileşimi (Chessari and Sellahewa, 2001).

Ekstrüzyon işleminin kontrolü; kütle, enerji ve momentum transferi arasındaki güçlü etkileşimler ile nihai ürün özelliklerini etkileyen karmaşık fiziko-kimyasal dönüşümler bir arada değerlendirildiğinde oldukça zordur. En önemli ekstrüzyon proses parametreleri besleme formülasyonu, besleme nem içeriği, besleme oranı, vida hızı, namlu sıcaklığı, vida konfigürasyonu ve namlu çıkış kalıbı geometrisidir (Meuser and Van Lengerich, 1984; Guy, 2001). Çoğu ekstrüder uygulamaları için, genellikle basınç, sıcaklık ve motor torku dolaylı olarak ürün kalitesini izlemek amacıyla ölçülen proses çıktıları olarak kullanılmaktadır (Guy, 2001).

### 2.1.2. Ekstrüzyon ürünlerinin özellikleri üzerine etki eden faktörler

Protein, şeker, tuz, katı ve sıvı yağlar, vitamin ve mineraller, emülgatörler ve bazı lif kaynakları gibi bileşenler, ekstrüzyon pişirme teknolojisinde nihai ürünün fiziksel, duyu ve besinsel özelliklerini değiştirmek/iyileştirmek amacıyla formülasyonlara ilave edilmektedir.

Nişasta, ekstrüzyon ürünlerinin genişleme oranları, gözenek yapıları ve gözenek iriliği dağılımı ile tekstürel özelliklerinde önemli rol oynamaktadır (Chinnaswamy and Hanna, 1988). Ekstrüzyon ürünlerinin hücre/gözenek yapısı üzerine etkili olduğu bilinen bir diğer önemli bileşen proteinlerdir. Proteinlerin yüksek nem içeriklerinde, nişastanın şişme ve jelatinizasyon derecesini etkilediği bildirilmiştir (Faubion and Hosney, 1982). Doğal mısır nişastasına farklı oranlarda soya protein konsantratu ilave ederek üretilen ekstrüzyon ürünlerinde, soya protein konsantratu ilave oranı artırıldııkça genişleme indeksi (Gİ) değerlerinin azaldığı rapor edilmiştir (de Mesa et al., 2009). Araştırmacılar bu durumun, nişasta-soya protein konsantratu arasındaki etkileşimlerden kaynaklandığını ve proteinin nişasta matriksinin sürekliliğini bozarak gözenek duvarlarının genişleyebilme özelliğini azalttığını öne sürmüşlerdir. Sun and Muthukumarappan (2002) mısır ununa farklı oranlarda (%10, %20, %30 w/w) yağsız soya unu ilave ederek ürettikleri ekstrüzyon ürünlerinde, soya unu içeriğinin artırılmasına bağlı olarak; kesme gerilimi, yığın yoğunluğu (YY) ve a\* (kırmızılık) değerlerinin önemli ölçüde arttığını diğer taraftan, genişleme oranı ve L\* (parlaklık) değerlerinin ise önemli ölçüde azaldığını bildirmişlerdir.

Çeşitli tahıl kaynaklarından üretilen ekstrüzyon ürünlerinin fonksiyonel özellikleri (jelatinizasyon ve retrogradasyon dereceleri, genişleme, suda çözünürlük, termal ve diğer bazı özellikler) üzerine şekerlerin özellikle de sakarozun etkisi birçok araştırmacı tarafından farklı teknikler kullanılarak incelenmiştir (Barrett et al., 1995; Carvalho and Mitchell, 2000, 2001; Farhat et al., 2000; Farhat et al., 2003; Hsieh et al., 1993; Sopade and Le Grys, 1991). Sakarozun ekstrüzyon ürünlerinin yapısını ve tekstürünü önemli ölçüde etkilediği ve sakarozun bu etkisinin tahıl kaynağına göre farklılık gösterdiği bildirilmiştir. Carvalho and Mitchell (2000), sakaroz ilave edilerek buğday unundan üretilen ekstrüzyon ürünlerinin kesitsel genişleme değerinin mısır irmiği ile aynı koşullarda üretilen örneklere kıyasla daha az etkilendiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu durumu, buğday nişastasının moleküler bütünlüğünün şiddetli kesme gerilimi (shear) koşullarında mısır nişastasından daha düşük olması ile açıklamışlardır. Fan et al. (1996), sakaroz konsantrasyonundaki artışın bir sonucu olarak ekstrüzyon ürünlerinin tekstürel özelliklerinin değiştiğini, camsı geçiş sıcaklığının düştüğünü, ürün yoğunluğunun arttığını ve kesitsel genişlemenin azaldığını rapor etmişlerdir. Araştırmacılar

ayrıca, mısır ekstrüzyon ürünlerinde genişlemeyi azaltma yönünde monosakaritlerin disakaritlere oranla daha etkili olduğunu bildirilmişlerdir. Buğday nişastasına farklı oranlarda sakaroz ilave edilerek yapılan bir başka araştırmada ise, sakaroz ilave oranı artırıldıkça Gİ değerlerinin azaldığı ve YY değerlerinin arttığı rapor edilmiştir (Ferdinand et al., 1992).

Literatürde, ekstrüzyon ürünlerin özellikleri üzerinde, nem içeriği ile sıcaklık arasında güçlü bir etkileşim olduğu rapor edilmiştir (Lawton et al, 1985; Batisuti et al., 1991; Singh et al., 2007). Singh et al. (2007) ekstrüzyon ürünlerinde genişlemenin, namlu ile atmosfer arasındaki basınç farkına bağlı olduğunu ve düşük nem içeriğine sahip ekstrüzyon ürünlerinin viskozitesinin yüksek nem içerikli olanlardan daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bu nedenle, yüksek nemli ekstrüzyon ürünlerinde basınç farkının daha düşük olduğu ve sonuç olarak elde edilen nihai üründe genişleme oranının azaldığı rapor edilmiştir (Singh et al., 2007).

Ekstrüzyon pişirme teknolojisinde namlu içerisinde oluşturulan hamurun, viskozite değerinin besleme nem içeriği ve namlu sıcaklığından etkilendiği bildirilmiştir (Lo et al., 1998). Chen et al. (2010) araştırmalarında, besleme nem içeriğinin artırılmasıyla namlu içerisindeki hamur viskozitesinin ve buna bağlı olarak ortalama alıkonma süresi ile spesifik mekanik enerji değerlerinin önemli ölçüde azaldığını rapor etmişlerdir. Birçok araştırmacı bu durumun; nem içeriğindeki artışa paralel olarak yüksek nemli kitlenin namlu çıkışına doğru itilmesi için gerekli olan kuvvetin azalmasına ve ayrıca hammadde, vida shaftı ve ekstrüder namlusu arasındaki sürtünme kuvvetinin azalmasına bağlı olduğunu bildirmişlerdir (Lin et al., 2000; Wang et al., 2001; Kang et al., 2007). Benzer bir yaklaşım olarak, ekstrüzyon pişirme teknolojisinde sisteme beslenen suyun lubrikant gibi davrandığı (Hayashi et al., 1992) ve göreceli olarak düşük miktarda polimer içeren yüksek nem içerikli hamurun namludaki viskozite değerinin daha düşük olduğu (Akdogan, 1996) rapor edilmiştir.

Tork; vida ve çıkış kalıbı tarafından uygulanan kesme geriliminden (shear) dolayı materyal tarafından absorbe edilen enerjinin miktarı hakkında bilgi vermektedir (Fichtali and van de Voort, 1989). Pansawat et al. (2008) çalışmalarında namlu sıcaklığı, vida hızı ve besleme neminin motor torku üzerine negatif etkileri

olduğunu bildirmişler ve namlu sıcaklığı, besleme nemi ve özellikle vida hızının artırılmasıyla motor torkunun azaldığını rapor etmişlerdir.

Meng et al. (2010)'nın araştırma bulguları incelendiğinde, besleme nem içeriğinin artırılmasıyla sistem parametrelerinden namlu basıncı, motor torku ve spesifik mekanik enerji değerlerinin düştüğü ve ayrıca elde edilen ekstrüzyon ürünlerinde, genişleme oranı değerlerinin azaldığı, diğer yandan YY ve sertlik değerlerinin arttığı tespit edilmiştir.

Literatürde, namlu sıcaklığındaki artışın namludaki erimiş madde karışımının viskozitesinde azalmaya neden olduğu (Mercier and Feillet, 1975; Meuser et al., 1987; Chaiyakul et al., 2009) ve bunun sonucu olarak tork ve spesifik mekanik enerji değerlerinin düştüğü bildirilmiştir (Akdoğan, 1996).

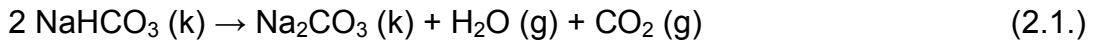
Ekstrüzyon ürünlerinin genişleme oranı ve YY değerleri arasında ters bir ilişki olduğu birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Singh et al., 1996; Singh et al., 2007; Chaiyakul et al., 2009; Meng et al., 2010). Mısır irmiğinden üretilen ekstrüzyon ürünlerinde hem ilave edilen şeker miktarının hem de besleme nem içeriğinin artırılmasının kesitsel genişlemeyi azalttığı, YY değerlerini ise artırdığı bildirilmiştir (Fan et al., 1996).

Meng et al. (2010) araştırmalarında, YY değerlerinin besleme nem içeriğinin artırılmasıyla artarken, namlu sıcaklığı ve vida hızının artırılmasıyla azaldığını bildirmişlerdir. Benzer bir eğilim olarak hem namlu sıcaklığının hem de besleme nem içeriğinin ekstrüzyon ürünlerinin YY değerlerini önemli ölçüde etkilediği Singh et al. (2007) tarafından rapor edilmiştir. Hagenimana et al. (2006) yapmış oldukları çalışmada, en düşük YY değerini, pirinç unu kullanılarak düşük nem içeriklerinde ve yüksek namlu sıcaklıklarında üretilen ekstrüzyon ürünlerinde elde etmişlerdir. Ters bir durum olarak en yüksek YY değerine ise yüksek besleme nemi ve düşük namlu sıcaklığı koşullarında ulaşmışlardır. Benzer eğilim Barrett and Peleg (1992) ve Pan et al. (1998) tarafından da rapor edilmiştir. Literatür incelendiğinde bu durumun, nişasta jelatinizasyonu ile ilişkili olduğu ve jelatinizasyondaki artış ile ekstrüzyon ürünlerinin hacminin arttığı, YY değerinin ise azaldığı bildirilmiştir (Case et al., 1992; Mercier and Feillet, 1975; Hagenimana et al., 2006).

Hamur kabartma ajanları kraker, kek, bisküvi gibi fırıncılık ürünlerinde arzu edilen hacim artışının sağlanması ve karakteristik içyapılarının oluşturulması amacıyla ürün formülasyonlarına ilave edilmektedir. Pişirme sırasında ortamın su aktivitesine ve sıcaklığa bağlı olarak karbondioksit açığa çıkmaktadır. Meydana gelen bu gaz kabarcıkları sıcaklığın etkisiyle genişleyerek ürünün kabarmasını ve nihai ürün içerisinde gözenekli bir yapının oluşmasını sağlamaktadır.

Fırıncılık endüstrisinde yaygın bir şekilde kullanılan kabartma ajanları, son zamanlarda ürünün fiziksel özelliklerini ve kabul edilebilirliğini geliştirmek için ekstrüzyon ürünlerinde de kullanılmaya başlanmıştır (Berrios et al., 2004).

Hububat ürünleri için en yaygın karbondioksit kaynakları sodyum ve amonyum bikarbonattır. Bunlar içerisinde en popüler olan hamur kabartma ajanı toksik olmaması, son üründe istenmeyen tat ve koku oluşturmaması ve ticari olarak yüksek saflıkta elde edilebilmesi nedeniyle sodyum bikarbonattır (Delcour and Hosney, 2010). Katı sodyum bikarbonat 100°C civarında karbondioksit ve su kaybetmeye başlar ve 200°C'de aşağıdaki reaksiyona göre tamamen sodyum karbonata dönüşür (Eşitlik 2.1).



Sodyum bikarbonat sulu sistemde ise, oda sıcaklığında karbondioksit oluşmaya başlar ve eğer sıcaklık 100°C'ye ulaşırsa dönüşüm %100 oranında tamamlanır. Sodyum bikarbonat; sodyum karbonat, su ve karbondioksite ayrışır (Lai et al., 1989). Bu reaksiyon sonucu oluşan su buharı ve karbondioksit ekstrüzyon pişirme sırasında genişlemeden sorumludur.

Diğer taraftan amonyum bikarbonat sulu sistemde ısıtıldığında gaz formunda amonyak, su buharı ve karbondioksit açığa çıkmaktadır (Eşitlik 2.2).



Amonyum bikarbonat reaksiyon sonucu kalıntı tuz oluşturmaması nedeniyle önemli bir avantaja sahiptir. Çünkü kalıntı tuzlar, tat veya hamur reolojisini ya da her ikisini birden etkilemektedir (Delcour and Hosney, 2010).

Literatür incelendiğinde, ilave edilen sodyum bikarbonatın ekstrüzyon ürünlerinde genişleme oranını artırdığı ancak diğer yandan, yapıyı zayıflattığı ve esmerleşmeye neden olduğu bildirilmiştir (Berrios et al., 2004; Lai et al., 1989). Farklı bir çalışmada ise, namlu sıcaklığının artırılmasına paralel olarak ekstrüzyon ürünlerinin genişlemesi üzerine sodyum bikarbonatın etkisinin azaldığı bildirilmiştir (Singh et al., 2000). Pirinç ve mısırdan üretilen ekstrüzyon ürünleri üzerine yapılan bir araştırmada ise amonyum bikarbonat ilave oranı artırıldıkça genişlemenin azaldığı rapor edilmiştir (Kaur and Singh, 2004).

Önceki çalışmalar incelendiğinde, CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi ile ekstrüzyon ürünlerinin üretiminde 100°C civarında (Schmid et al., 2005) veya 100°C'den daha düşük namlu sıcaklığı (Ferdinand et al., 1990; Ferdinand et al., 1992; Bilgi Boyaci et al., 2012) uygulamalarının olduğu görülmektedir. Yüksek namlu sıcaklıklarında CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi ile ekstrüzyon ürünlerinin üretim prosesi konusunda herhangi bir literatür bilgisine rastlanmamıştır.

Bilgi Boyaci et al. (2012) araştırmalarında, soğuk ekstrüzyon tekniği ile ürettikleri ekstrüzyon ürünlerinde genişleme indeksi değerlerinin; aynı namlu sıcaklığı ve besleme nem içeriğinde geleneksel ekstrüzyon yöntemi ile üretilenlere kıyasla önemli ölçüde düşük olduğunu ve bunun sonucu olarak YY değerlerinin önemli ölçüde yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Schmid et al. (2005)'nin araştırma bulguları incelendiğinde, besleme nem içeriğinin %25'ten %22'ye düşürülmesiyle, CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi ile üretilen ekstrüzyon ürünlerinin YY değerlerinin azaldığı görülmektedir. Besleme nem içeriğinin düşürülmesi ile ekstrüzyon ürünlerinin YY değerlerinde meydana gelen bu azalma eğilimi farklı çalışmalarda da rapor edilmiştir (Ferdinand et al., 1990; Bilgi Boyaci et al., 2012). CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi ile üretilen ekstrüzyon ürünlerinde, yüksek namlu sıcaklıklarında geleneksel ekstrüzyon ile üretilen örneklere göre daha düşük ancak diğer taraftan daha üniform genişleme elde edildiği birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Ferdinand et al., 1990; Schmid et al., 2005; Bilgi Boyaci et al., 2012).



## 2.2. Enzimatik Olmayan Esmerleşme Reaksiyonları

Enzimatik olmayan esmerleşme, çok sayıda gıda bileşeninin farklı yollardan reaksiyona katılabildiği ve sonuçta birçok tepkime ürününün oluşması nedenleriyle gıda kimyasında kompleks bir reaksiyonlar zinciri olarak bilinmektedir (Olano and Martínez-Castro, 2004).

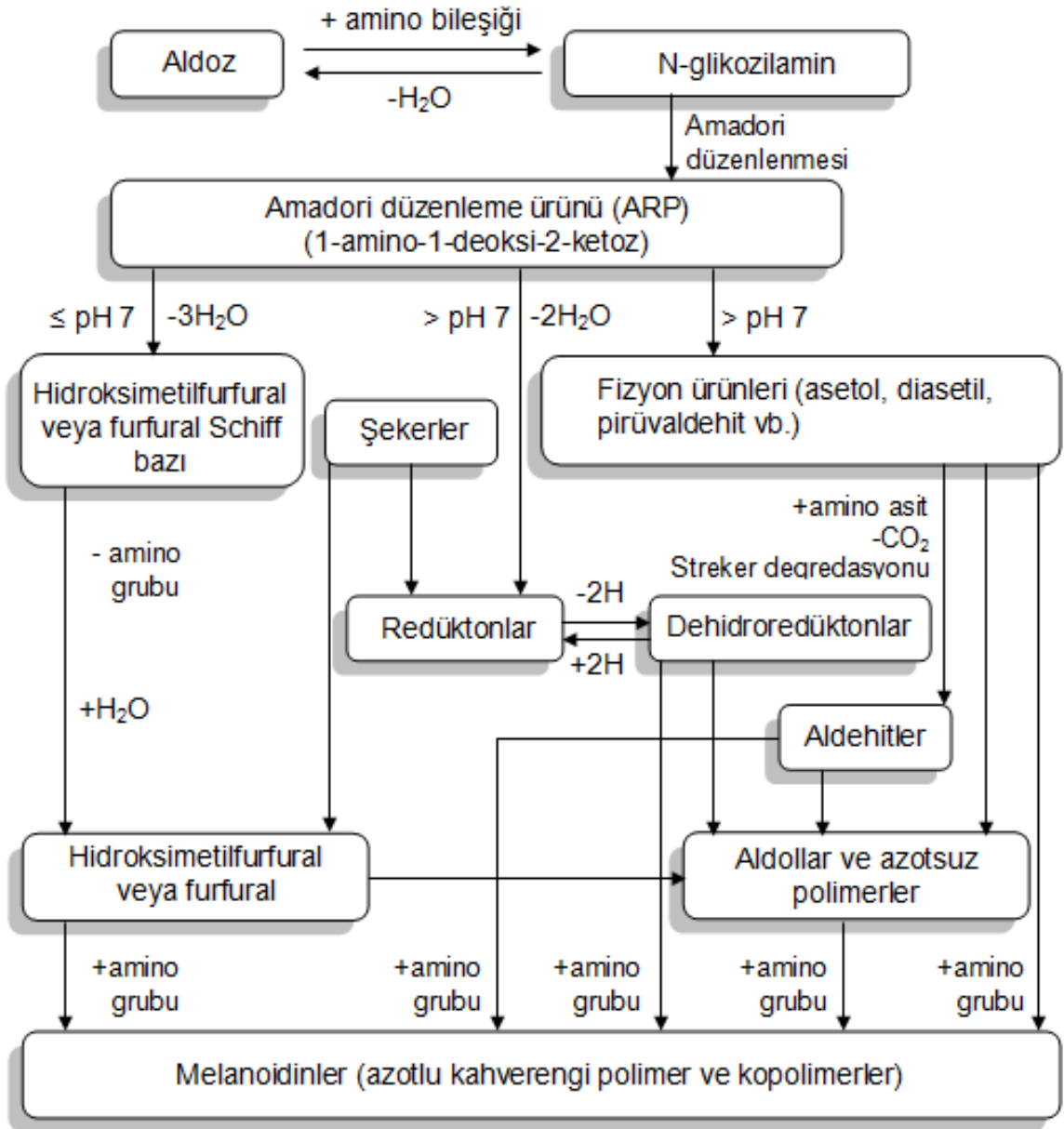
Enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonu genel anlamda üç grup altında incelenebilir (Nursten, 2005; Rufián-Henares et al., 2009). Bunlardan ilki, bir indirgen şekerin karbonil grubu ile amino asit, peptid veya proteinlerin serbest amino grubu arasında meydana gelen Maillard reaksiyonudur. İkincisi, amino asit ve proteinler gibi azotlu bileşenlerin bulunmadığı ortamlarda, yüksek sıcaklıklarda şekerlerin reaksiyonu sonucu oluşan karamelizasyondur. Son reaksiyon grubunu ise, askorbik asit degradasyonu oluşturmaktadır.

Maillard reaksiyonunun gerçekleşebilmesi için, diğer iki reaksiyon zinciri ile kıyaslandığında amino gruplarına gereksinim vardır. Diğer taraftan karamelizasyon daha yüksek sıcaklık ve daha düşük su aktivitesine, askorbik asit degradasyonu ise karakteristik olarak oksijene ihtiyaç duymaktadır.

## 2.3. Maillard reaksiyonu

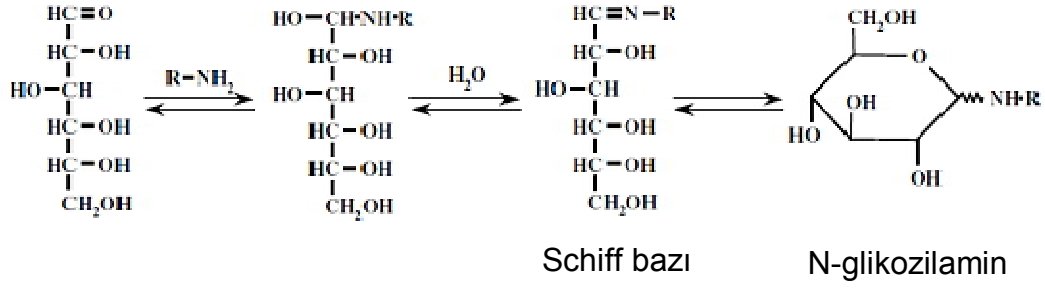
Maillard reaksiyonu gıdalarda işleme ve depolama koşullarında proteinlerin bozulmasına neden olan başlıca reaksiyonlardan biridir. Bu reaksiyon, protein sindirilebilirliğinde ve amino asit biyo-yararlanımında azalmaya neden olmakta ve besinsel kayıplara yol açmaktadır (Malec et al., 2002).

Maillard reaksiyonu çok sayıda uçucu (düşük molekül ağırlığına sahip hidrokarbonlar, alkoller, ketonlar, aldehitler, esterler, eterler, heterosiklik bileşikler vb.), daha az uçucu ya da uçucu olmayan (orta ya da yüksek molekül ağırlığına sahip polifenoller, peptidler, kahverengi pigmentler vb.) bileşiklerin oluşmasına neden olan bir dizi kompleks dönüşümü içermektedir (Mottram, 1994; Tressl and Rewicki, 1999; Lee and Shibamoto, 2002; Nursten, 2005; Mottram et al., 2006). Maillard reaksiyonunu başlangıç, ara ve son aşama olmak üzere üç grup altında inceleyen ilk kapsamlı reaksiyon şeması Hodge (1953) tarafından geliştirilmiştir (Şekil 2.2). Mauron (1981) ise reaksiyonun aşamalarını erken, ileri ve son aşama olarak sınıflandırmıştır.



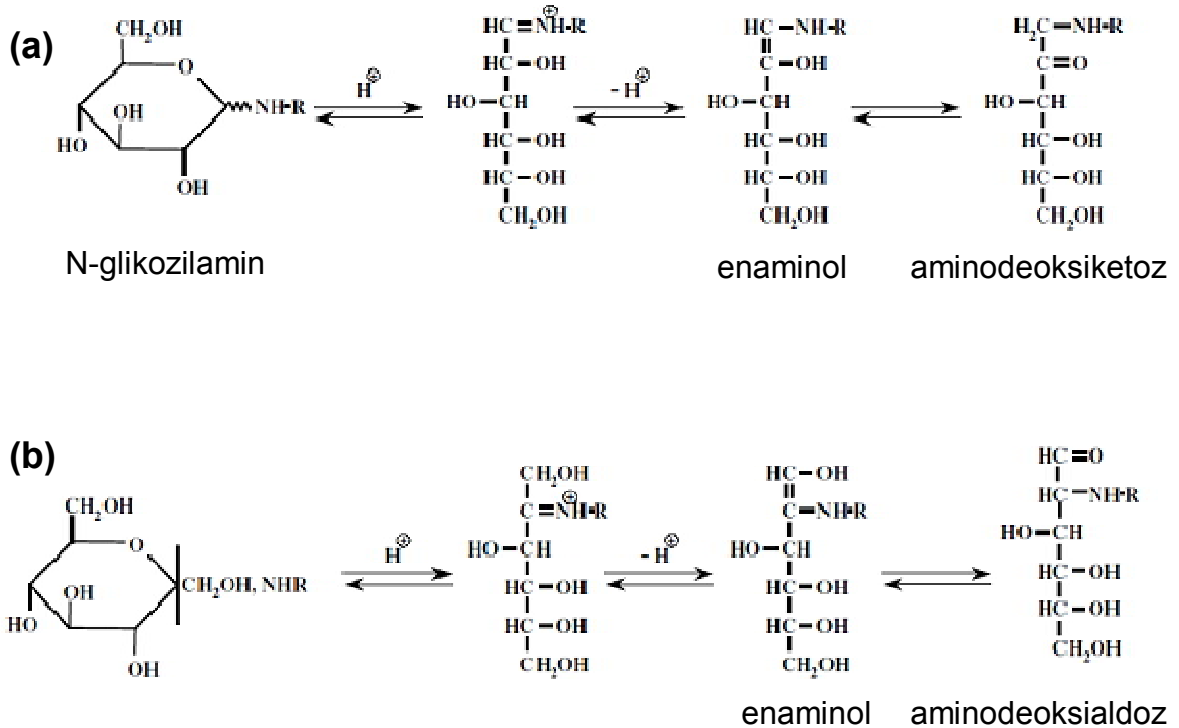
Şekil 2.2. Maillard reaksiyon şeması (Hodge, 1953).

Başlangıç aşamasında, indirgen şekerlerin (aldoz, örneğin glukoz) karbonil grupları ile amino asit, peptid veya proteinlerin primer amino gruplarının reaksiyona girmesi ve bir molekül su kaybetmesi ile (Schiff bazı üzerinden halka yapı kazanarak) kondensasyon ürünü olan N-glikozilamin oluşmaktadır (Şekil 2.3).



**Şekil 2.3.** Siklizasyon ile N-glikozilamin oluşumu (Davidek and Davidek, 2003).

Başlangıç şekeri aldoz veya ketoz olmasına göre N-glikozilamin kendi içerisinde düzenlenerek; aldözilaminler Amadori bileşeni adı verilen 1-amino-1-deoksi-2-ketoz'u; ketozilaminler ise Heyns bileşeni olarak bilinen 2-amino-2-deoksi-aldoz oluşturur (Davidek and Davidek, 2003; Nursten, 2005). Her iki yeniden düzenleme de glikozilaminin hemiasetal halkasının açılması ve imonyum iyonunun oluşmasına neden olan protonizasyon ile başlar. Hidrojen kaybı enaminol yolu ile aminodeksiketoz veya aminodeksialdoz oluşumuna öncülük eder (Şekil 2.4).



**Şekil 2.4.** (a) Amadori yeniden düzenlenmesi, (b) Heyns yeniden düzenlenmesi (Davidek and Davidek, 2003).

Birçok gıdada, proteinlerin lizin kalıntılarının  $\epsilon$ -amino grubu, reaktif amino grupları ile Maillard reaksiyonu için en önemli kaynaktır fakat bu lizin kalıntılarının bloke olması nedeniyle sindirimde yararlanılamaz ve sonuç olarak gıdanın besin değeri azalır (Brands and van Boekel 2001, Villamiel et al., 2006).

Amadori bileşikleri, karakteristik flavor, aroma ve kahverengi polimerlerin oluşumunda önemli çok sayıda bileşenin öncüleridir. Bu bileşikler, duyuşal değışikliklerden önce oluşmaktadır ve bu nedenle, Amadori bileşiklerinin tayini Maillard reaksiyonundan kaynaklanan değışikliklerinin erken aşamada belirlenmesi için oldukça hassas bir göstergedir (Olano and Martínez-Castro, 2004).

Amadori ve Heyns ürünleri, ortamın pH ve sıcaklığına bağılı olarak parçalanır ve Maillard reaksiyonunun ara aşama bileşikleri olarak bilinen degradasyon ürünlerinin oluşumuna neden olur. Ortam nötr veya asidik olduğu durumlarda 1,2-enolizasyon yolu ile başlangıç şekeri pentoz ise furfural; heksoz ise hidroksimetilfurfural (HMF) oluşumu gerçekleşir. Alkali ortamda ise, Amadori bileşiklerinin (veya Schiff bazı ile ilgili diğeri ürünler) parçalanması 2,3-enolizasyon yolu ile gerçekleşir ve redüktonlar ve asetol, prüvaldehit, diasetil gibi fizyon ürünleri oluşmaktadır. Açığı çıkan tüm bu bileşenler oldukça reaktiftir ve sonraki reaksiyon basamaklarında da önemli rol oynamaktadır.

Dikarbonil bileşikleri (dehidroredükton fizyon ürünleri) ile amino asitlerin interaksiyonu Strecker parçalanması olarak bilinmekte ve gıdalarda amino asit kaybına (yıkımına) neden olmaktadır. Bu parçalanma reaksiyon zincirinin bir sonucu olarak, dekarboksilasyon ve deaminasyona (amonyağıın sistemdeki diğeri bileşiklere aktarılması) uğrayan amino asitler, aldehitleri ve  $\alpha$ -amino ketonları oluşturmaktadır.

Maillard reaksiyonunun son aşaması, melanoidinler olarak bilinen azotlu kahverengi polimer ve kopolimerlerin oluşumu ile karakterize edilmiştir (Villamiel et al., 2006). Melanoidinlerin yapısı henüz tam olarak açıklığı kavuşturulamamıştır ancak bu konuyla ilgili çeşitli yaklaşımlar vardır. Melanoidinler düşük moleköl ağırlıklı renkli maddeler olarak tanımlanmıştır. Lizin veya arjinin aracılığı ile çapraz bağılı proteinler ile yüksek moleköl ağırlığına sahip renkli melanoidinlerin üretilebileceğı ileri sürülmüştür. Ayrıca, bunların Maillard reaksiyonunun ileri

aşamalarında meydana gelen furan ve/veya pirollerin tekrarlanan birimlerden oluşan polimerler olduğu da öne sürülmüştür (Martins and van Boekel 2003).

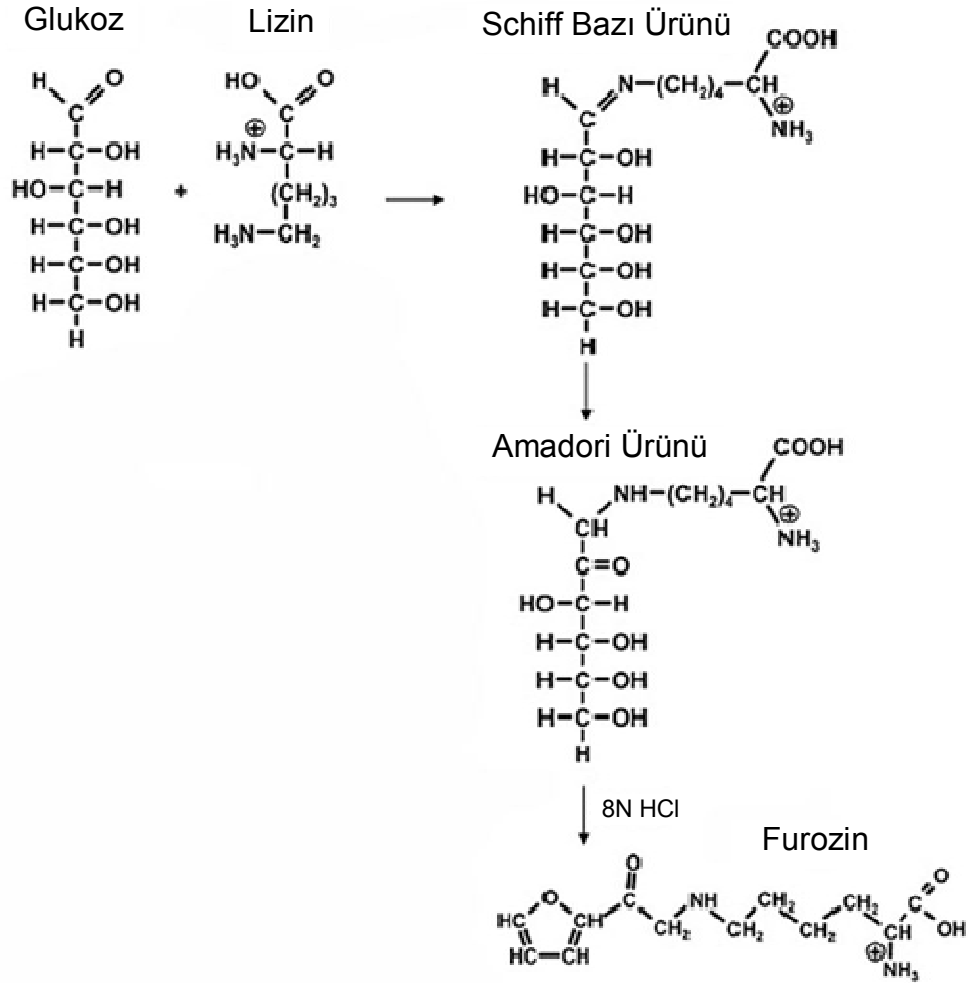
## **2.4. Bazı Maillard reaksiyon ürünleri**

### **2.4.1. Furozin**

Furozin, N<sup>ε</sup>-karboksimetillizin (CML), hidroksimetilfurfural, piralin, pentozidin ve pironil-lizin gıdaların kalitesini belirlemede markör olarak en yaygın kullanılan Maillard reaksiyon ürünleridir (Erbersdobler and Somoza, 2007). Erbersdobler and Zucker (1966) araştırmalarında Amadori bileşeni N<sup>ε</sup>-fruktozlizinin kimyasal bir belirteci olan furozinin gıdalardaki miktarını ilk kez tayin etmişlerdir (Erbersdobler and Somoza, 2007). Furozin, Maillard reaksiyonunun başlangıç aşamasında, indirgen karbonhidratlarla tepkimeye giren amino asitlerin Amadori ürünlerini oluşturarak yararlanabilirliklerini kaybetmesi hakkında bilgi vermektedir. Bu durum özellikle esansiyel bir amino asit olan ve birçok proteinde sınırlı olarak bulunan lizin için önemlidir. Bir proteinin besinsel kalitesini değerlendirmek amacıyla serbest lizin ve reaksiyona girerek farklı Maillard reaksiyon ürünlerini oluşturan lizin miktarının bir arada analizi gereklidir. CML, hidroksimetilfurfural, piralin, pentozidin veya pironil-lizin gibi ısı işlem sonucu oluşan diğer kimyasal markörler Maillard reaksiyonunun ileri aşamaları için yararlı belirteçlerdir ve furozinin olduğu koşullarla karşılaştırıldığında, bu bileşenlerin daha şiddetli ısı işleme gereksinim gösterdikleri bildirilmiştir (Erbersdobler and Somoza, 2007).

#### **2.4.1.1. Furozin oluşum mekanizması**

Maillard reaksiyonunun erken aşamasında, lizinin ε-amino grupları ile glukozun reaksiyona girmesi sonucu fruktozil-lizin adı verilen Amadori bileşikleri oluşmaktadır. Lizinin laktoz ile reaksiyonu laktulozil-lizin, maltoz ile reaksiyonu ise maltulozil-lizin oluşumu ile sonuçlanmaktadır. Oluşan bu Amadori bileşikleri, asit hidrolizi ile amino asit türevi bir bileşen olan furozine (ε-N-(furoylmetil)-L-lizin) dönüşmekte (Şekil 2.5) ve bu ürün kantitatif olarak belirlenebilmektedir (Erbersdobler and Hupe, 1991).



**Şekil 2.5.** Furozin oluşum mekanizması (Erbersdobler and Somoza, 2007).

Osborne tarafından proteinlerin biyolojik değeri bundan yaklaşık yüz yıl önce incelenmiş ve ilerleyen süreç içerisinde protein kalitesinin belirlenmesinde biyolojik markörler tanımlanmaya çalışılmıştır (Erbersdobler and Somoza, 2007). Amino asit analizi uzun yıllar proteinlerin besinsel kalitesinin değerlendirilmesi amacıyla kullanılmıştır. Ardından amino asit analizleri ısıtma işlemine tabi tutulan gıdalara uygulanmış ancak bu prosedürün güvenilir olmadığı anlaşılmıştır. Lizin gibi amino asitler, ısıtma işlemi sırasında indirgen şekerlerle kolaylıkla reaksiyona giren serbest amino grubu içermektedirler. Bu sırada gerçekleşen reaksiyonlarda (Maillard reaksiyonu), lizin kaybıyla sonuçlanan farklı bileşenler oluşur. Ancak asit hidrolizi basamağını içeren standart amino asit analizi prosedürü uygulandığında buradaki lizin de serbest lizin olarak hesaplanmaktadır. Dolayısıyla, florodinitrobenzen ile lizinin kritik  $\epsilon$ -amino grubu işaretlenerek yararlanılabilir lizinin belirlenmesi

Carpenter (1960) tarafından önerilmiş ve bu gelişmeden sonra tüm dünyada uygulanmıştır (Erbersdobler and Somoza, 2007). Bu alandaki diğer çalışmalar, yararlanılabilir lizin, ısıt işlem uygulanan gıdalarda en hassas kimyasal markör olmadığını göstermiştir. Günümüzde Maillard reaksiyonu ürünlerinin ısıt işlem tipi ile oldukça yakından ilgili olduğu bilinmektedir. Furozin, CML, hidroksimetilfurfural, piralin, pentozidin ve pironil-lizin az veya çok ısıt işleme maruz kalmış gıdaların besinsel değeri belirlenirken en çok kullanılan markörler olarak bilinmektedir. (Erbersdobler and Somoza, 2007).

Furozin analizinin, guanidinyasyon ve florodinitrobenzen esaslı metotların yanında gıdalardaki lizin yararlanılabilirliğinin hesaplanmasında kullanılan etkili parametrelerden biri olduğu bildirilmiştir (Resmini and Pellegrino, 1991).

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) tekniğine bağlı olarak kaydedilen analitik gelişmeler ısıt işlem görmüş ürünlerde furozin miktarının daha kolay tespit edilmesine olanak sunmuştur (Chiang, 1983; Resmini et al., 1990). Özellikle 1992 yılında saf ve stabil furozin standardının ticari kullanımı ile birlikte tüm dünyada bu konu üzerine yapılan araştırmalar ivme kazanmış ve yeni prosedürler geliştirilmiştir (Delgado et al., 1992; Delgado-Andrade et al., 2005).

Furozinin Amadori ürünlerinden sadece %30-40 verimle oluşması, furozin tayininin dezavantajı olarak görülebilir. Diğer taraftan, ısıt işlem şiddetindeki artış ile furozin içeriği arasında her zaman doğrusal bir korelasyon bulunmamaktadır. Önceki çalışmalar, şiddetli ısıt işlem uygulanmış örneklerde Amadori ürünlerinin ve onların markörü olarak furozinin tekrar azaldığını göstermektedir. Bu durumun muhtemelen Maillard reaksiyonunun erken aşamasında oluşan furozinin kararsız bir yapıya sahip olması ve sonraki aşamalarda ileri Maillard reaksiyonu ürünlerine dönüşerek azalmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Capuano et al., 2008; Erbersdobler and Somoza, 2007; Ramirez-Jimenez et al., 2001).

Furozin tayininin avantajı lizin reaksiyon ürünlerinin sadece analitik ve teknolojik olarak belirlenmesi değil aynı zamanda besinsel kalitenin değerlendirilmesi konusunda da fikir vermesidir. Furozin, Maillard reaksiyonunun başlangıç aşamasında oluşan Amadori ürünlerinin belirlenmesinde diğer bir ifadeyle, ısıt işlem görmüş ürünlerde meydana gelen lizin kaybının önemli bir göstergesidir (Erbersdobler and Somoza, 2007).

#### 2.4.2. HMF ve Furfural

Furfurallar gibi istenmeyen bileşiklerin birikimi Maillard reaksiyonunun ileri aşamalarında oluşmaktadır. Furfurallar genellikle, karbonhidratça zengin ürünlerin işlenmesi sırasında uygulanan ısı işlemin şiddeti ve depolama etkisinin değerlendirilmesi için ölçülmektedir (Rada-Mendoza et al., 2004; Ramírez-Jiménez et al., 2001).

Gıdalarda HMF konsantrasyonu bazen kuru meyve ve karamel ürünlerinde 1 g/kg düzeyini dahi aşan geniş bir aralıkta değişmektedir (Akkan et al., 2001; Ibarz et al., 2000; Rada-Mendoza et al., 2004). HMF ayrıca fırıncılık ürünlerinde, malt, meyve suları, kahve ve sirkede de bulunabilir. Gıdalarda tespit edilen HMF düzeyleri Çizelge 2.1'de özet olarak sunulmuştur.

Genellikle HMF, işlenmiş meyve (Rada-Mendoza et al., 2004; Rada-Mendoza et al., 2002), kahve (Murkovic and Bornik, 2007), bal (Fallico et al., 2004; Tosi et al., 2002) ve süt (Morales and Jiménez-Pérez, 2001; van Boekel, 1998) gibi birçok gıda grubu için kalite markörü olarak kullanılabilir. HMF ayrıca, makarna kurutma (Resmini et al., 1993), ekme pişirme (Ramírez-Jiménez et al., 2000a; Ramírez-Jiménez et al., 2000b), tahıl bazlı ekstrüde bebek gıdaları (Fernández-Artigas et al., 1999; Ramírez-Jiménez et al., 2003) ve kahvaltılık hububat ürünleri (García-Villanova et al., 1993) gibi tahıl ürünlerine uygulanan ısı işlemlerin izlenmesi için kullanılmaktadır.



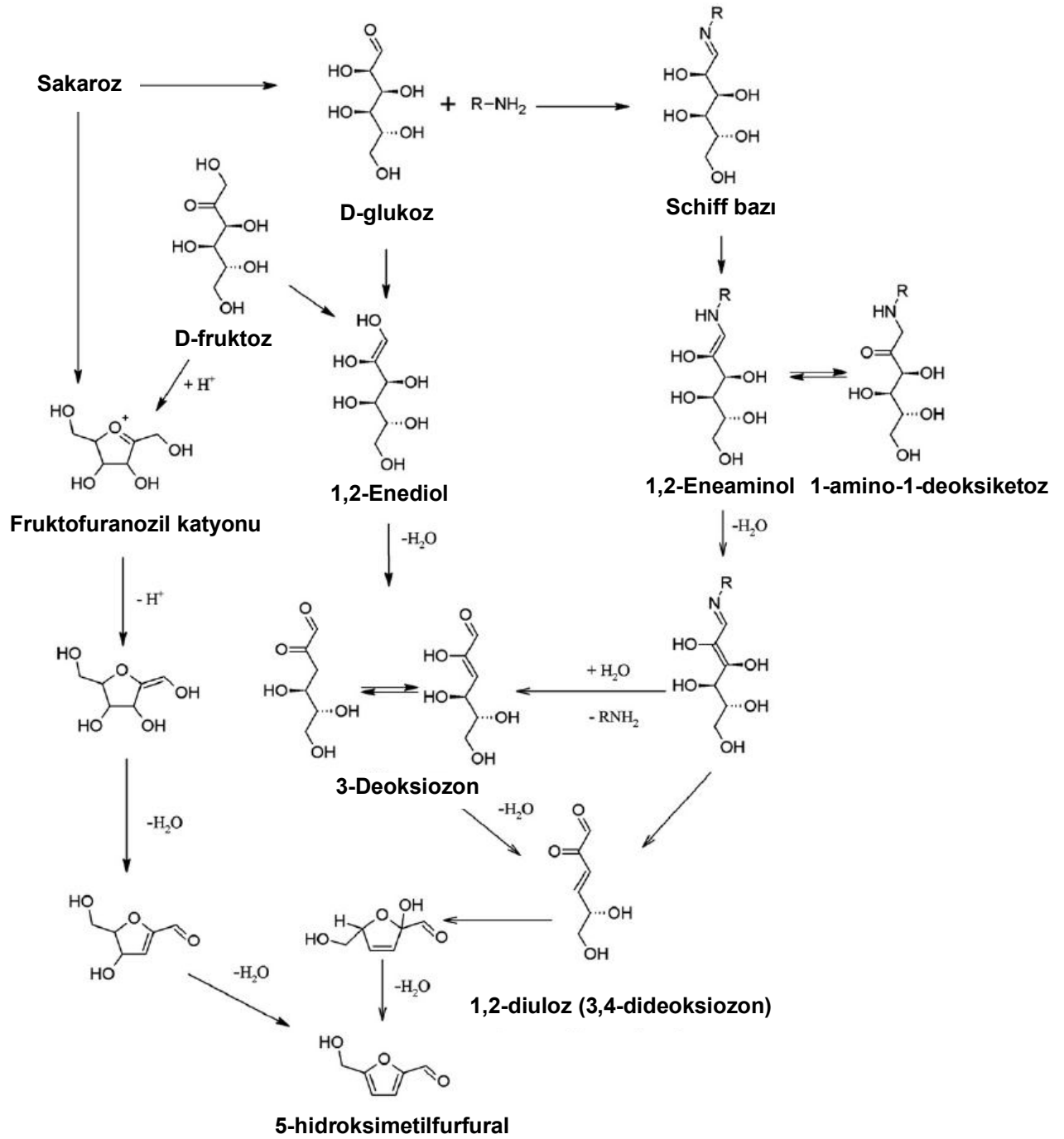
**Çizelge 2.1.** Bazı gıda maddelerinin HMF içerikleri (Capuano and Fogliano, 2011).

Gıda maddesi	HMF içeriği (mg/kg) <sup>a</sup>
Kahve	100-1900
Kahve (instant)	400-4100
Kahve (kafeinsiz)	430-494
Malt	100-6300
Arpa	100-1200
Bal	10.4-58.8
Bira	3.0-9.2 <sup>a</sup>
Reçel	5.5-37.7
Meyve suları	2.0-22.0
Şarap (kırmızı)	1.0-1.3 <sup>a</sup>
Bisküvi	0.5-74.5
Ekmek (beyaz)	3.4-68.8
Ekmek (kızartılmış)	11.8-87.7
Ekmek (atıştırmalık)	2.2-10.0
Kahvaltılık tahıllar	6.9-240.5
Bebek gıdaları (süt-bazlı)	0.18-0.25
Bebek gıdaları (tahıl-bazlı)	0-57.18
Kurutulmuş meyveler	25-2900
Balzemik sirke	316.4-35251.3 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> mg/L

#### **2.4.2.1. HMF ve furfural oluşum mekanizması**

Yüksek sıcaklıklarda ısıtıldıklarında şekerler iki olası reaksiyon zincirini takip ederek furfural bileşiklerine parçalanırlar. Her iki durumda da ilk aşama sakaroz hidrolizini kapsamaktadır. Anılan mekanizmalardan birincisi karamelizasyon reaksiyonudur; maltoz ve maltotrioz içeren indirgen karbonhidratların doğrudan 1-2 enolizasyona uğrayarak dehidrasyon ve siklizasyon reaksiyonu sonucu furfurallar oluşmakta (Kroh, 1994); Maillard reaksiyonunu izleyen ikinci reaksiyon zincirinde ise, Amadori bileşiklerinden asidik koşullarda amino gruplarının açığa çıkması, şeker kısmının enolizasyonu ve bunu takip eden aşamada 3-deoksiozon'un siklodehidrasyonu ile furfurallar meydana gelmektedir (Şekil 2.6) (Ferrer et al., 2002; Ramírez-Jiménez et al., 2000b; Kroh, 1994).



**Şekil 2.6.** 5-hidroksimetilfurfural oluşum mekanizması (Capuano and Fogliano, 2011).

Kuru ve pirolitik koşullar altında fruktoz veya sakarozdan HMF oluşumu için alternatif bir mekanizma daha önerilmiştir. Bu, oldukça yüksek reaktiviteye sahip fruktofuranosil katyonunun oluşumunu kapsamaktadır ve fruktofuranosil katyonu doğrudan ve etkili bir şekilde HMF'ye dönüşmektedir (Şekil 2.6) (Perez-Locas and Yaylayan, 2008).

İndirgen karbonhidratların karamelizasyonu hemiasetal halkanın açılması ile başlar ve bunu izomerik karbonhidratların oluşumuna yol açan asit ve bazlar tarafından katalizlenen enolizasyon takip eder. Lobry de Bruyn–Alberda van Ekenstein dönüşümü olarak bilinen şekerlerin ara-çevirimi bunların enediolleri vasıtasıyla gerçekleşir ve izomerlerin oluşumu pH değerindeki artış ile artar. Asit ortamda, izomerik karbonhidratlar düşük miktarda oluşmaktadır fakat dehidrasyon, HMF ve diğer furaldehit bileşiklerinin oluşumuna neden olur. Alkali ortamda ise, dehidrasyon reaksiyonları asidik veya nötral ortamdan daha yavaştır ancak asetol, asetoin, ve diasetil gibi parçalanma ürünleri tespit edilmiştir. Oksijen varlığında oksidatif fizyon meydana gelmekte ve formik asit, asetik asit ve diğer organik asitler de oluşmaktadır. Tüm bu bileşikler kahverengi polimerler ve flavor bileşiklerini üretmek için reaksiyona girer (Olano and Martínez-Castro, 2004).

HMF karamelizasyon ve Maillard reaksiyonlarının ortak ürünüdür. Bu, glukoz ve fruktozun 1,2 enolizasyonundan elde edilen dehidrasyon ürünü olan 3-deoksiheksosuloz'dan oluşur (Ferrer et al., 2002; Kroh, 1994; Ramírez-Jiménez et al., 2000a). HMF, özellikle düşük pH koşullarında heksozların temel bozunma ürünü olarak bilinmektedir (Akkan et al., 2001; Espinosa Mansilla et al., 1992; Ferrer et al., 2002; Xu et al., 2003). 2-furaldehit (F; furfural) ve 5-metilfurfural (MF; metilfurfural) esas olarak pentozlardan meydana gelmektedir (Ameur et al., 2006; Olano and Martínez-Castro, 2004; Villamiel et al., 2006).

Ayrıca Kroh (1994), glukozun piroliz sıcaklığında (300°C) HMF'nin F, MF ve furildialdehit (FDA)'e sırasıyla dekarboksilasyon, oksidasyon ve redüksiyon yoluyla degrade olduğunu bildirmiştir. HMF taze ve işlenmemiş gıdalarda bulunmazken, karbonhidratça zengin ürünlerin ısı işleme ve depolanması sırasında hızla birikmeye başlar (Akkan et al., 2001; Ibarz et al., 2000; Rada-Mendoza et al., 2004). HMF'nin toksisitesi üzerine yapılan *in vitro* çalışmalardan alınan tezat sonuçlar nedeniyle açık bir şekilde ortaya konulamamıştır (Cuzzoni et al., 1988; Janzowski et al., 2000; Lee et al., 1995). Buna rağmen, HMF istenmeyen bir bileşik olarak kabul edilmektedir (Ameur et al., 2006).

#### **2.4.2.2. HMF'nin sağlık üzerine etkileri ve toksisitesi**

Ağız yoluyla farklı düzeylerde (0.08-500 mg/kg vücut ağırlığı) [<sup>14</sup>C]-HMF verilen fare ve ratlarda HMF'nin gastrointestinal kanalda hızla absorbe edildiği bulgulanmıştır (Germond et al., 1987; Godfrey et al., 1999). Diyet yoluyla alınan HMF'nin böbrek, mesane ve minör düzeyde de karaciğerde kovalent bağlandığı rapor edilmesine rağmen, hızlı bir şekilde metabolize olduğu ve idrar yoluyla atıldığı bildirilmiştir (Germond et al., 1987; Godfrey et al., 1999).

Delgado-Andrade et al. (2008) insan intestinal hücre kùltür modeli (Caco2 cell line) kullanarak yapmış oldukları araştırmada, hücreler yüksek HMF konsantrasyonuna maruz kaldıkları zaman, HMF'nin absorpsiyon ve taşınımının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar gıda kompozisyonunun özellikle de lif içeriğinin HMF alımını önemli ölçüde etkilediğini rapor etmişlerdir. Buna ek olarak, gastrointestinal sindirimden geğen HMF'nin enterik bakteriyel suşlar tarafından furfural alkole dönüştürülebileceği bildirilmiştir (Boopathy et al., 1993).

Vücuda alınan HMF birkaç farklı yoldan biotransformasyona uğramaktadır. Bunlar arasında majör yol HMF'nin erken oksidasyonu ile 5-hidroksimetil-2-furanoik asit (HMFA) ve daha sonra konjugasyona uğrayarak N-(5-hidroksimetil-2-furoil)glisin (HMFG; HMFA'nın glisin konjugatı) oluşumudur. Meydana gelen bu iki ana metabolit, idrar yoluyla kolaylıkla atılmaktadır. İkinci biotransformasyon mekanizması üzerinden serbest furoik asit (FA) veya 2,5-furandikarboksilik asit (FDCA) oluşmaktadır. Godfrey et al. (1999) HMFA, HMFG ve FDCA'yı kemirgenlerin idrarlarında tespit etmişlerdir. Farklı araştırmalarda, insan idrarlarında da HMFA, HMFG ve FDCA bulgulanmıştır ve bu sonuç adı geğen metabolitlerin gıdalarda HMF'den türemiş olduğunu göstermektedir (Husøy et al., 2008).

Yukarıda belirtilen yolların yanı sıra, HMF'nin sülfogrubu verici 3'fosfoadenozin-5'-fosfosülfat (PAPS) varlığında sülfotransferazlar (SULTs) ile katalize olan allilik hidroksil fonksiyonel gruplarının, sülfonasyon yoluyla sülfoksimetifurfural (SMF)'a *in vitro* koşullarda biyoaktif edilmesi, HMF'nin değişime uğradığı bir diğer mekanizma olarak gösterilmektedir. SMF'de sülfat kolay ayrılabilen bir gruptur ve DNA ve diğer makromoleküllerle reaksiyona girebilen oldukça yüksek reaktiviteye sahip ara ürün oluşurmaktadır (Capuano and Fogliano, 2011). Böylece, toksik ve

mutajenik etkilere neden olmaktadır (Surh et al., 1994). SMF çok kararsız bir yapıya sahiptir ancak son zamanlarda yapılan bir araştırmada, HMF'ye maruz bırakılan farelerin kanında tespit edilmiştir. Buda HMF'nin *in vivo* koşullarda SMF'ye metabolize olduğunu göstermektedir (Monien et al., 2009). Son olarak, HMF ve furfuralların biyotransformasyonu için minör bir mekanizma olarak, furfuralların halka yapısının açılması yoluyla  $\alpha$ -ketoglutarik asit ve sitrik asit döngüsü oluşmasıyla karbondioksite tamamen oksidasyonu gösterilmektedir (Nomeir et al., 1992). Bu mekanizma literatürde kemirgenler için tanımlanmıştır ancak insanlar için henüz bir bilgiye rastlanmamıştır.

Yüksek konsantrasyonlarda HMF'nin sitotoksik olduğu ve gözlerde, üst solunum yolu, deri ve mukozada tahrişe neden olduğu gösterilmiştir. Ulbricht et al. (1984) alışmalarında ağız yoluyla HMF alımında ratlar için LD<sub>50</sub> değerini 3.1 g/kg vücut ağırlığı olarak hesaplamışlardır. Amerika evre Koruma Ajansı (US EPA) tarafından ratlarla yapılan bir başka çalışmada (US EPA, 1992) ise, akut oral LD<sub>50</sub> değerini 2.5 g/kg vücut ağırlığı olarak tespit edilmiştir (Capuano and Fogliano, 2011). HMF'nin karsinojenik aktivitesi kemirgenler üzerinde birçok araştırmaya konu olmuştur. HMF rat kolonunda preneoplastik lezyonların (ACF, aberrant crypt foci) oluşumunda başlatıcı ya da destekleyici olduğu bildirilmiştir (Archer et al., 1992; Bruce et al., 1993). Zhang et al. (1993) HMF'nin 0-300 mg/kg vücut ağırlığı aralığında ağız yoluyla tek doz uygulamasının ardından ratlarda ACF oluşumunda doza-bağlı önemli bir artış olduğunu bildirmişlerdir. Surh et al. (1994) farelere günlük 10-25  $\mu$ mol HMF uygulaması sonrası cilt epitel tümörü (skin papillomas) oluşumunu indüklediğini tespit etmişlerdir. Bir başka çalışmada ise, ratlara uygulanan HMF ile cilt tümöründe önemli ölçüde bir değişikliğin olmadığı bildirilmiştir (Miyakawa et al., 1991).

Svendsen et al. (2009) fareler üzerinde yapmış oldukları araştırmada, HMF'nin ince bağırsak adenoma sayısını önemli ölçüde ( $p=0.033$ ) arttırırken, SMF'nin ise kalın bağırsakta düz ACF sayısını önemli ölçüde ( $p=0.025$ ) arttırdığını tespit etmişlerdir. HMF ve SMF uygulamalarının adenomaların büyüklüğü üzerine etkisinin olmadığını bildiren araştırmacılar, HMF ve SMF'nin farelerde zayıf ince bağırsak karsinojenleri olduğunu rapor etmişlerdir (Svendsen et al., 2009).

### 2.4.3. Akrilamid

İsveç Ulusal Gıda İdaresi (Swedish National Food Administration) tarafından 2002 yılında yapılan bir basın açıklamasında nişasta içeren çeşitli kızarmış ve fırınlanmış gıdalarda akrilamidin yüksek miktarda oluştuğunun tespit edildiği bildirilmiştir (Swedish National Food Administration, 2002). Kısa bir süre içinde gıdalarda akrilamid oluşumu için majör mekanizmanın Maillard reaksiyonu olduğu ve bu reaksiyon için ana öncülün asparajin olduğu açık bir şekilde ortaya konmuştur (Mottram et al., 2002; Stadler et al., 2002, 2004; Zyzak et al., 2003). Asparajin deaminasyon ve dekarboksilasyon ile termal olarak dekompoze olabilmektedir. Ancak gıdalarda serbest asparajin ve indirgen şeker varlığında yüksek oranda akrilamid oluştuğu bildirilmiştir (Mottram et al., 2002; Weisshaar and Gutsche, 2002; Yaylayan et al., 2003). Gıdalarda akroleinden (Yasuhara et al., 2003), akrilik asitten (Yasuhara et al., 2003) ve buğday gluteninden (Claus et al., 2006) akrilamid oluşumu için diğer minör reaksiyon rotaları da öne sürülmüştür. Sonuç olarak akrilamid 3-aminopropionamid (3-APA)'in deaminasyonu ile oluşabilmektedir (Granvogl and Schieberle, 2006). Maillard reaksiyonunun bir ara ürünü olan 3-APA aynı zamanda serbest asparajinin enzimatik dekarboksilasyonu ile de oluşabilmektedir. Hatta bir karbonil kaynağı yokluğunda dahi ısıtma sonucu akrilamid meydana getirebilir (Granvogl et al., 2004; Granvogl and Schieberle, 2007).

2003 yılından günümüze, gıda maddelerinde akrilamid oluşumu üzerine üye devletlerin hem yetkili makamları hem de gıda sanayinden elde edilen tüm veriler Avrupa Komisyonu Ortak Araştırma Merkezi (Joint Research Center; JRC)'ne sunulmaktadır. 2009 yılı Nisan ayında, Avrupa Gıda Güvenliği Ajansı (European Food Safety Agency; EFSA) Avrupa Komisyonu'nun isteğine (komisyon önerisi 2007/331/EC) (European Commission, 2007) yanıt olarak 21 üye devlet ve Norveç tarafından 2007 yılında örneklenen gıdalarda tespit edilen akrilamid düzeyleri rapor edilmiştir (EFSA, 2009). 2008 ve 2009 yıllarında örneklenen gıdalarda akrilamid düzeylerine ilişkin iki ek raporun, yıllık bazda EFSA tarafından yayınlanması beklenmektedir. EFSA tarafından rapor edilen güncel sonuçların bir özeti Çizelge 2.2'de sunulmuştur.

**Çizelge 2.2.** Bazı gıda maddelerinin akrilamid içerikleri ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )<sup>a</sup> (EFSA, 2009).

Gıda maddesi	N <sup>b</sup>	Orta değer	Ortalama	Maksimum değer
Bisküvi	227	169	317	4200
Ekmek	272	50	136	2430
Kahvaltılık tahıllar	128	100	156	1600
Tahıl bazlı bebek gıdaları	76	42	74	353
Kahve	208	188	253	1158
Kızartılmış patates	529	253	350	2668
Konserve bebek gıdaları	84	31	44	162
Diğer ürünler	854	169	313	4700
Patates cipsi	216	490	628	4180
Evde pişirilen patates ürünleri	121	150	319	2175

<sup>a</sup> LOD'nin altındaki değerler ve LOD ile LOQ arasındaki değerler sırasıyla LOD veya LOQ değerine ayarlanmıştır.

<sup>b</sup> Her bir gıda kategorisi için analiz edilen örnek sayısı.

Akrilamidin kızartma, kavurma ve pişirme sırasında oluştuğu, ancak, haşlanmış veya mikrodalga işlemine tabi tutulmuş gıda ürünlerinde akrilamid genellikle bulunmadığı bildirilmiştir (EFSA, 2009). En yüksek akrilamid seviyeleri, kızarmış patates ürünleri, ekmek ve fırıncılık ürünleri ile kahvede tespit edilmiştir. Fındık ve badem (Amrein et al., 2005) gibi Çizelge 2.2'de belirtilenler dışındaki gıda ürünleri ile son zamanlarda kurutulmuş meyveler (örneğin erik, armut, kayısı) gibi ciddi ısıtma işlemine tabi tutulmayan gıdalarda (Amrein et al., 2007) da akrilamid belirlenmiştir.

İnsanlar için nörotoksik ve potansiyel karsinojen bir madde olan akrilamid için NOAEL (No Observable Adverse Effect Level) değeri 0.1 mg/kg vücut ağırlığı olarak belirlenmiştir (Shaw and Thomson, 2003). Kemirgenler ve insanları akrilamid duyarlılığı açısından eşdeğer kabul edilerek yapılan araştırmalara göre, günde 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  vücut ağırlığı düzeyinde akrilamid tüketimi sonucunda hayat boyu kanser olma riski Amerika Çevre Koruma Kurumu (US Environmental Protection Agency) tarafından binde 4.5, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından binde 0.7, Stokholm Üniversitesi tarafından ise binde 10.0 olarak hesaplanmıştır. Bu risk

iyonize radyasyon için binde 3.0, aflatoksin için ise binde 0.001 olarak bildirilmiştir (Lingnert, 2002).

Dünya Sağlık Örgütü ve Avrupa Birliği Gıda Bilim Komitesi ALARA (as low as reasonably or technically achievable: makul bir şekilde ya da teknik olarak ulaşılabilir düzeyde düşük) prensibi uygulayarak akrilamid oluşumunun azaltma stratejileri için çağrıda bulunmuşlardır. Tüketici Koruma ve Gıda Güvenliği Alman Federal Ofisi (BVL) azaltma konsepti olarak kahvaltılık hububat ürünleri için bir uyarı değeri (a signal value; 200 µg/kg) belirlemiştir. Akrilamid içeriği eğer bu uyarı değerinden yüksekse, gıda üreticilerinin bu içeriğin azaltılmasına yönelik önlemleri alması için uyarılması gerektiği bildirilmiştir. Rufián-Henares et al. (2006) piyasadan topladıkları kahvaltılık hububat ürünlerinin %87'sinin 200 µg/kg değerinden yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

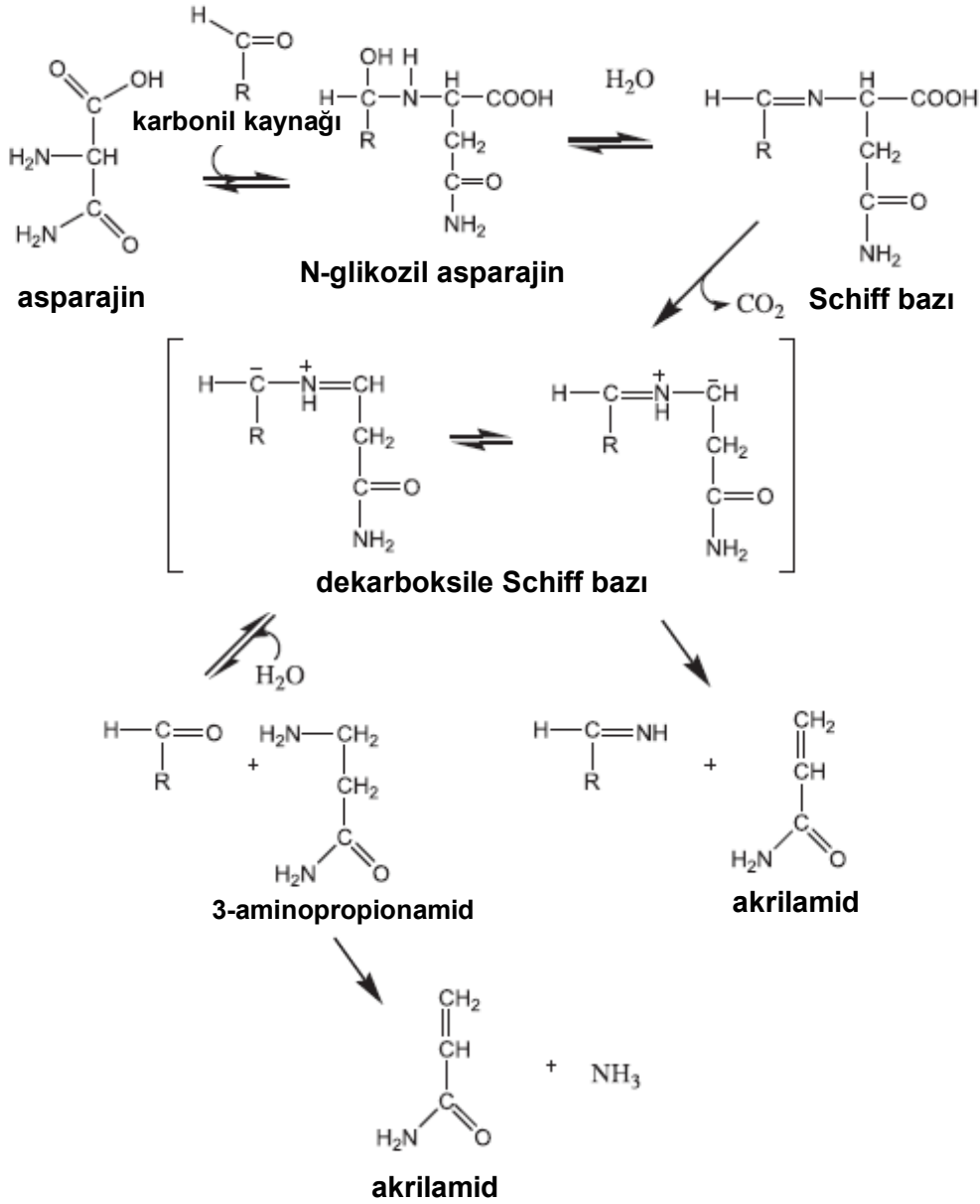
Son zamanlarda özellikle hububat ürünlerinde akrilamid düzeyinin azaltılması veya sınırlandırılması üzerine yapılan araştırmalar önemli bulgu ve sonuçları ortaya koymuştur. Bu alanda agronomik uygulamaların yanı sıra ürün kompozisyonu ve formülasyonun (NaHCO<sub>3</sub> ve NaCl ilavesi gibi), proses koşullarının (sıcaklık-zaman uygulamaları, nem içeriği vb.) ve katkı maddelerinin (Ca<sup>2+</sup> veya Mg<sup>2+</sup> gibi divalent katyonların ilavesi ya da antioksidan ve polifenolik maddelerin ilavesi gibi) etkileri önemli yer tutmaktadır (Claus et al., 2008; Capuano and Fogliano, 2011).

#### **2.4.3.1. Akrilamid oluşum mekanizması**

Akrilamid oluşumuna dair ilk detaylı bilgi Zyzak et al. (2003) (Şekil 2.7) ve Yaylayan et al. (2003) tarafından sağlanmıştır. Araştırmacıların elde ettikleri bulgular, Stadler et al. (2002) ile Mottram et al. (2002) tarafından ortaya konulan akrilamidin indirgen şekerler gibi karbonil kaynakları ile asparajinden Maillard reaksiyonu yolu ile oluştuğunu açıklayan hipotezi doğrulamaktadır.

Asparajin prensip olarak ısının teşvik ettiği dekarboksilasyon ve deaminasyon ile akrilamide dönüşebiliyor olsa da (Yaylayan et al., 2003), pratikte asparajinin akrilamide etkin bir şekilde dönüşebilmesi için karbonhidratlar gereklidir (Claus et al., 2008).





**Şekil 2.7.** Maillard reaksiyonu yoluyla akrilamid oluşum mekanizması (Zyzak et al., 2003).

Teorik olarak çok sayıda karbonil bileşiği bu reaksiyonun oluşumunu artırabilirken, fruktoz veya glukoz gibi α-hidroksi karbonil bileşiklerinin aktivasyon enerjisi üzerine azaltıcı etki göstermesi nedeniyle diğerlerine kıyasla reaksiyonun gerçekleşmesinde daha etkili olduğu bildirilmiştir (Yaylayan and Stadler, 2005). Ayrıca, Maillard reaksiyonunda gliksal gibi şeker parçalanma ürünleri meydana

gelmektedir ve bunlar reaksiyonun ilerlemesi için önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır (Amrein et al., 2006).

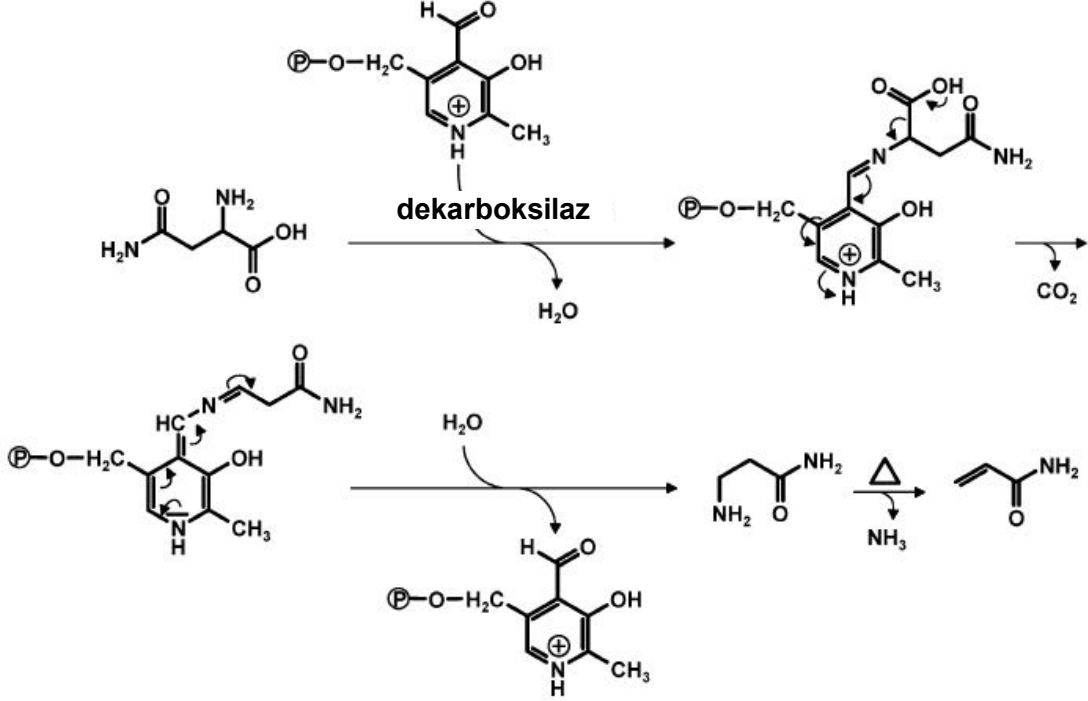
Akrilamid oluşumunda ilk basamak, serbest asparajinin  $\alpha$ -amino grubu ile bir karbonil kaynağının reaksiyona girerek Schiff bazı oluşturmasıdır (Zyzak et al., 2003). Isı altında Schiff bazı ya hidroliz olarak akrilamidin güçlü bir öncülü olan 3-aminopropionamid (3-APA)'e dönüşür (Granvogl et al., 2004) ya da doğrudan akrilamid oluşturacak şekilde 1,2-eliminasyona uğrar. Fakat akrilamidin Maillard reaksiyonu yoluyla oluşum mekanizması hala tam olarak aydınlatılamamıştır. Buna rağmen akrilamidin indirgen şekerler ve asparajinden Maillard reaksiyonu ile oluşumu temel oluşum rotası olarak görülmektedir (Claus et al., 2008).

Model çalışmalar temelinde, akrilamidin "gıda kaynaklı" toksikant olarak keşfinden kısa bir süre sonra asparajin akrilamidin en etkili öncülü olarak tanımlanmıştır (Stadler et al., 2002; Mottram et al., 2002; Weisshaar and Gutsche, 2002; Zyzak et al., 2003; Yaylayan et al., 2003; Becalski et al., 2003). Buna ek olarak, akrolein ve amonyak akrilamid oluşumunda diğer öncüller olarak belirlenmiştir (Yasuhara et al., 2003). Mottram et al. (2002) akrilamidin, ara aşamada anahtar bir role sahip olan Strecker aldehitinden oluştuğunu önermişlerdir. Ancak, bu reaksiyondan aldehit oksijeninin nasıl ayrıldığı tam olarak aydınlatılamamıştır.

Zyzak et al. (2003) herhangi bir karbonil bileşiğinin asparajini aktive edebileceğini ve oluşan Schiff bazının, daha sonra ısıtmanın da etkisiyle dekarboksilatları oluşturabileceğini önermişlerdir. Dekarboksile Schiff bazı ya ısıtmanın etkisiyle doğrudan akrilamid oluşturmakta ya da amonyağın eliminasyonu ile akrilamide dönüşebilen 3-APA'ya degrade olmaktadır. Model çalışmalarda elde edilen sonuçlar 3-APA yoluyla üretilen akrilamid miktarının, asparajin ile doğrudan oluşan akrilamidden beş kat fazla olduğu rapor edilmiştir (Zyzak et al., 2003).

Sitokiyometrik açıdan değerlendirildiğinde, asparajinden akrilamid oluşumu için ortamdan amonyak ve karbondioksitin eliminasyonu gereklidir. Ayrıca Maillard tipi reaksiyonların akrilamid oluşumunda bugüne kadar anahtar rol oynadığı bildirilmiştir. Hammaddede dekarboksilazların varlığında, Şekil 2.8'de gösterildiği gibi asparajinden bir biyojenik amin olan 3-aminopropionamid (3-APA) oluşabilir ve daha sonra termal olarak deaminasyon yoluyla akrilamid oluşur. Bu proses

indirgen karbonhidratların bulunmadığı ortamda yürümektedir. Kofaktör olarak pridoksal fosfat yoluyla amino asitlerden biyojenik aminlerin oluşumu enzim varlığına bağlı bir reaksiyondur (Granvogl et al., 2004).



**Şekil 2.8.** Pridoksal fosfat kofaktör olarak kullanılarak asparajinin dekarboksilasyonu ile 3-APA oluşumunun biyokimyasal mekanizması (Granvogl et al., 2004).

#### **2.4.3.2. Akrlamidin sağlık üzerine etkileri ve toksik ve karsinojenik özellikleri**

Birçok araştırmada akrilamidin insan ve hayvanlarda nörotoksik, kemirgenlerde üreme hücreleri üzerine mutajen etkili ve karsinojen olduğu bildirilmiştir (European Commission, 2002; IARC, 1994; Shipp et al., 2006). Akrlamid metabolizması insan, rat ve farelerde toksikokinetik çalışmalarla detaylı bir şekilde ortaya konmuştur. İnsan ve hayvanlarda vücuda alındıktan sonra akrilamid tüm vücutta hızlı bir şekilde absorbe olmakta ve dağılmaktadır. Abramson-Zetterberg et al. (2005) akrilamidi karaciğer, kalp, beyin, böbrek gibi bazı organlarda tespit etmişlerdir. Diğer araştırmalarda ise akrilamid hem insan plasentasında (Schettgen et al., 2004) hem de anne sütünde (Sorgel et al., 2002) bulgulanmış ve bu nedenle cenin ya da yeni doğmuş bebeklere kolaylıkla aktarılabilir olduğu bildirilmiştir.

Akrilamidin glutatyona konjügasyonunun yanı sıra sitokrom P450 yoluyla karaciğerde glisidamide epoksidasyonu majör metabolik mekanizmalar olarak tanımlanmıştır (Sumner et al., 1992). Toksikokinetik çalışmalar kandaki düşük akrilamid düzeylerinde anılan bu ikinci metabolik mekanizmanın giderek daha önemli hale geldiğini göstermektedir (Doerge et al., 2005). Glisidamid oluşumunun akrilamid ve onun metabolitlerinin genotoksik etkileri için kritik bir aşama olduğu kabul edilmektedir. Akrilamidin ve çok daha yüksek oranda da glisidamidin, hemoglobin, serum albuminleri ve enzimler gibi makro-moleküller ile reaksiyona girebileceği *in vivo* çalışmalarla ortaya konmuştur (Doerge et al., 2005; Shipp et al., 2006). Ayrıca, akrilamidin majör metaboliti olan glisidamidin DNA ile reaksiyona girerek nokta mutasyonlarına ve kansere yol açtığı rapor edilmiştir (Rudén, 2004; Claus et al., 2008).

Çalışma koşulları nedeniyle yüksek seviyede solunum ve deri yoluyla akrilamide maruz kalan işçilerde nörotoksik belirtiler saptanmıştır (WHO, 2005). Bunlar ataksi (kas koordinasyon bozukluğu) ve iskelet kas zayıflaması olarak tanımlanmıştır. Fare ve rat çalışmalarında, nörotoksik etki için NOAEL (No Observable Adverse Effect Level) değeri 0.2 ila 10 mg/kg vücut ağırlığı/gün arasında değiştiği tahmin edilmektedir ve diyet yoluyla maruz kalma bu değerlerin çok üzerindedir (WHO, 2005). Son zamanlarda, akrilamidin kabul edilen nörotoksitesinin kümülatif olabileceği ve dolayısıyla diyet yoluyla alınan akrilamidin göz ardı edilmemesi gerektiği bildirilmektedir (LoPachin, 2004).

1994 yılından bu yana, Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (International Agency for Research on Cancer, IARC) tarafından akrilamid “insanlar için olası karsinojen (IARC Grup 2A)” olarak sınıflandırılmıştır (IARC, 1994). Kemirgenler ile yapılan çeşitli araştırmalar, akrilamidin bir çoklu-organ karsinojeni olduğunu kanıtlamaktadır. Akrilamidin akciğer, rahim, cilt, meme bezi ve beyin gibi birçok organda tümöre neden olduğu bildirilmiştir (Rice, 2005).

Memelilerde glisidamide dönüşen akrilamidin karsinogenisitesi (kansere yol açıcı olduğu) yaygın bir şekilde kabul edilmektedir. Bu konuyla ilgili hem *in vitro* hem de *in vivo* test sistemlerinde yapılan birçok araştırmada, glisidamidin mutajenik ve genotoksik olduğu rapor edilmiştir (Besaratina and Pfeifer, 2007; Koyama et al., 2006; Martins et al., 2007; Mei et al., 2008).

### **2.4.3.3. Akrlamid düzeyini azaltma stratejileri**

Gıdalarda akrilamid miktarını sınırlamak amacıyla şimdiye kadar birçok azaltma stratejisi önerilmiş ve test edilmiştir. Bu çalışmalar ağırlıklı olarak patates ürünleri ve hububat bazlı ürünler üzerine yoğunlaşmış bulunmaktadır. Diğer taraftan, kahve ürünlerinde son ürün kalitesini etkilemeden akrilamid seviyesini azaltmak için işlem seçenekleri oldukça sınırlıdır (CIAA, 2009; Guenther et al., 2007). Azaltma basamakları reçete ve formülasyonlardaki değişiklikler (akrilamid öncülleri düşük patates ve hububat çeşitlerinin seçilmesi; proteinler, glisin, sistein ve diğer amino asitler, organik asitler ve asit düzenleyiciler, kalsiyum iyonları, doğal antioksidanlar veya antioksidan ekstraktlarının ilavesi; indirgen şekerler yerine sakarozun ve amonyum bikarbonat yerine sodyum bikarbonatın kullanılması gibi) ya da proses koşullarında ve/veya teknolojilerdeki değişiklikleri (kızartma veya pişirme proseslerinde sıcaklık-zaman profillerinin değiştirilmesi; fırın tipinin değiştirilmesi, fermantasyon süresinin uzatılması gibi) kapsamaktadır (Claus et al., 2008; Capuano and Fogliano, 2011).

Isıl işlem görmüş gıdalarda akrilamid içeriğini kontrol etmek amacıyla uygulanan azaltma stratejilerinden en dikkat çekici olanı asparajinaz enziminin ilave edilmesidir. Asparajinaz (L-asparajin amidohidrolaz) asparajinin aspartik asit ve amonyağa hidrolizini katalizlemekte ve dolayısıyla öncül asparajin düzeyinin azalmasına neden olmaktadır. Laboratuvar ölçekli çalışmalarda asparajinaz enzimi uygulamasının hem patates (Zyzak et al., 2003) hem de hububat bazlı ürünlerde (Capuano et al., 2008; Capuano et al., 2009) akrilamid seviyesini %85-90'a kadar azalttığı tespit edilmiştir. Buna ek olarak, asparajinaz uygulamasının ürünlerin tat ve görünüşü üzerine negatif bir etkisinin olmadığı ve endüstriyel ölçekte bazı ürünler için kullanıldığı bildirilmiştir (CIAA, 2009). Ancak, enzimin yüksek maliyeti büyük ölçekte uygulamalarla ilgili ciddi bir sınırlama getirebilir (Capuano and Fogliano, 2011).

Bazı azaltma stratejilerinin diğer risklerde bir artış veya yararlarının kaybı ile ilişkili olduğu vurgulanmıştır. Örneğin, maya fermantasyonunun uzatılması ekmekte akrilamid konsantrasyonunu etkili bir şekilde azaltabileceği ancak aynı zamanda, başka bir proses kontaminantı olan 3-monokloropropandiol (3-MCPD) düzeyinde artışa neden olduğu bildirilmiştir (Hamlet and Sadd, 2005; Hamlet et al., 2004).

Benzer bir şekilde, fırıncılık ürünlerinde kullanılan kabartma ajanlarından amonyum bikarbonat yerine sodyum bikarbonatın tercih edilmesi ile sodyum alımının artacağı rapor edilmiştir (Capuano and Fogliano, 2011). Gıdaların akrilamid içeriğini azaltmayı hedefleyen eylemler, insan sağlığı üzerindeki tüm yan etkileri ve bunların etkilerini ortaya koyabilmek için bir risk-risk ya da risk-fayda analizi ile birlikte değerlendirme yapılmasının gerekliliği konusunda geniş bir fikir birliği vardır. Fırıncılık ürünlerinde akrilamid miktarının azaltılmasına yönelik geliştirilen stratejilerden bazılarının HMF oluşumunu doğal olarak teşvik ettiği bildirilmiştir. Bunlar arasından polivalent katyon ilavesi (Gökmen and Senyuva, 2007); glisin ilavesi (Capuano et al., 2009) ve tüketilebilir asit ilavesi (Gökmen et al., 2008) dikkat çekmektedir. Diğer taraftan bazı azaltma stratejilerinin (glisin ilavesi ile meydana gelen aşırı esmerleşme, off-flavor gelişmesi, sıcaklık-zaman profilinde yapılan değişikliğe bağlı olarak yetersiz esmerleşme) gıdaların organoleptik özelliklerinde değişiklik meydana getirdiği ve bu nedenle son ürün kalitesini ve tüketici beğenisini önemli ölçüde etkileyebileceği ileri sürülmüştür (Capuano et al., 2009).

### **3. MATERYAL VE METOT**

Doktora tezi kapsamında yapılması planlanan ekstrüzyon ürünlerinin üretimi A.B.D. Michigan Eyalet Üniversitesi Gıda Bilimi ve Beslenme Bölümü'nde (Michigan State University, Department of Food Science and Human Nutrition, U.S.A.) gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, bazı ön deneme çalışmaları yapılarak hammaddenin sisteme besleme hızına (feed rate) ve besleme nem içeriklerine (feed moisture content, %); ekstrüzyon cihazının namlu sıcaklıklarına (barrel temperature), vida hızına (screw speed), ekstrüder çıkış kalıbı çapına (die diameter) ve vida konfigürasyonuna (screw configuration) karar verilmiştir.

#### **3.1. Materyal**

##### **3.1.1. Hammadde**

Hammadde olarak kullanılan beyaz mısır unu (ADM Milling Company, Jackson, A.B.D.), D-riboz (NutraBio.com, Inc., New Jersey, A.B.D.), L-asparajin (Ajinomoto AminoScience LLC, North Carolina, A.B.D.), soya protein izolatu ve D-glukoz (ADM Specialty Food Ingredients Co., Illinois, A.B.D.) A.B.D.'deki çeşitli firma ve kuruluşlardan temin edilmiştir.

##### **3.1.2. Denemede kullanılan formülasyonlar**

Bu çalışmanın ana amacı ekstrüzyon pişirme tekniğinde uygulanan sistem parametrelerinin ve üretim aşamasında kullanılan ingredienlerin Maillard reaksiyonu üzerine etkilerinin araştırılmasıdır. Bu kapsamda 7 farklı formülasyon hazırlanmış ve ekstrüzyon pişirme tekniğinde uygulanan bazı sistem parametreleri değiştirilerek, geleneksel ekstrüzyon ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemleri ile ekstrüzyon ürünleri üretilmiştir. Şeker tipinin Maillard reaksiyon ürünlerinin oluşumu üzerine etkilerini araştırmak amacıyla D-glukoz içeren Formülasyon 1 ve D-riboz içeren Formülasyon 2; kabartma ajanlarının furozin, hidrokümetilfurfural (HMF), furfural ve akrilamid oluşumu üzerine etkilerini takip edebilmek amacıyla Formülasyon 3-6; pH değişiminin furfural ve akrilamid oluşum mekanizması üzerine etkilerini incelemek amacıyla ise sitrik asit içeren Formülasyon 7 karışımları hazırlanmıştır. Ayrıca anılan tüm bu formülasyonlar kullanılarak üretilen ekstrüzyon ürünlerinde karışımlarda yer alan bileşenlerin son ürünün fiziksel özellikleri üzerine etkileri de

takip edilmiştir. Ekstrüzyon ürünlerinin üretiminde kullanılan formülasyonların bileşimi Çizelge 3.1'de verilmiştir.

### **3.1.2.1. Ekstrüzyon ürünlerinin üretiminde kullanılan formülasyonların hazırlanması**

Ağırlıkça %2 oranında tartılan indirgen şeker (D-glukoz ya da D-riboz) üzerine 500 ppm seviyesinde L-asparajin ilave edilerek küçük ölçekli mikserde (KitchenAid K5SS, St. Joseph, Michigan, A.B.D.) düşük seviyede (stir) her biri 10'ar dakika olmak üzere 2 kez karıştırılmıştır. Hazırlanan bu karışım üzerine soya protein izolatı (%5 w/w) eklenerek yine aynı koşullar uygulanmıştır. Son olarak karışıma beyaz mısır unu ilave edilerek büyük ölçekli mikserde (Hobart A-200, Ohio, A.B.D.) düşük seviyede (1) 30 dakika karıştırılmıştır. Bu yöntem kullanılarak Çizelge 3.1'de verilen her bir formülasyondan toplam 10'ar kg hazırlanmıştır. Ayrıca aşağıda belirtilen kontrol grubu örnekleri de hazırlanmıştır;

- sadece beyaz mısır unu,
- beyaz mısır unu, L-asparajin (500 ppm) karışımı,
- indirgen şeker içermeyen L-asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5 w/w), beyaz mısır unu karışımı,
- soya protein izolatı içermeyen D-glukoz (%2 w/w), L-asparajin (500 ppm), beyaz mısır unu karışımı,
- soya protein izolatı içermeyen D-riboz (%2 w/w), L-asparajin (500 ppm), beyaz mısır unu karışımı.



**Çizelge 3.1.** Ekstrüzyon ürünlerinin üretiminde kullanılan formülasyonlar

Formülasyonlar	İndirgen şeker				Kabartma ajanları			BMU*
	D-glukoz (%2 w/w)	D-riboz (%2 w/w)	L-Asn (500 ppm)	SPI (%5 w/w)	NaHCO <sub>3</sub> (%1 w/w)	NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub> (%1 w/w)	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub> (%1 w/w)	
Formülasyon-1	+	-	+	+	-	-	-	+
Formülasyon-2	-	+	+	+	-	-	-	+
Formülasyon-3	+	-	+	+	+	-	-	+
Formülasyon-4	+	-	+	+	-	+	-	+
Formülasyon-5	-	+	+	+	+	-	-	+
Formülasyon-6	-	+	+	+	-	+	-	+
Formülasyon-7	-	+	+	+	-	-	+	+

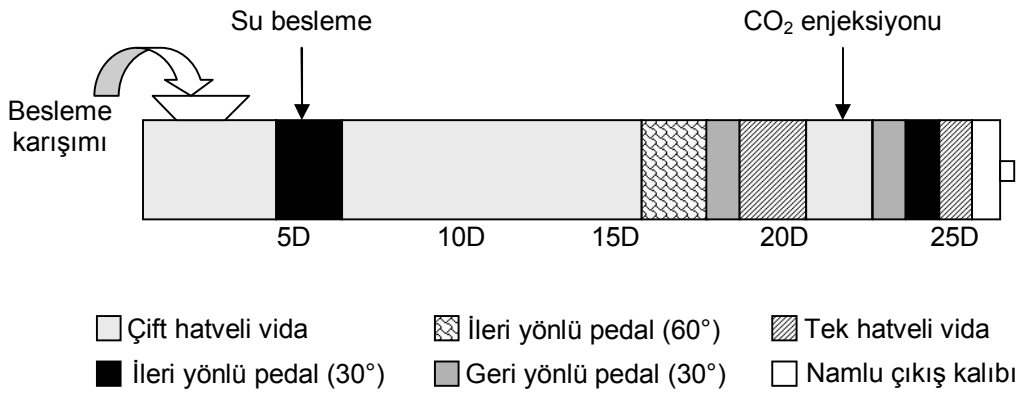
(\*) Ağırlıkça yüzde bileşimi tamamlayacak miktarda

## 3.2. Metotlar

### 3.2.1. Ekstrüzyon Ürünlerinin Üretilmesi

#### 3.2.1.1. Geleneksel ekstrüzyon yöntemi

Ekstrüzyon ürünlerinin üretiminde namlu uzunluğunun namlu çapına oranı (L/D) 25:1 olan ikili-vida tipi (twin-screw) ekstrüzyon cihazı (APV Baker MPF19, İngiltere) kullanılmıştır. Bu cihazın namlu kısmı 5 farklı sıcaklık bölgesinden oluşmaktadır. Namlu sıcaklığı 1., 2. ve 3. bölgelerde sırasıyla 60, 90 ve 110°C olacak şekilde; 4. bölge 110°C veya 150°C, 5. bölge ise istenilen ürün sıcaklığına uygun olarak ayarlanmıştır. Sıcaklık kontrolü cihazın yapısında bulunan elektrikli ısıtıcılar ve namlu içerisinden geçirilen soğutma suyu ile sağlanmıştır. Tüm üretimlerde vida hızı (200 rpm), dairesel çıkış kalıbı çapı (2 mm) ve hammaddenin sisteme besleme hızı (2.5 kg/saat) sabit tutulmuştur. Ön deneme çalışmaları sonucu karar verilen vida konfigürasyonu Şekil 3.1’de verilmiştir.



**Şekil 3.1.** Çift vidalı ekstrüzyon cihazının vida konfigürasyonu

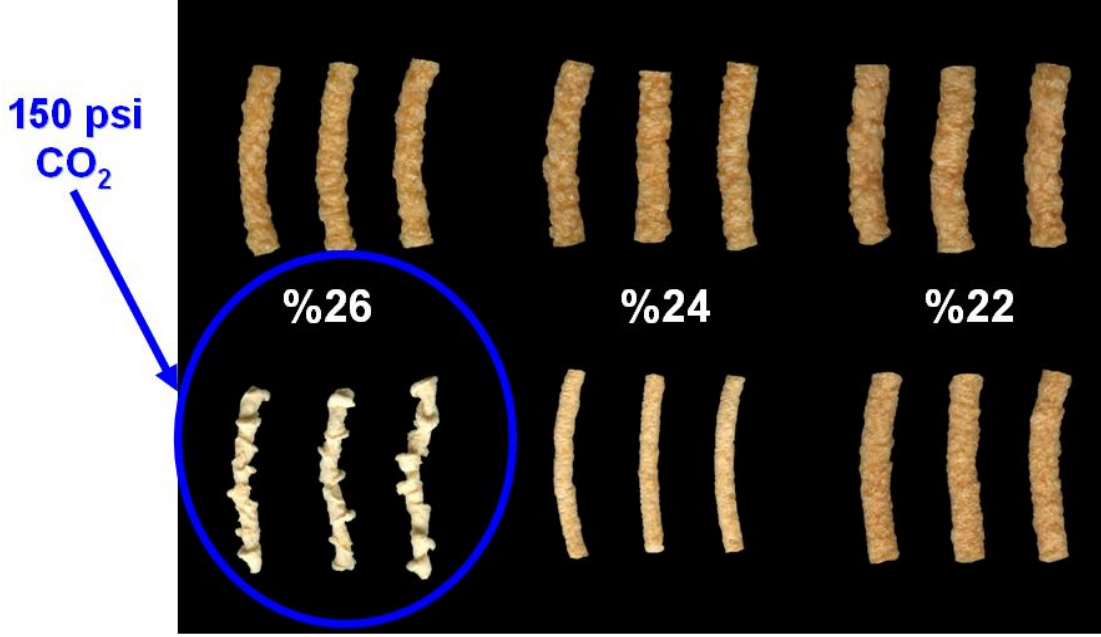
Ekstrüzyon ürünlerinin üretiminden önce, hazırlanan formülasyonların % nem içeriği tespit edilmiştir. Bu değerlerden ve sisteme beslenecek olan hammaddede istenilen % nem içeriği değerinden yararlanılarak sisteme dakikada pompalanacak su miktarı hesaplanmıştır. Toplam nem içeriği %22, %24 veya %26 olacak şekilde su, hammadde besleme bölgesine yakın bir noktadan namluya enjekte edilmiştir.

Tüm üretim yöntemlerinde kontrol grubu örnekleri (indirgen şeker ve/veya soya protein izolatu ilave edilmemiş) üretilirken tek namlu sıcaklığı (150°C) ve tek besleme nem içeriği (%22) uygulanmıştır.

Ekstrüzyon sistemi (tork, iç basınç ve sıcaklık değerleri) kararlı duruma ulaştığı zaman ekstrüzyon ürünleri toplanmıştır. Toplanan tüm örnekler oda koşullarında bir süre bekletildikten sonra 50°C'de fanlı, kurutma fırınlarına alınarak nem içerikleri %10'un altına düşürülmüştür. Örneklerin bir kısmı, genişleme indeksi (expansion index) ve yığın yoğunluğu (bulk density) analizlerinin yapılması için ağzı kilitli, hava geçirmez polietilen poşetlerde muhafaza edilmiştir. Diğer bir kısmı ise Moulinex (Type A505, France) marka kahve değirmeninde öğütülüp, 212 µm'lik elekten geçirildikten sonra yine aynı şekilde ambalajlanmıştır. Tüm örnekler kimyasal analizler yapılana kadar 4°C'de depolanmıştır. Deneme planı her bir ürün için iki tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

### **3.2.1.2. Karbondioksit enjeksiyonu yöntemi**

Karbondioksit enjeksiyonu prosesinde, geleneksel ekstrüzyon yönteminde kullanılan ekipmanın aynısı kullanılmıştır. Namlu çıkış kalıbından yaklaşık olarak 120 mm uzaklıkta sisteme karbondioksit enjeksiyonu yapılmıştır. Bu yöntemde de iki farklı namlu sıcaklığı (110 ve 150°C) ve üç farklı besleme nem içeriği (%22, %24 ve %26) uygulanmıştır. Yapılan ön deneme çalışmaları ile sisteme enjekte edilecek karbondioksit düzeyinin namlu iç basıncı değerine bağlı olduğu bulunmuştur. Yüksek sıcaklık uygulamasında (150°C) namlu içerisindeki materyalin akışkanlığının arttığı ve düşük sıcaklık (110°C) uygulamasına göre namlu iç basıncının düştüğü tespit edilmiştir. Ayrıca Şekil 3.2'de görüldüğü gibi, geleneksel ekstrüzyon yöntemiyle 150°C namlu sıcaklığında her bir besleme nem içeriğinde düzenli örnek elde edilirken, aynı koşullarda CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi ile 150 psi basınçta özellikle yüksek besleme nem içeriğinde stabil ürün elde edilememiştir. Buna göre 110°C sıcaklık denemesinde sisteme 150 psi; 150°C'de ise 75 psi düzeyinde CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yapılmıştır. Elde edilen ürünler geleneksel yöntemle üretilenler ile aynı koşullarda muhafaza edilmiştir.



**Şekil 3.2.** 150 psi basınçta uygulanan CO<sub>2</sub> enjeksiyonunun ürün özellikleri üzerine etkileri

### 3.2.2. Genişleme İndeksi

Hava sirkülasyonlu kurutma fırınlarında nem içerikleri düşürülen ekstrüzyon ürünlerinin çapları kumpas ile ölçülmüştür. Her bir örnekten 25 kez ölçülmüş ve elde edilen sonuçlar ekstrüder çıkış kalıbı çapına bölünerek genişleme indeksi değerleri hesaplanmıştır.

### 3.2.3. Namlu Basıncı ve Motor Torku

Sisteme beslenen materyal tarafından absorbe edilen enerjinin miktarı % motor torku olarak okunmuştur. Sisteme sadece su beslenirken başlangıç anındaki % motor torku ölçülmüş, daha sonra stabil ürün alınırken okunan % motor torkundan, başlangıç anındaki % motor torku çıkarılarak düzeltilmiş % motor torku değeri elde edilmiştir. Namlu çıkışındaki basınç dijital bir basınç ölçer (Dynisco Inc., USA) ile belirlenmiştir.

### 3.2.4. Yığın Yoğunluğu

Ekstrüzyon ürünlerinin yığın yoğunluğu (YY) değerleri (g/cm<sup>3</sup>) Hwang and Hayakawa (1980) ve Meng et al. (2010) tarafından tanımlanan hacimsel yer değiştirme prensibine göre kuşyemi (pearl millet) kullanılarak saptanmıştır. YY

değerleri Eşitlik 3.1'e göre hesaplanmış ve sonuçlar on paralelin ortalaması olarak verilmiştir.

$$\rho_{eks} = \frac{W_{eks} (g)}{V_c (cm^3) \times \left(1 - \frac{W_{eks+pm} (g)}{W_{pm} (g)}\right)} \quad (3.1.)$$

$\rho_{eks}$  : ekstrüzyon ürününün YY

$W_{eks}$  : ekstrüzyon ürününün ağırlığı

$V_c$  : ölçüm yapılan silindirik kabın hacmi

$W_{eks+pm}$  : sabit hacimde ekstrüzyon ürünü ve kuşyeminin birlikte ağırlığı

$W_{pm}$  : sabit hacimde kuşyeminin ağırlığı

### 3.2.5. Furozin analizi

Ekstrüzyon ürünlerinin furozin içeriği, Resmini and Pellegrino (1991) tarafından rapor edilen yöntem modifiye edilerek belirlenmiştir. Üretilen ekstrüzyon ürünleri kahve değirmeninde (Moulinex, Fransa) öğütülerek homojen hale getirilmiştir. Vida kapaklı cam tüplere (23 cm) 0.5 g örnek tartılarak üzerine 2.5 mL 8 N hidroklorik asit (HCl) ilave edilmiştir. Tüplerin tepe boşluğunda kalan havanın (oksijenin) uzaklaştırılması için azot gazı kullanılmış ve hemen ardından kapaklar sızdırmaz bir şekilde kapatılmıştır. Örnekler 110°C' ye ayarlı kum banyosunda (Şimşek Laborteknik, Ankara) 23 saat süreyle hidroliz işlemine tabi tutulmuştur. Hidroliz edilen örnekler kaba filtre kağıdı kullanılarak filtre edilmiştir. Filtrat, 2 mM sodyumasetat ile 100 kat seyreltilmiş ve seyreltilen örnekten analiz için 1 mL alınmıştır. Örnekler HPLC analizi öncesinde 1 mL metanol ve 1 mL deiyonize su ile koşullandırılmış HLB kartuştan geçirilerek filtre edilmiştir.

Analizde kullanılan furozin standardı Neosystem Laboratuvarı (Strasbourg, Fransa)' ndan temin edilmiştir. Analizde dörtlü pompa, diyod array dedektörü (DAD) ve kolon fırını içeren Agilent Technologies (Waldbronn, Almanya) 1100 HPLC sistemi kullanılmıştır. Kromatografik ayırım, Atlantis HILIC kolonda (4.6 x

250 mm, 5 µm) gerçekleştirilmiştir. Mobil faz olarak 1.0 mL/dak akış hızında, 2 mM sodyum-asetat ile hazırlanmış %0.1'lik formik asit çözeltisi kullanılmıştır. Kolon sıcaklığı 40°C, enjeksiyon hacmi 10 µL' dir. Kromatogramlar 280 nm dalga boyunda elde edilmiştir. Furozin pikinin saflığı 250 ve 350 nm dalga boyu aralığında kaydedilerek doğrulanmıştır.

Furozin stok çözeltisi 1.0 mg/mL derişimde su içerisinde hazırlanmıştır. Çalışma standart çözeltileri, stok çözeltiden günlük olarak 0.1, 0.2, 0.5, 1, 5 ve 10 mg/L derişimlerine seyreltilerek hazırlanmıştır.

### **3.2.6. HMF ve Furfural analizleri**

Ekstrüzyon ürünlerinin hidrokümetilfurfural (HMF) ve furfural analizlerinde Gökmen and Şenyuva (2006)'nın bildirdiği ekstraksiyon metodu modifiye edilerek uygulanmıştır. Homojen bir şekilde öğütülen örneklerden falcon tüplerine 0.5 g tartılarak üzerine 2 mL 10 mM formik asit, 0.5 mL Carrez I, 0.5 mL Carrez II çözeltisi ve 2 mL mutlak (absolute) etanol ilave edilmiş ve vorteks karıştırıcıda 3 dakika boyunca ekstrakte edilmiştir. Süre sonunda örnekler 6000 x g hızda 4 dakika 0°C'de santrifüj işlemine (Sigma 3-18K, Almanya) tabi tutulmuştur. Santrifüj işlemi ile elde edilen süpernatant dikkatli bir şekilde farklı bir tüpe aktarılmıştır. Tüpte kalan retentat üzerine 2.5 mL %50 (v/v)'lik etanol çözeltisinden ilave edilerek ilk basamakta anılan hız ve sürelerde sırasıyla vorteks ve santrifüj işlemleri uygulanmıştır. İkinci basamakta belirtilen ekstraksiyon işlemi tekrarlanmış ve elde edilen süpernatantlar bir araya getirilmiş ve olası katı partiküllerin uzaklaştırılması amacıyla 12000 x g hızda 10 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen berrak ekstrakt, 0.45 µm'lik naylon filtreden geçirilerek HPLC'de analizi için viallere alınmıştır.

Ekstrüzyon ürünlerinin HMF ve furfural miktarları, Ameer et al. (2006) tarafından geliştirilen yöntem modifiye edilerek belirlenmiştir. Analizde dörtlü pompa, diyod array dedektörü (DAD) ve kolon fırını içeren Agilent Technologies (Waldbronn, Almanya) 1100 HPLC sistemi kullanılmıştır. Kromatografik ayırım, Atlantis dC18 kolonda (4.6 x 250 mm, 5 µm) gerçekleştirilmiştir. Mobil faz olarak, pH değeri 3.6'ya asetik asit (%100) ile ayarlanmış 0.04 M sodyum asetat: metanol (90:10, v/v) izokratik karışımı kullanılmıştır. Akış hızı 1 mL/dak, kolon sıcaklığı 25°C,

enjeksiyon hacmi 10 µL olarak uygulanmıştır. HMF için maksimum absorbands dalga boyu 285 nm, furfural için ise 278 nm olarak belirlenmiş ve kromatogramlar anılan bu dalga boylarında tespit edilmiştir.

Standart eğrinin oluşturulması amacıyla, HMF stok çözeltisi 1.0 mg/mL derişimde; furfural stok çözeltisi ise 10.0 mg/mL derişimde su içerisinde hazırlanmıştır. Çalışma standart çözeltileri, hem HMF hem de furfural stok çözeltilerinden günlük olarak 0.1, 0.2, 0.5, 1, 5 ve 10 mg/L derişimlerine %45 (v/v)'lik etilalkol:10 mM formik asit çözeltisiyle seyreltilerek hazırlanmıştır.

### **3.2.7. Akrlamid analizi**

Tez çalışması kapsamında üretilen ekstrüzyon ürünlerinde akrilamid miktarının belirlenmesinde Gökmen et al. (2012) tarafından geliştirilen yöntem kullanılmıştır. Ekstrüzyon ürünlerinin akrilamid analizleri sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi (LC-MS/MS) (Waters Acquity H Class UPLC system, Waters Corporation, MA, A.B.D.) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Akrlamid analizi için örneklerin ekstraksiyonunda, HMF ve furfural analizleri için uygulanan ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Üç aşamada gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi sonucunda bir araya getirilen süpernatantlar olası katı partiküllerin uzaklaştırılması amacıyla 12000 x g hızda 10 dakika santrifüj (Sigma 3-18K, Almanya) edilmiştir. Elde edilen süpernetanttan 1 mL alınarak, LC-MS analizi öncesinde 1 mL metanol ve 1 mL deiyonize su ile koşullandırılmış Oasis MCX kartuştan, saniyede bir damla hızla geçirilmiştir. Kartuşun koşullandırılması sırasında meydana gelebilecek olası seyrelmenin önlenmesi amacıyla ilk 8-10 damla atılmış ve kalan kısım bir vialde toplanmıştır.

Akrlamid stok çözeltisi 1.0 mg/mL derişimde su içerisinde hazırlanmıştır. Çalışma standart çözeltileri, stok çözeltiden günlük olarak 1, 2, 5, 10 ve 20 µg/L derişimlerine 10 mM formik asit ile seyreltilerek hazırlanmıştır.

### **3.2.8. pH tayini**

Ekstrüzyon ürünlerinin pH analizleri, Hanna marka pH metre (HI-221, Michigan, A.B.D.) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ekstrüzyon sistemi kararlı duruma ulaştığında namlu çıkışından toplanan ekstrüzyon ürünlerinden vakit kaybetmeden

2 g tartılarak üzerine 40 mL distile su ilave edilmiş ve pH metrenin elektrodu daldırılarak okuma yapılmıştır.

### **3.2.9. Analitik metot validasyonu**

Analitik validasyon, analitik uygulamalardan elde edilen sonuçların geçerliliğini ve yöntemin uygulanabilirliğini gösteren parametreler topluluğudur (Özkan, 2011). Validasyon çalışmaları kapsamında, doğrusallık, geri kazanım, tespit sınırı (LOD; limit of detection) ve tayin sınırı (LOQ; limit of quantification) değerleri hesaplanmıştır. Bu amaçla furozin, hidrokümetilfurfural, furfural ve akrilamid standart çözeltileri, kalibrasyon eğrileri oluşturmak için kullanılmıştır. LOD ve LOQ değerleri sinyal/gürültü oranına dayalı yöntemle belirlenmiştir (Özkan, 2011). LOD değeri sinyal/gürültü oranınının 3 katı, LOQ değeri ise 10 katı alınarak hesaplanmıştır. Geri kazanım değeri, analizi yapılan maddenin gıda matriksine ilave edilmesi, homojen hale getirilmesi, uygun ekstraksiyon ve dedeksiyon işlemleri uygulanarak elde edilen sonuçların standart çözeltilerdeki miktarlar ile kıyaslanması prensibine göre belirlenmiştir.

### **3.2.10. İstatistiksel analizler**

Araştırma sonuçları SPSS 16.0 istatistik programı kullanılarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. Farklar önemli bulunduğu ortalamalar DUNCAN testi kullanılarak karşılaştırılmıştır.



## 4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

### 4.1. Genişleme indeksi

#### 4.1.1. Kontrol grubu ekstrüzyon ürünlerinde genişleme indeksi

Bu çalışmada kontrol grubu örnekleri 150°C namlu sıcaklığı, %22 besleme nem içeriği, 200 rpm vida hızı ve 2 mm namlu çıkış kalıbı çapı koşullarında üretilmiştir. Geleneksel ekstrüzyon ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemleri ile üretilen ve sodyum bikarbonat ve amonyum bikarbonat ilave edilerek üretilen kontrol grubu ekstrüzyon ürünlerinin genişleme indeksi (Gİ) sonuçları Çizelge 4.1'de görülmektedir.

**Çizelge 4.1.** Kontrol grubu örneklerin genişleme indeksi değerleri

Yöntem	Genişleme İndeksi				
	BMU*	BMU+Asn	BMU+SPI +Asn	BMU+Glu +Asn	BMU+Rib +Asn
Geleneksel Ekstrüzyon	3.66aA	3.72aA	3.14aB	3.80aA	3.67aA
CO <sub>2</sub> enjeksiyonu (75 psi)	3.50aA	3.44aA	2.81bB	3.34bA	2.95bB
CO <sub>2</sub> enjeksiyonu (150 psi)	2.35bA	2.46bA	-	-	-
NaHCO <sub>3</sub> ilavesi (%1 w/w)	-	2.83bA	2.33cC	2.62dB	2.41cC
NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub> ilavesi (%1 w/w)	-	3.31aA	2.96abB	2.90cB	2.84bB

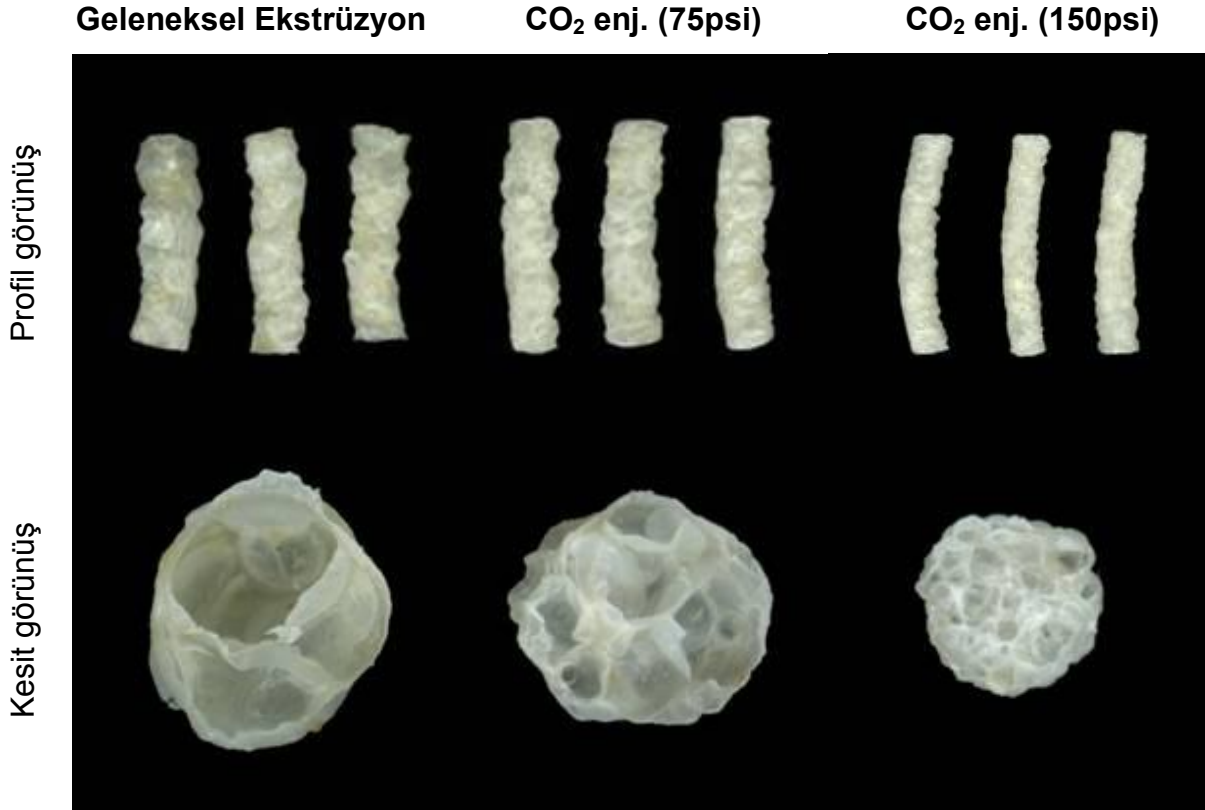
(\*) BMU: Beyaz mısır unu, Asn: L-asparajin, SPI: Soya Protein İzolatı, Glu: D-glukoz, Rib: D-riboz  
(\*\*) Aynı sütunda farklı küçük harflerle ve aynı satırda farklı büyük harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05).

Geleneksel ekstrüzyon yöntemiyle sadece beyaz mısır unu (BMU) kullanılarak üretilen ekstrüzyon ürünlerinin Gİ ortalama 3.66 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.1). Bu değer BMU'ya L-asparajin (L-Asn) ilave edilerek aynı koşullarda üretilen ekstrüzyon ürünlerinde önemli ölçüde değişmezken, soya protein izolatı (SPI) (%5 w/w) ilave edilerek üretilen örneklerde meydana gelen azalma istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0.05). SPI ilavesi ile görülen bu azalma eğilimi, CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi ile sodyum bikarbonat ve amonyum bikarbonat ilave edilerek

üretilen kontrol grubu ekstrüzyon ürünlerinin Gİ sonuçlarında da gözlenmiştir (Çizelge 4.1). Anılan örneklerin Gİ değerlerinde gözlenen farkların önemli olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ).

Doğal mısır nişastasına farklı oranlarda (%0, 5, 10, 15 ve 20) soya protein konsantratu ilave edilerek üretilen ekstrüzyon ürünlerinde; soya protein konsantratu ilave oranı artırıldıkça Gİ değerlerinin azaldığı rapor edilmiştir (de Mesa et al., 2009). Araştırmacılar, nişasta-soya protein konsantratu arasındaki etkileşimlerin ya spesifik mekanik enerji (SME) yoluyla dolaylı olarak ya da nişasta matriksini sürekliliğini bozarak doğrudan genişlemeyi etkileyen önemli bir role sahip olduğunu bildirmişlerdir. Böylece gözenek duvarlarının genişleyebilme özelliği azalmıştır. Peynir altı suyu proteini-nişasta sistemini inceleyen bir başka araştırmada, protein konsantrasyonunun artırılmasıyla genişlemede bir azalma olduğu bildirilmiştir (Allen et al., 2007). Sistem parametrelerinden tork arttığında uygulanan kuvvetin etkisiyle, peynir altı suyu proteinlerinin nişasta, şeker veya dekstrin molekülleri ya da diğer proteinlerin bağlanabileceği ilave bağlanma bölgeleri açığa çıkmaktadır. Polimer etkileşimindeki artış ile, hem nişasta hem de proteinlerin su tutma kapasitelerini azalttığı bildirilmiştir (Allen et al., 2007).

Çizelge 4.1 incelendiğinde, BMU ve BMU'ya L-Asn ilave edilerek CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi ile 75 psi basınç altında üretilen ekstrüzyon ürünlerinin Gİ değerleri aynı koşullarda geleneksel ekstrüzyon yöntemi ile üretilen örneklerle karşılaştırıldığında önemli bir değişim gözlenmemiştir. Diğer taraftan, aynı koşullar altında sadece CO<sub>2</sub> enjeksiyon basıncı 150 psi değerine çıkarıldığında Gİ değerinin önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ). Buna ek olarak, BMU, L-Asn, SPI karışımı kullanılarak 75 psi basınçta CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi ile üretilen ekstrüzyon ürünlerinin Gİ değerleri, geleneksel ekstrüzyon yöntemi ile üretilen örneklerden önemli ölçüde düşük bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Benzer azalma eğilimi BMU, L-Asn, D-glukoz ve BMU, L-Asn, D-riboz karışımlarından üretilen ekstrüzyon ürünlerinin Gİ değerlerinde de gözlenmiş ve bu farkların istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ( $p < 0.05$ ). CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi ile üretilen örneklerde Gİ değerleri daha düşük olmasına rağmen geleneksel ekstrüzyon yöntemiyle üretilen örneklere göre daha üniform bir yapıya sahip olduğu görülmektedir (Şekil 4.1). Benzer eğilim Schmid et al. (2005) ve Bilgi Boyacı et al. (2012) tarafından da rapor



**Şekil 4.1.** Beyaz mısır unu kullanılarak, 150°C namlu sıcaklığı ve %22 besleme neminde geleneksel ekstrüzyon ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemleri ile üretilen ekstrüzyon ürünleri

edilmiştir. Ferdinand et al. (1990) buğday nişastası kullanarak CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi ile ürettikleri ekstrüzyon ürünlerinde, yüksek namlu sıcaklıklarında geleneksel ekstrüzyon ile üretilen örneklere göre daha düşük, fakat daha üniform genişleme elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Sodyum bikarbonat (NaHCO<sub>3</sub>) ilave edilerek (%1 w/w) üretilen ekstrüzyon ürünlerinin Gİ değerleri, NaHCO<sub>3</sub> ilavesiz diğer yöntemlerle aynı koşullarda elde edilen örneklerin (CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi ile 150 psi basınçta üretilenler hariç) Gİ değerlerinden önemli ölçüde düşük bulunmuştur (p<0.05) (Çizelge 4.1).

Berrios et al. (2004) siyah fasulye ununa (*Phaseolus vulgaris* L.) farklı ilave oranlarında (%0, 1, 2, 3, 4 ve 5) NaHCO<sub>3</sub> ilave ederek ekstrüzyon ürünleri üretmişler ve NaHCO<sub>3</sub> ilave oranlarının ürünün yapısı, genişleme oranı ve renk karakteristikleri üzerine etkilerini incelemişlerdir. Araştırmacılar NaHCO<sub>3</sub> ilave oranı artırıldıkça genişleme oranının önemli düzeyde arttığını bildirmişlerdir (Berrios et al., 2004). Aynı ilave oranlarında yapılan bir diğer araştırmada, buğday

nişastasına ilave edilen sodyum bikarbonatın ekstrüzyon ürünlerinde genişlemeyi geliştirdiği fakat yapıyı zayıflattığı ve esmerleşmeye neden olduğu bildirilmiştir (Lai et al., 1989). Farklı bir çalışmada ise, düşük ekstrüzyon sıcaklığında (125°C)  $\text{NaHCO}_3$  ilave oranı artırıldıkça genişlemenin arttığı rapor edilmiştir (Singh et al., 2000). Aynı araştırmada, ekstrüzyon sıcaklığının artırılmasıyla ekstrüzyon ürünlerinin genişlemesi üzerine sodyum bikarbonatın etkisinin azaldığı ve 175°C'de sodyum bikarbonatın genişleme üzerine ters etki gösterdiği bildirilmiştir (Singh et al., 2000). Bu tez çalışması kapsamında %1 (w/w) oranında  $\text{NaHCO}_3$  ilave edilerek 150°C namlu sıcaklığı ve %22 besleme neminde üretilen kontrol grubu ekstrüzyon ürünlerinin Gİ değerlerinde de Singh et al. (2000)'nin araştırma bulgularına benzer bir eğilim görülmektedir (Çizelge 4.1).

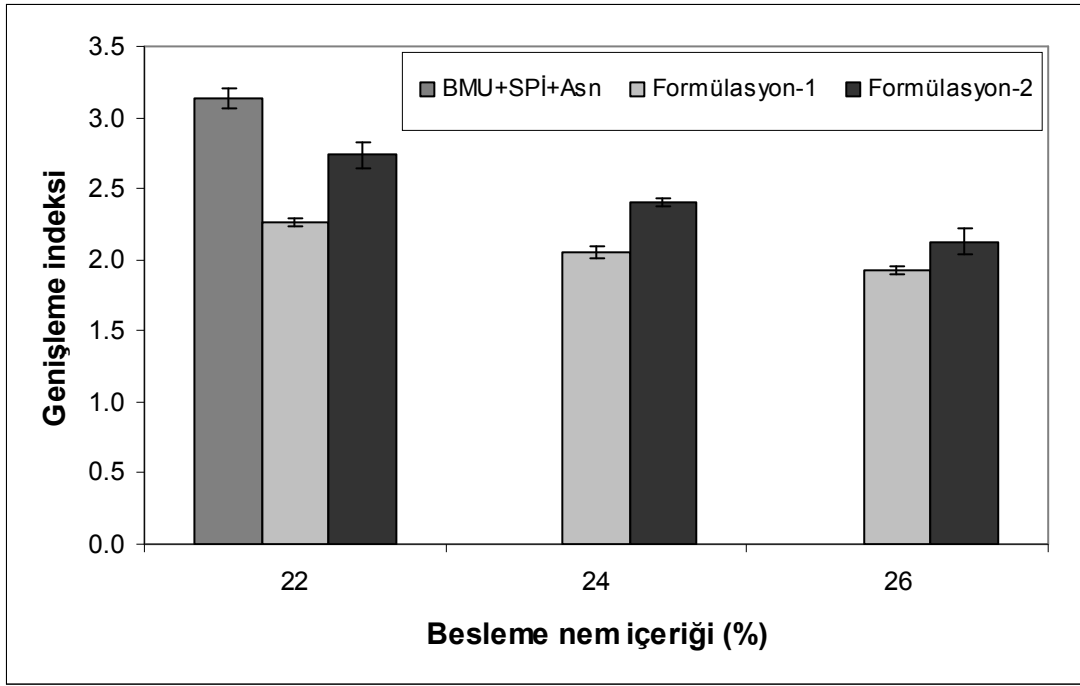
BMU, L-Asn, D-glukoz ve BMU, L-Asn, D-riboz karışımlarına %1 (w/w) oranında amonyum bikarbonat ( $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ) ilave edilerek üretilen ekstrüzyon ürünlerinin Gİ değerleri,  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  ilavesiz geleneksel yöntemle üretilen örneklerin Gİ sonuçları ile karşılaştırıldığında meydana gelen azalma istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Kaur and Singh (2004) pirinç ve mısır irmiklerine farklı düzeylerde (%0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6) amonyum bikarbonat ( $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ) ilave ederek ürettikleri ekstrüzyon ürünlerinde amonyum bikarbonatın ürünün genişleme ve fonksiyonel özellikleri üzerine etkilerini incelemiştir. Araştırmacılar, pirinç ve mısır ekstrüzyon ürünlerinde  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  ilave oranı artırıldıkça genişlemenin azaldığını bildirmişlerdir (Kaur ve Singh, 2004). Bu tez çalışmasında  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  (%1 w/w) ilave edilerek 150°C namlu sıcaklığı ve %22 besleme neminde üretilen kontrol grubu ekstrüzyon ürünlerinin Gİ değerlerinde de benzer bir eğilim görülmektedir (Çizelge 4.1).

Sodyum bikarbonat ve amonyum bikarbonatın sulu sistemlerde ısıtılma reaksiyonları (Bölüm 2.1.2) birlikte değerlendirildiğinde, amonyum bikarbonattan 3 molekül gaz açığa çıkarken (Eşitlik 2.2), sodyum bikarbonat reaksiyonu sonucu 2 molekül gaz ayrılmaktadır (Eşitlik 2.1). Çizelge 4.1 değerlendirildiğinde amonyum bikarbonat ilave edilerek üretilen ekstrüzyon ürünlerinin Gİ değerleri, sodyum bikarbonat ilave edilerek üretilen örneklerin Gİ değerlerinden önemli ölçüde yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Bu durum yukarıda verilen bilgilerle uyum içerisindedir.

## 4.1.2. Formülasyonun genişleme indeksi üzerine etkisi

### 4.1.2.1. Şeker tipinin genişleme indeksi üzerine etkisi

Karışımlarda yer alan şeker tipinin Gİ üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla, D-glukoz içeren Formülasyon 1 ve D-riboz içeren Formülasyon 2 kullanılarak 150°C namli sıcaklığı ve farklı besleme nem içeriklerinde (%22, 24, 26) üretilen ekstrüzyon ürünlerinin Gİ verileri Şekil 4.2'de sunulmuştur.



**Şekil 4.2.** Şeker tipinin ekstrüzyon ürünlerinde genişleme indeksi üzerine etkisi

BMU+SPİ+Asn : Beyaz mısır unu, soya protein izolatı (%5), asparajin (500 ppm) karışımı

Formülasyon 1: D-glukoz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu

Formülasyon 2: D-riboz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu

Şekil 4.2'de görüldüğü gibi, tüm besleme nem içeriklerinde formülasyonunda D-riboz içeren ekstrüzyon ürünlerinin Gİ değerleri, D-glukoz içeren örneklerle kıyaslandığında önemli ölçüde yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Diğer taraftan, şeker ilavesinin Gİ üzerine etkilerini takip edebilmek amacıyla formülasyonunda şeker içermeyen (L-Asn, 500 ppm; SPİ, %5 w/w; BMU karışımı) kontrol grubu örneği ile Formülasyon 1 ve Formülasyon 2 kullanılarak aynı koşullarda üretilen örneklerin Gİ değerleri Şekil 4.2'de karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Elde edilen veriler

değerlendirildiğinde şeker ilavesinin Gİ üzerine azaltıcı etkisi olduğu ve bu farkın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ( $p<0.05$ ).

Fan et al. (1996) çalışmalarında, mısır ekstrüzyon ürünlerinde şekerlerin (sakaroz, glukoz, fruktoz, ksiloz, laktoz ve maltoz) genişleme ve sonradan ortaya çıkan daralma (shrinkage) üzerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar, şekerlerin genişlemeyi azalttığını ve genişlemeyi azaltma yönünde monosakaritlerin disakaritlere oranla daha fazla etkili olduğunu bildirilmişlerdir. Şeker içeriği ile son üründe genişlemenin azalması ve yoğunluğun artması; gözenek büyümesindeki azalma ve ürünün namlu çıkışını terk ederken meydana gelen daralmadaki artışın birlikte etkisi ile açıklanabilir (Fan et al., 1996).

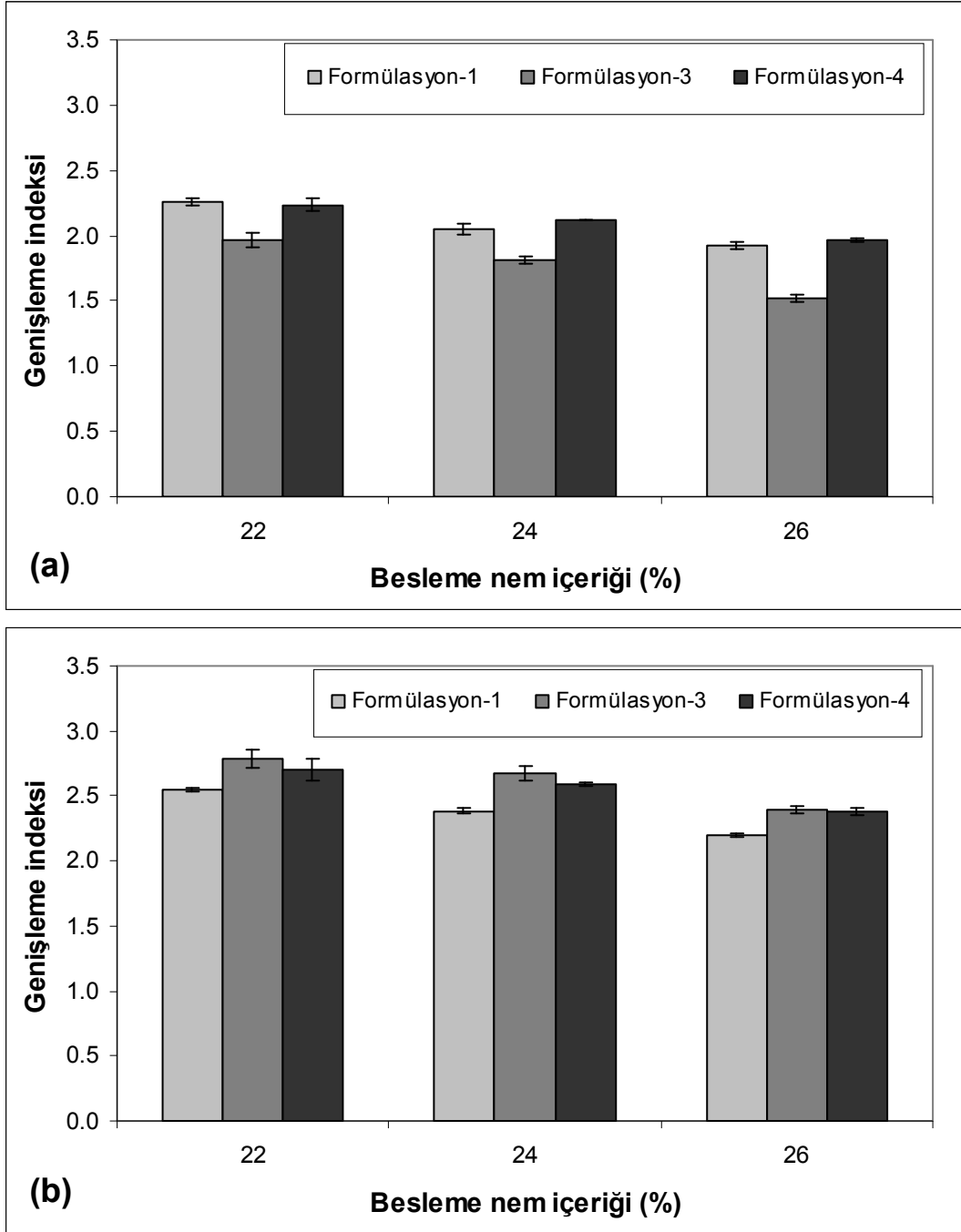
#### **4.1.2.2. Kabartma ajanlarının genişleme indeksi üzerine etkisi**

Kabartma ajanlarının ekstrüzyon ürünlerinin önemli kalite özelliklerinden biri olan Gİ üzerine etkilerini araştırmak amacıyla, D-glukoz içeren Formülasyon 1, Formülasyon 3 ve Formülasyon 4 esas alınarak 150°C namlu sıcaklığı ve farklı besleme nem içeriklerinde (%22, 24, 26) üretilen örneklerin Gİ değerleri belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar Şekil 4.3'de verilmiştir.

Şekil 4.3a değerlendirildiğinde, sodyum bikarbonat içeren Formülasyon 3 ile 150°C namlu sıcaklığında üretilen ekstrüzyon ürünlerinin Gİ değerleri, tüm besleme nem içeriklerinde amonyum bikarbonat içeren Formülasyon 4 kullanılarak üretilen örneklerin Gİ değerlerinden önemli ölçüde düşük bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Bu durum, Bölüm 2.1.2'de verilen sodyum bikarbonat ve amonyum bikarbonatın sulu sistemlerde ısıtılma reaksiyonları (Eşitlik 2.1 ve Eşitlik 2.2) ile açıklanabilir. Diğer taraftan, Formülasyon 3 ile 150°C namlu sıcaklığında farklı besleme nem içeriklerinde üretilen tüm örneklerin Gİ değerleri ile kabartma ajanı içermeyen Formülasyon 1 ile üretilenler karşılaştırıldığında meydana gelen azalma önemli bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

Formülasyon 1 kullanılarak 150°C namlu sıcaklığı ve %22 besleme nem içeriğinde üretilen ekstrüzyon ürünlerinin Gİ değeri ortalama 2.26, Formülasyon 3 ile aynı koşullarda üretilen örneklerde ise bu değer 1.96 olarak tespit edilmiştir. Düşük sıcaklıkta (110°C) aynı formülasyonlar (Formülasyon 1, Formülasyon 3) ve

koşullarda üretilen ekstrüzyon ürünlerinin Gİ değerlerinde ise 150°C namlu sıcaklığında elde edilen sonuçların aksine artış gözlenmiştir (Şekil 4.3b).



**Şekil 4.3.** Kabartma ajanlarının ekstrüzyon ürünlerinde genişleme indeksi üzerine etkisi (a) yüksek namlu sıcaklığı koşullarında, 150°C; (b) düşük namlu sıcaklığı koşullarında, 110°C.

- Formülasyon 1: D-glukoz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu  
Formülasyon 3: Formülasyon 1 + sodyum bikarbonat (%1)  
Formülasyon 4: Formülasyon 1 + amonyum bikarbonat (%1)

Düşük namlu sıcaklığında sodyum bikarbonat içeren örneklerin içermeyenlere kıyasla Gİ değerlerinde meydana gelen artış önemli bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Tez çalışması kapsamında elde edilen bu sonuçlar Singh et al. (2000)'nin araştırma bulguları ile uyum göstermektedir.

Formülasyon 1 ve Formülasyon 4 kullanılarak 150°C namlu sıcaklığında üretilen ekstrüzyon ürünlerinin Gİ düzeyleri arasında dikkate değer bir değişim gözlenmezken (Şekil 4.3a); düşük namlu sıcaklığında (110°C) amonyum bikarbonat içeren örneklerin içermeyenlere oranla Gİ değerlerinde meydana gelen artış (Şekil 4.3b) önemli bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

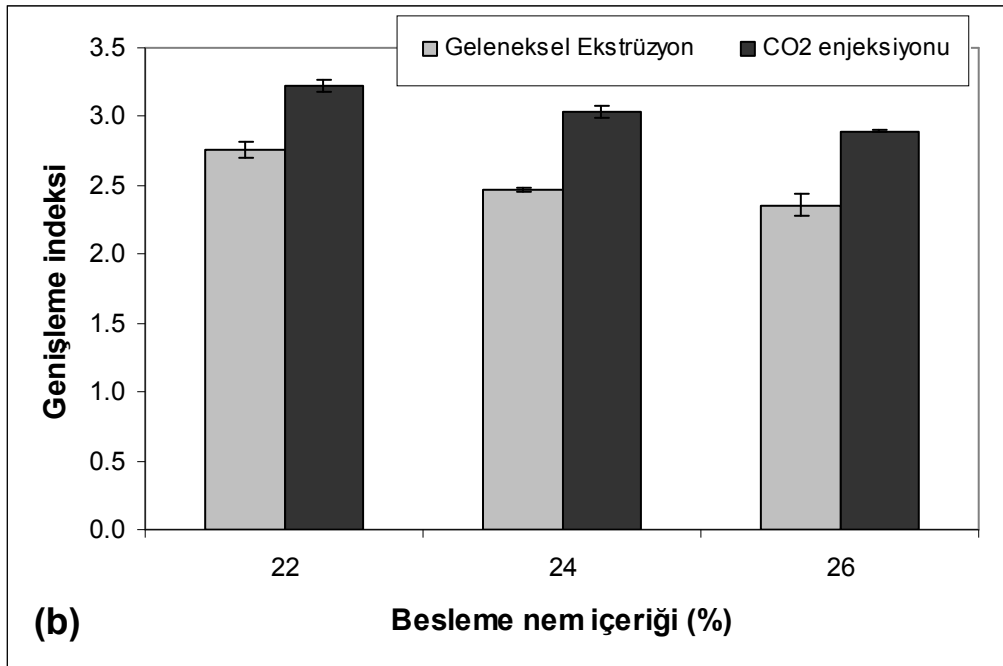
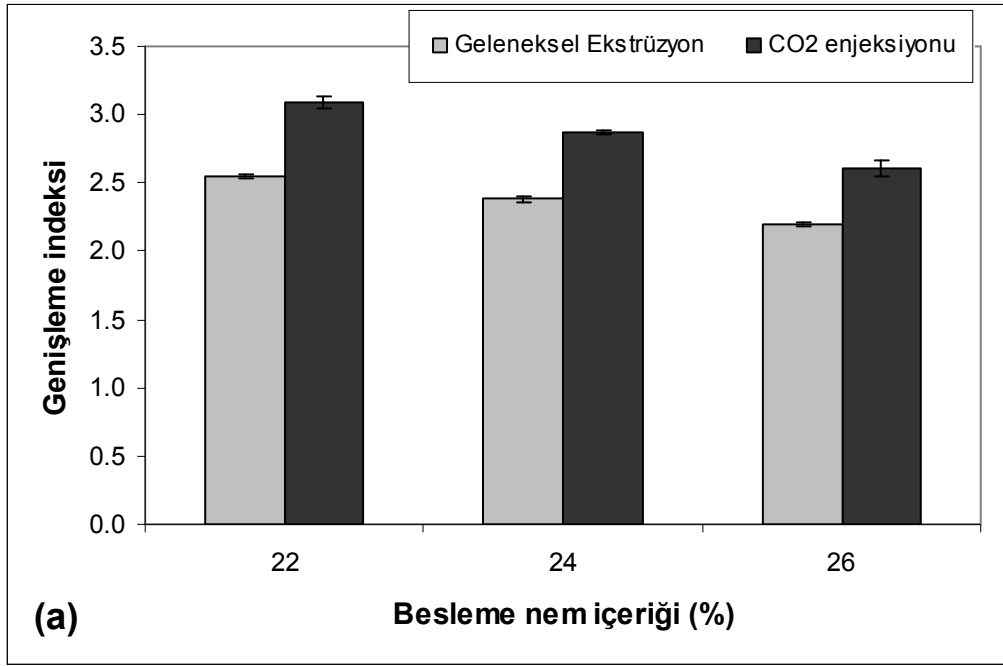
#### **4.1.3. Uygulanan ekstrüzyon yöntemlerinin genişleme indeksi üzerine etkisi**

Ön çalışmalarda karbondioksit enjeksiyonu yöntemi ile ekstrüzyon ürünlerinin üretimi sırasında, 110°C namlu sıcaklığında sisteme 150 psi basınçta CO<sub>2</sub> enjeksiyonu uygulandığında düzenli ürün elde edilirken, 150°C namlu sıcaklığında aynı basınç altında stabil ürün elde edilememiştir. Bu durum özellikle yüksek nem içeriğine sahip örneklerde gözlenmiş ve Materyal ve Metot Bölümünde detaylı olarak açıklanmıştır (Bölüm 3.2.1.2). Dolayısıyla ön denemeler sonucunda 150°C namlu sıcaklığında 75 psi basınçta CO<sub>2</sub> enjeksiyonu uygulanmasına karar verilmiştir.

Geleneksel ekstrüzyon ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemlerinin Gİ üzerine etkilerini incelemek amacıyla, Formülasyon 1 ve Formülasyon 2 kullanılarak 110°C namlu sıcaklığı ve farklı besleme nem içeriklerinde (%22, 24, 26) üretilen ekstrüzyon ürünlerinin Gİ değerleri Şekil 4.4'te sunulmuştur.

Formülasyon 1 kullanılarak CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi ile 110°C namlu sıcaklığı ve farklı besleme nem içeriklerinde (%22, 24, 26) üretilen ekstrüzyon ürünleri ile aynı koşullarda geleneksel ekstrüzyon yöntemi ile üretilen örneklerin Gİ değerleri kıyaslandığında (Şekil 4.4a), CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yönteminin Gİ değerlerini önemli ölçüde artırdığı tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ). Benzer bir eğilim aynı koşullarda Formülasyon 2 ile üretilen ekstrüzyon ürünlerinin Gİ değerlerinde de gözlenmiştir (Şekil 4.4b).





**Şekil 4.4.** Uygulanan ekstrüzyon yöntemlerinin genişleme indeksi üzerine etkisi: (a) Formülasyon 1; (b) Formülasyon 2, kullanılarak 110°C namlu sıcaklığında üretilen ekstrüzyon ürünlerinin Gİ değerleri

Formülasyon 1: D-glukoz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu

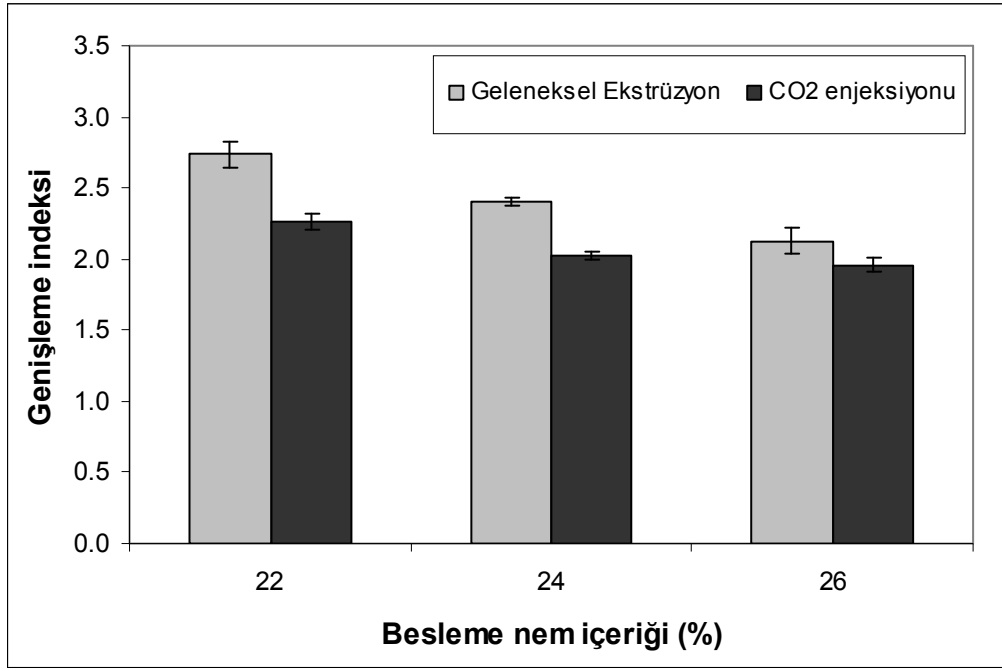
Formülasyon 2: D-riboz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu

Ferdinand et al. (1992), buğday nişastasına farklı oranlarda sakaroz ilave ederek hazırladıkları karışımlardan namlu sıcaklığı 100°C'nin altında kalacak şekilde %34.7 (yaş ağırlık üzerinden) besleme nem içeriği ve farklı CO<sub>2</sub> enjeksiyon basınçları kullanarak ekstrüzyon ürünleri üretmişlerdir. CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemiyle üretilen örneklerin GI değerlerinin kontrol grubuna (CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yapılmayan örnekler) oranla önemli ölçüde arttığı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Ayrıca, sakaroz ilave oranı artırıldıkça GI değerinin azaldığı ve YY değerlerinin arttığı rapor edilmiştir (Ferdinand et al., 1992).

Tez kapsamında düşük namlu sıcaklığı (110°C) uygulanarak CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemiyle üretilen örneklerin GI değerleri literatür ile uyum göstermektedir. Diğer taraftan önceki çalışmalar incelendiğinde, CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi ile ekstrüzyon ürünlerinin üretiminde 100°C civarında (Schmid et al., 2005) veya daha düşük namlu sıcaklığı (Ferdinand et al., 1990; Ferdinand et al., 1992; Bilgi Boyacı et al., 2012) uygulamalarının olduğu görülmektedir. Yüksek namlu sıcaklıklarında CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi ile ekstrüzyon ürünlerinin üretim prosesi konusunda herhangi bir literatür bilgisine rastlanmamıştır.

Yüksek namlu sıcaklığında (150°C) Formülasyon 2 kullanılarak geleneksel ekstrüzyon ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemleri ile farklı besleme nem içeriklerinde (%22, 24, 26) üretilen ekstrüzyon ürünlerinin GI değerleri Şekil 4.5'te verilmiştir.

Şekil 4.5 incelendiğinde, CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi ile üretilen örnekler, geleneksel ekstrüzyon yöntemi kullanılarak üretilenlerle karşılaştırıldığında GI değerlerinde azalma tespit edilmiş ve bu azalma istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0.05). Elde edilen veriler bir arada değerlendirildiğinde, CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yönteminde düşük sıcaklık uygulamalarının ekstrüzyon ürünlerinde genişlemeyi teşvik ettiği, yüksek sıcaklık uygulamalarında ise tersi bir durum gözlemlendiği belirlenmiştir.



**Şekil 4.5.** Yüksek namlu sıcaklığında CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yönteminin genişleme indeksi üzerine etkisi: Formülasyon 2 kullanılarak 150°C namlu sıcaklığında üretilen ekstrüzyon ürünlerinin Gİ değerleri

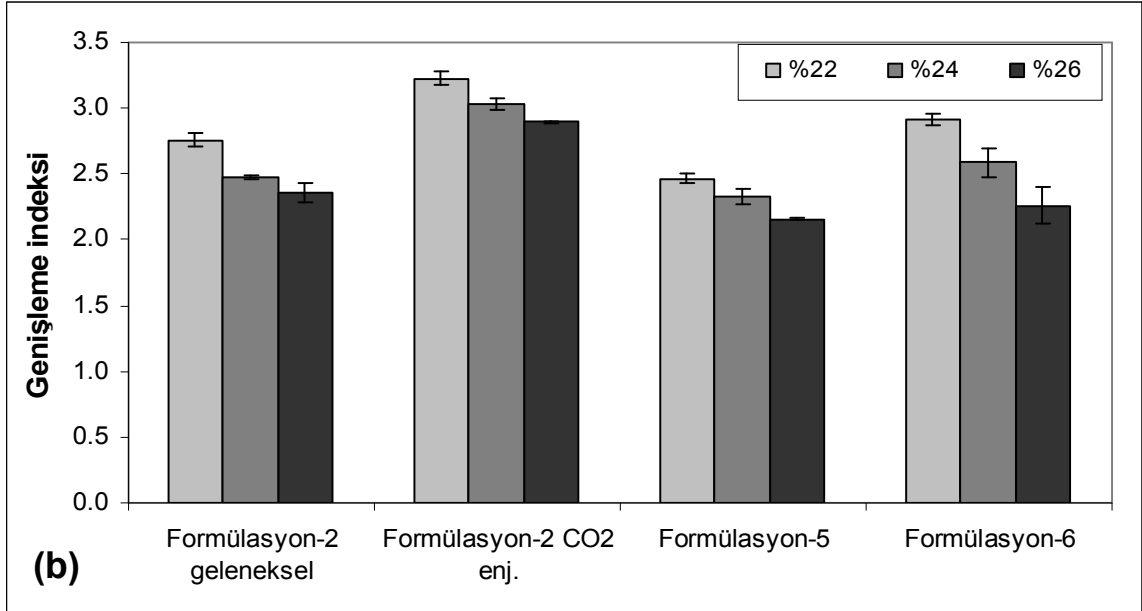
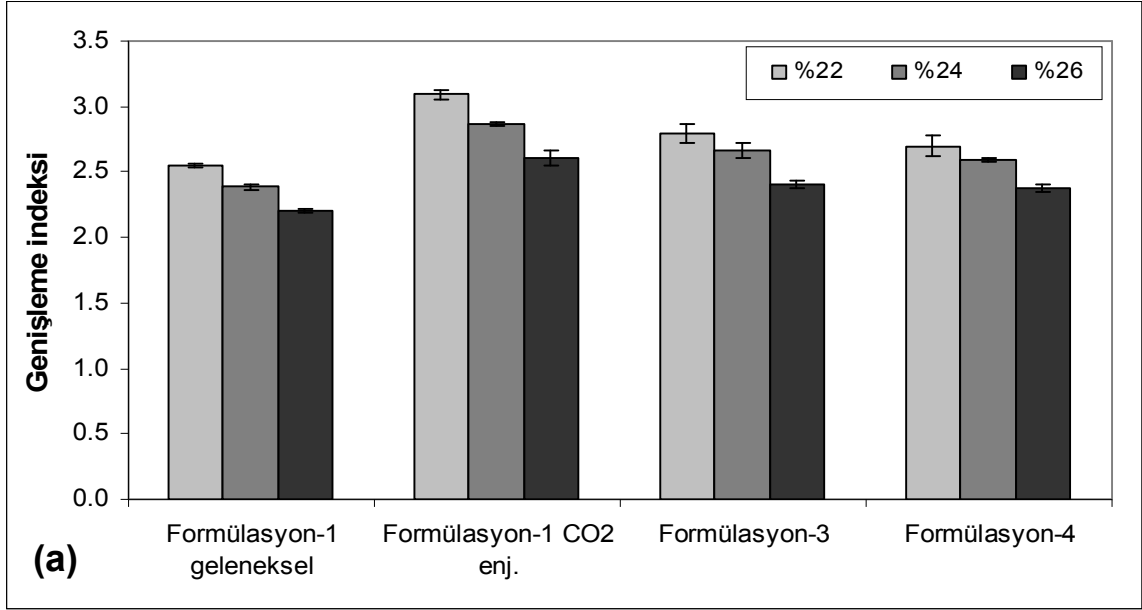
Formülasyon 2: D-riboz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu

#### 4.1.4. Sistem parametrelerinin genişleme indeksi üzerine etkisi

##### 4.1.4.1. Besleme nem içeriğinin genişleme indeksi üzerine etkisi

Genişleme indeksi üzerine besleme nem içeriğinin etkisini araştırmak amacıyla, Formülasyon 1-6 esas alınarak 110°C namlu sıcaklığı ve farklı besleme nem içeriklerinde (%22, 24, 26) üretilen ekstrüzyon ürünlerinin Gİ değerleri Şekil 4.6'da verilmiştir.

Şekil 4.6a incelendiğinde D-glukoz içeren Formülasyon 1 (geleneksel ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemleri ile), Formülasyon 3 ve Formülasyon 4 kullanılarak sabit sıcaklıkta (110°C) üretilen örneklerin Gİ değerleri besleme nem içeriğinin artırılmasına paralel olarak azalmıştır. Besleme nem içeriğinin %22'den %26'ya artırılmasıyla, Gİ değerlerinde meydana gelen bu kademeli azalma eğilimi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Benzer bir eğilim, aynı koşullarda D-riboz içeren ekstrüzyon ürünlerinde de gözlenmiştir (Şekil 4.6b).



**Şekil 4.6.** Besleme nem içeriğinin genişleme indeksi üzerine etkisi; (a) D-glukoz; (b) D-riboz içeren Formülasyon 1-6 ile 110°C namlu sıcaklığı ve farklı besleme nem içeriklerinde (%22, 24, 26) üretilen ekstrüzyon ürünlerinin Gİ değerleri

- Formülasyon 1: D-glukoz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu  
 Formülasyon 2: D-riboz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu  
 Formülasyon 3: Formülasyon 1 + sodyum bikarbonat (%1)  
 Formülasyon 4: Formülasyon 1 + amonyum bikarbonat (%1)  
 Formülasyon 5: Formülasyon 2 + sodyum bikarbonat (%1)  
 Formülasyon 6: Formülasyon 2 + amonyum bikarbonat (%1)

Literatür incelendiğinde bu durumun namlu içerisindeki hamurun viskozitesi ile doğrudan ilişkili olduğu görülmektedir. Hamur viskozitesinin hem sıcaklık hem de nem içeriğinden etkilendiği Lo et al. (1998) tarafından rapor edilmiştir. Sıcaklık sabit tutulduğunda viskozite, nem içeriğinin artışı ile azalmaktadır. Benzer bir yaklaşım olarak, ekstrüzyon pişirme teknolojisinde sisteme beslenen suyun lubrikant gibi davrandığı (Hayashi et al., 1992) ve göreceli olarak düşük miktarda polimer içeren yüksek nem içerikli hamurun namludaki viskozite değerinin daha düşük olduğu (Akdogan, 1996) rapor edilmiştir.

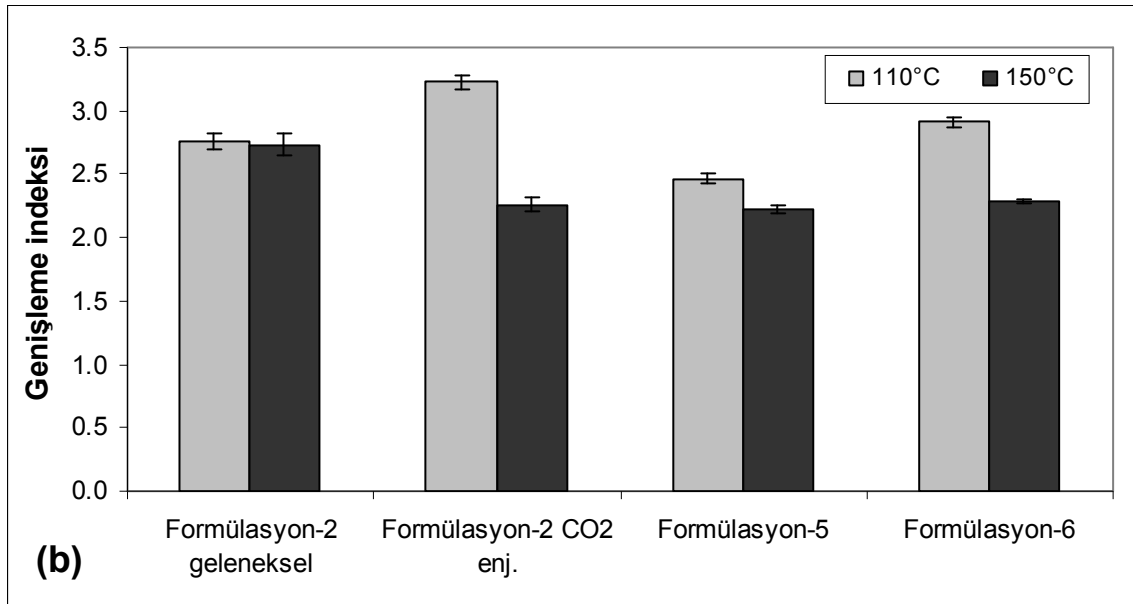
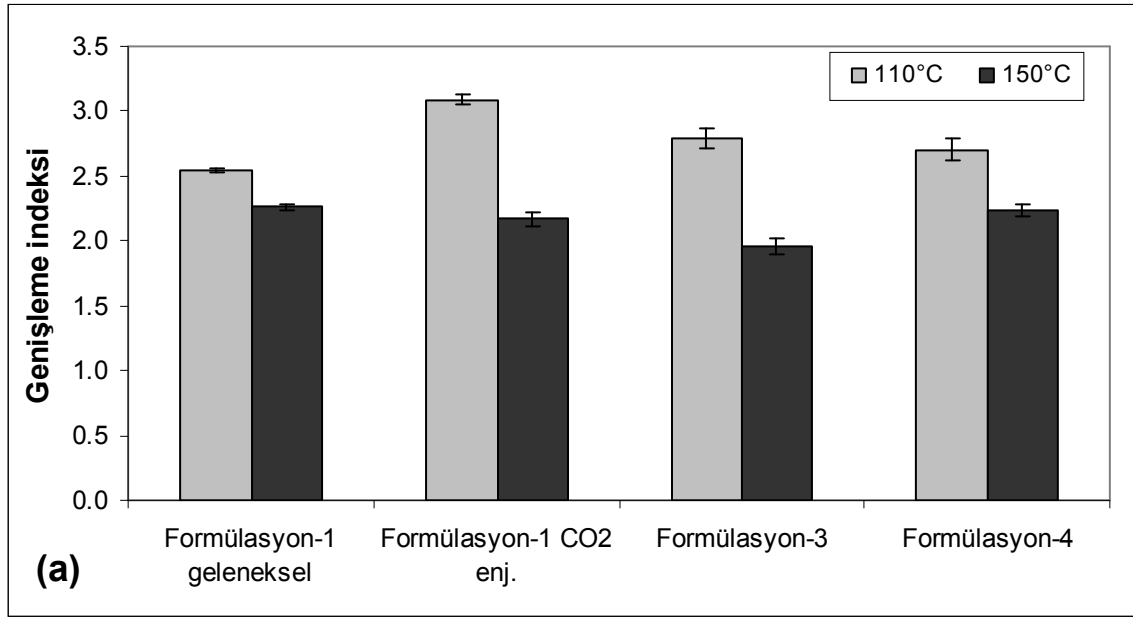
Singh et al. (2007) ekstrüzyon ürünlerinde genişlemenin, namlu ile atmosfer arasındaki basınç farkına bağlı olduğunu ve düşük nem içeriğine sahip ekstrüzyon ürünlerinin viskozitesinin yüksek nem içerikli olanlardan daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bu nedenle basınç farkının, yüksek nemli ekstrüzyon ürünlerinde daha düşük olduğu ve sonuç olarak düşük genişleme oranına sahip son ürün elde edildiği rapor edilmiştir (Singh et al., 2007).

Formülasyon 1 esas alınarak 110°C namlu sıcaklığında ve %22 besleme nem içeriğinde geleneksel ekstrüzyon yöntemiyle üretilen ekstrüzyon ürünlerinin namlu iç basıncı 490 psi olarak ölçülmüştür. Aynı formülasyon ve üretim koşullarında besleme nem içeriğinin %24 ve %26'ya çıkarılmasıyla bu değer sırasıyla, 400 ve 260 psi basıncına düşmüştür. Diğer bir ifadeyle, besleme nem içeriğindeki artışa bağlı olarak namlu iç basıncı düşmüş ve dolayısıyla Gİ değeri azalmıştır (Şekil 4.6a). Farklı formülasyonlar ile üretilen ekstrüzyon ürünlerinde de benzer bir eğilim tespit edilmiştir (namlu basıncı verileri sunulmamıştır). Özetle, bu tez çalışmasında besleme nem içeriğinin Gİ üzerine etkisini gösteren sonuçlar literatürle uyumlu bulunmuştur.

#### **4.1.4.2. Namlu sıcaklığının genişleme indeksi üzerine etkisi**

Formülasyon 1-6 kullanılarak sabit besleme nem içeriğinde (%22), 110 ve 150°C namlu sıcaklığında üretilen ekstrüzyon ürünlerinin Gİ miktarında meydana gelen değişim tespit edilmiş ve elde edilen sonuçlar Şekil 4.7'de sunulmuştur.

Formülasyon 2 kullanılarak geleneksel ekstrüzyon yöntemi ile üretilen örnekler (Şekil 4.7b) hariç diğer tüm ekstrüzyon ürünlerinde namlu sıcaklığının 110°C'den 150°C'ye artırılmasıyla Gİ değerleri önemli ölçüde azalmıştır ( $p < 0.05$ ).



**Şekil 4.7.** Namlu sıcaklığının genişleme indeksi üzerine etkisi; (a) D-glukoz; (b) D-riboz içeren Formülasyon 1-6 kullanılarak 110°C ve 150°C namlu sıcaklığında, sabit besleme nem içeriğinde (%22) üretilen ekstrüzyon ürünlerinin Gİ değerleri

- Formülasyon 1: D-glukoz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu  
 Formülasyon 2: D-riboz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu  
 Formülasyon 3: Formülasyon 1 + sodyum bikarbonat (%1)  
 Formülasyon 4: Formülasyon 1 + amonyum bikarbonat (%1)  
 Formülasyon 5: Formülasyon 2 + sodyum bikarbonat (%1)  
 Formülasyon 6: Formülasyon 2 + amonyum bikarbonat (%1)

Chen et al. (2010) araştırmalarında ekstrüzyon pişirme sıcaklığının 140°C'den 150°C'ye çıkarılması ile özellikle düşük besleme nem içeriğinde, SME ve namlu içerisindeki viskozite değerlerinde önemli oranda azalma olduğunu bildirmişlerdir. Pişirme sıcaklığının daha fazla artırılması ile değişimin daha düşük olduğu rapor edilmiştir (Chen et al., 2010). Aynı araştırmacılar, düşük sıcaklıkta namlu içindeki viskozitenin de arttığını bunun da düşük sıcaklıkta namlu içerisindeki materyalin akışını sınırlamasından kaynaklandığını bildirmişlerdir. Bu tez çalışması kapsamında elde edilen veriler literatür ile uyum göstermektedir.

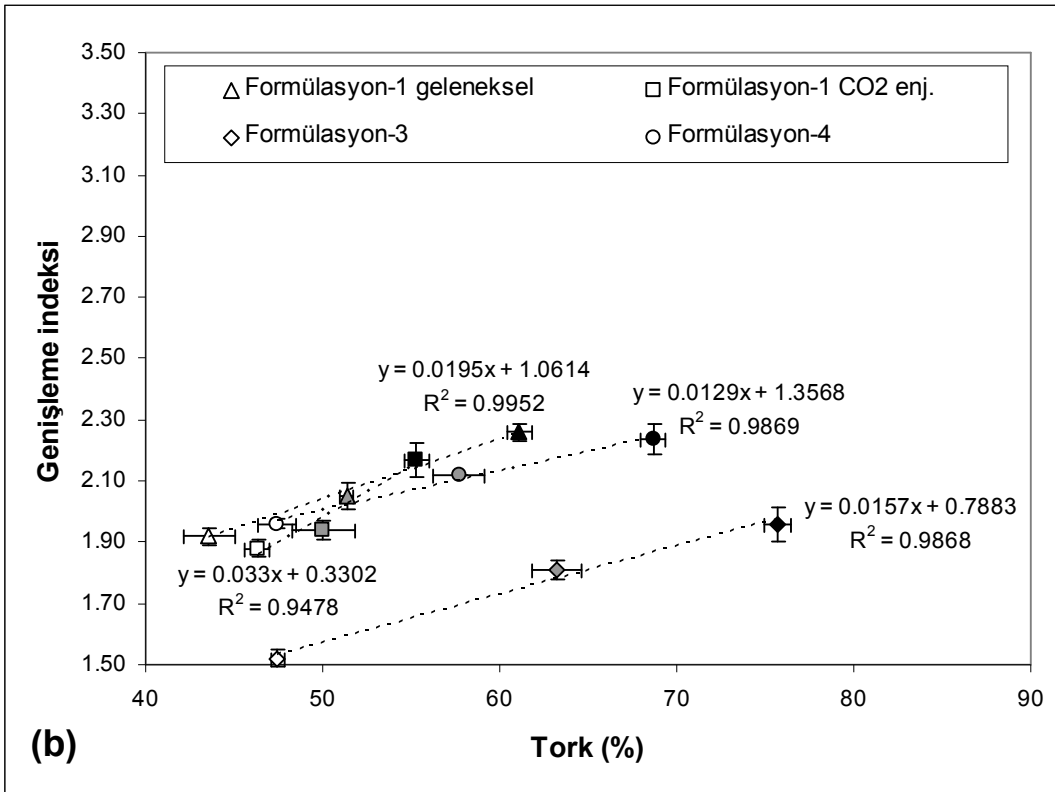
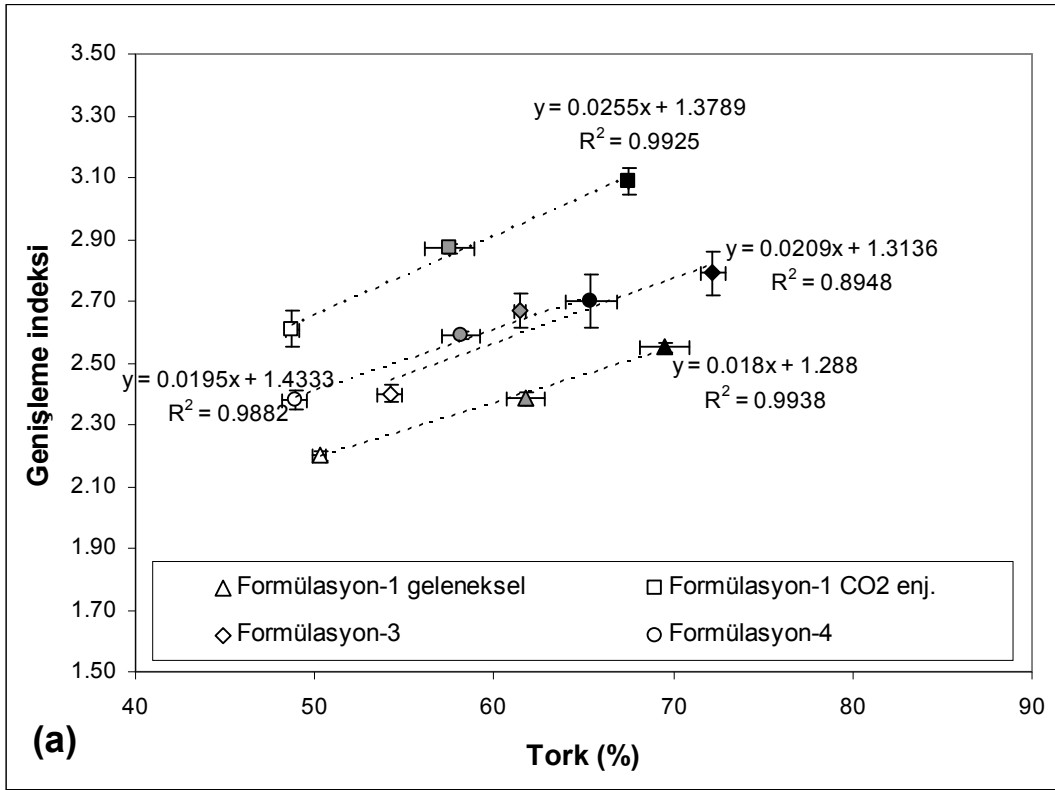
#### **4.1.5. Motor torkunun genişleme indeksi üzerine etkisi**

Sistem parametrelerinden motor torkunun GI zerine etkilerini incelemek amacıyla, Formülasyon 1-6 kullanılarak 110 ve 150°C namlu sıcaklıklarında, farklı besleme nem içeriklerinde (%22, 24, 26) retilen ekstrüzyon rnlerinin GI ile motor tork değerleri karşılaştırmalı olarak Şekil 4.8 ve Şekil 4.9'da sunulmuştur.

Şekil 4.8a incelendiğinde D-glukoz içeren Formülasyon 1 (geleneksel ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemleri ile), Formülasyon 3 ve Formülasyon 4 ile 110°C'de üretilen örneklerde besleme nem içeriğinin artırılmasıyla motor torkunun önemli düzeyde azaldığı tespit edilmiştir (p<0.05). Aynı formülasyonlar kullanılarak 150°C'de elde edilen ekstrüzyon ürünlerinin motor tork değerlerinde de benzer bir azalma eğilimi gözlenmiştir (Şekil 4.8b).

Şekil 4.8a ve 4.8b birlikte değerlendirildiğinde, namlu sıcaklığının 110°C'den 150°C'ye çıkarılmasıyla, aynı besleme nem içeriğine sahip örneklerin tork değerleri genellikle azalmaktadır. Tork değerinde meydana gelen bu azalma Formülasyon 1 kullanılarak geleneksel ekstrüzyon ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemleri ile üretilen örneklerde önemli bulunmuştur (p<0.05).

D-riboz içeren Formülasyon 2 (geleneksel ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemleri ile), Formülasyon 5 ve Formülasyon 6 ile üretilen ekstrüzyon ürünlerinin tork değerleri her iki namlu sıcaklığında (110°C ve 150°C) da, D-glukoz içeren örneklerle benzer Şekilde, besleme nem içeriği artırıldııka azalmaktadır (Şekil 4.9). Besleme nem içeriğinin artırılmasıyla tork değerlerinde meydana gelen azalma istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0.05).



**Şekil 4.8.** Motor torkunun genişleme indeksi üzerine etkisi; D-glukoz içeren Formülasyon 1, 3 ve 4 kullanılarak (a) 110°C, (b) 150°C namlu sıcaklığında farklı besleme nem içeriklerinde üretilen ekstrüzyon ürünlerinin motor tork değerlerine karşı genişleme indeksi değerlerindeki değişim.

Şekil üzerinde beyaz, gri ve siyah renkle işaretlenmiş noktalar sırasıyla; %26, %24 ve %22 besleme nem içeriklerini ifade etmektedir.



Diğer taraftan, namlu sıcaklığındaki artışa paralel olarak aynı besleme nem içeriğine sahip ekstrüzyon ürünlerinin tork değerlerinde gözlenen azalma eğilimi, D-riboz içeren tüm örneklerde önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

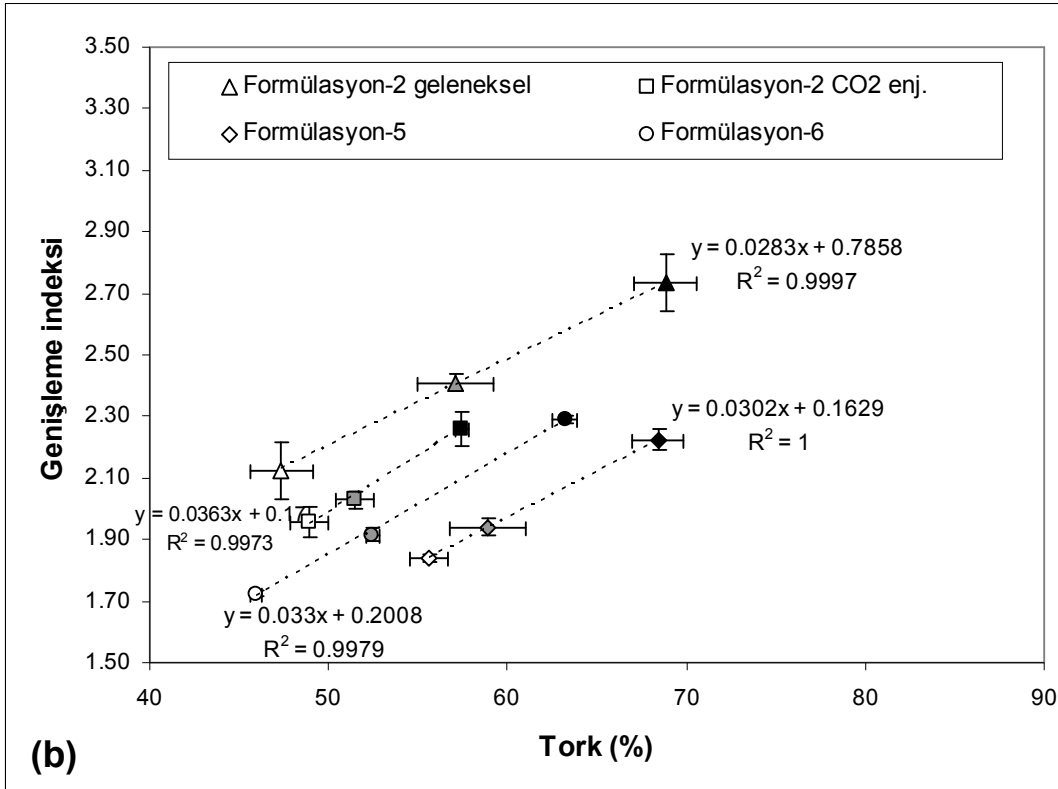
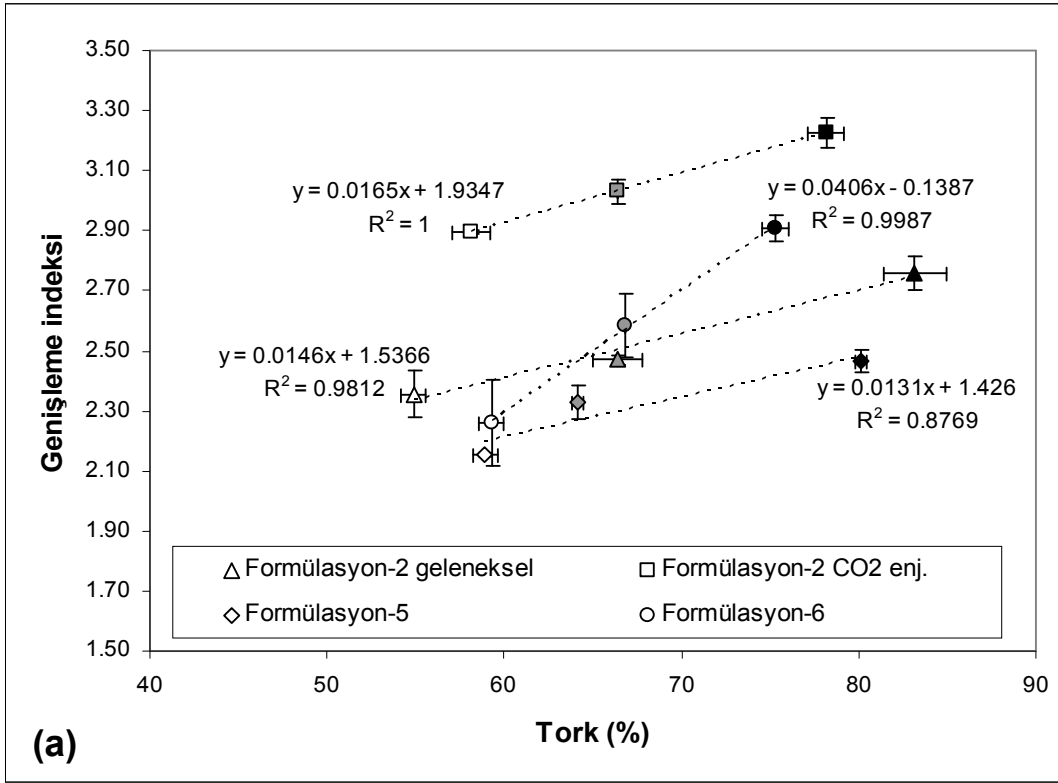
Elde edilen sonuçlar, motor tork değerlerinin besleme nem içeriğindeki ve namludaki erimiş madde karışımının sıcaklığındaki azalmaya bağlı olarak arttığını göstermektedir. Tüm bu veriler GI değerlerindeki değişimle uyum göstermektedir. Farklı formülasyonlar ve farklı üretim koşullarında üretilen tüm ekstrüzyon ürünlerinde GI değerleri motor torkunda meydana gelen artışla artmıştır (Şekil 4.8 ve Şekil 4.9). Diğer bir ifadeyle, GI değerleri ile motor torku değerleri arasında pozitif bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir. Buna göre tüm koşullarda ortalama motor torku değerindeki artış, ortalama genişleme indeksi değeri üzerinde pozitif doğrusal bir etkiye sahiptir.

Tork, vida ve çıkış kalıbı tarafından uygulanan kesme geriliminden (shear) dolayı materyal tarafından absorbe edilen enerjinin miktarı hakkında bilgi vermektedir (Fichtali and van de Voort, 1989). Pansawat et al. (2008) çalışmalarında namlu sıcaklığı, vida hızı ve besleme neminin motor torku üzerine negatif etkileri olduğunu bildirmişler ve namlu sıcaklığı, besleme nemi ve özellikle vida hızının artmasıyla motor torkunun azaldığını rapor etmişlerdir.

Namlu sıcaklığındaki artışa bağlı olarak motor torkunda ve SME değerlerindeki azalma namludaki erimiş madde karışımının viskozitesindeki değişimden kaynaklanmaktadır. Namlu sıcaklığı ve vida hızındaki artışın hem namludaki erimiş madde karışımının viskozitesinde azalmaya hem de böylece, tork ve SME değerlerinde azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (Akdogan, 1996).

Meng et al. (2010) araştırmalarında, vida hızı ve namlu sıcaklığını sabit tutarak (sırasıyla; 250 rpm ve 150°C), besleme nem içeriğini artırmışlar (%16'dan %18'e) ve üretim sırasında namlu basıncı, motor torku ve SME değerlerinin düştüğünü bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar, elde edilen ekstrüzyon ürünlerinde genişleme oranı değerlerinin azaldığını, diğer yandan YY ve sertlik değerlerinin arttığını rapor etmişlerdir.

Tez çalışması kapsamında üretilen örneklerin GI değerleri ile motor tork değerleri arasında tespit edilen pozitif doğrusal ilişki literatür ile uyum göstermektedir.



**Şekil 4.9.** Motor torkunun genişleme indeksi üzerine etkisi; D-riboz içeren Formülasyon 2, 5 ve 6 kullanılarak (a) 110°C, (b) 150°C namli sıcaklığında farklı besleme nem içeriklerinde üretilen ekstrüzyon ürünlerinin motor tork değerlerine karşı genişleme indeksi değerlerindeki değişim.

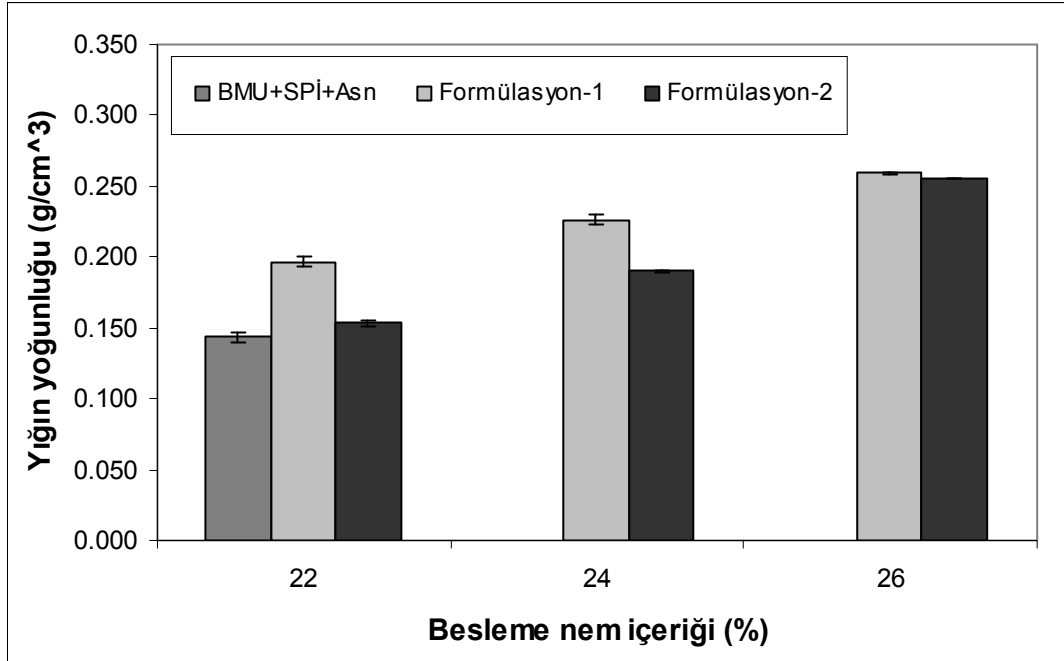
Şekil üzerinde beyaz, gri ve siyah renkle işaretlenmiş noktalar sırasıyla; %26, %24 ve %22 besleme nem içeriklerini ifade etmektedir.

## 4.2. Yiğın yoğunluğu

### 4.2.1. Formülasyonun yiğın yoğunluğu üzerine etkisi

#### 4.2.1.1. Şeker tipinin yiğın yoğunluğu üzerine etkisi

Şeker tipinin yiğın yoğunluğu (YY) üzerine etkisini incelemek amacıyla, D-glukoz içeren Formülasyon 1 ve D-riboz içeren Formülasyon 2 kullanılarak 150°C namlu sıcaklığı ve farklı besleme nem içeriklerinde (%22, 24, 26) üretilen ekstrüzyon ürünlerinin YY değerleri belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar Şekil 4.10'da sunulmuştur.



**Şekil 4.10.** Şeker tipinin yiğın yoğunluğu üzerine etkisi

BMU+SPI+Asn : Beyaz mısır unu, soya protein izolatu (%5), asparajin (500 ppm) karışımı

Formülasyon 1: D-glukoz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatu (%5), beyaz mısır unu

Formülasyon 2: D-riboz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatu (%5), beyaz mısır unu

Şekil 4.10 incelendiğinde şeker tipinin YY değerleri üzerine dikkate değer bir etkisinin olduğu görülmektedir. Formülasyon 1 kullanılarak 150°C namlu sıcaklığı ve %22 besleme nem içeriğinde üretilen ekstrüzyon ürünlerinin YY değerleri ortalama 0.197 (g/cm<sup>3</sup>); aynı koşullarda Formülasyon 2 ile üretilen örneklerde ise bu değer 0.153 (g/cm<sup>3</sup>) olarak tespit edilmiştir. D-glukoz içeren Formülasyon 1

kullanılarak üretilen örneklerin YY değerleri, D-riboz içeren Formülasyon 2 ile üretilenlerle kıyaslandığında önemli ölçüde yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Diğer taraftan, şeker ilavesinin YY üzerine etkilerini incelemek amacıyla formülasyonunda şeker içermeyen (L-Asn, 500 ppm; SPI, %5 w/w; BMU karışımı) kontrol grubu örneği ile Formülasyon 1 ve Formülasyon 2 kullanılarak 150°C namli sıcaklığı, %22 besleme nem içeriğinde üretilen örneklerin YY değerleri Şekil 4.10'da sunulmuştur. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde şeker ilavesinin YY değerlerini önemli ölçüde artırdığı tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ).

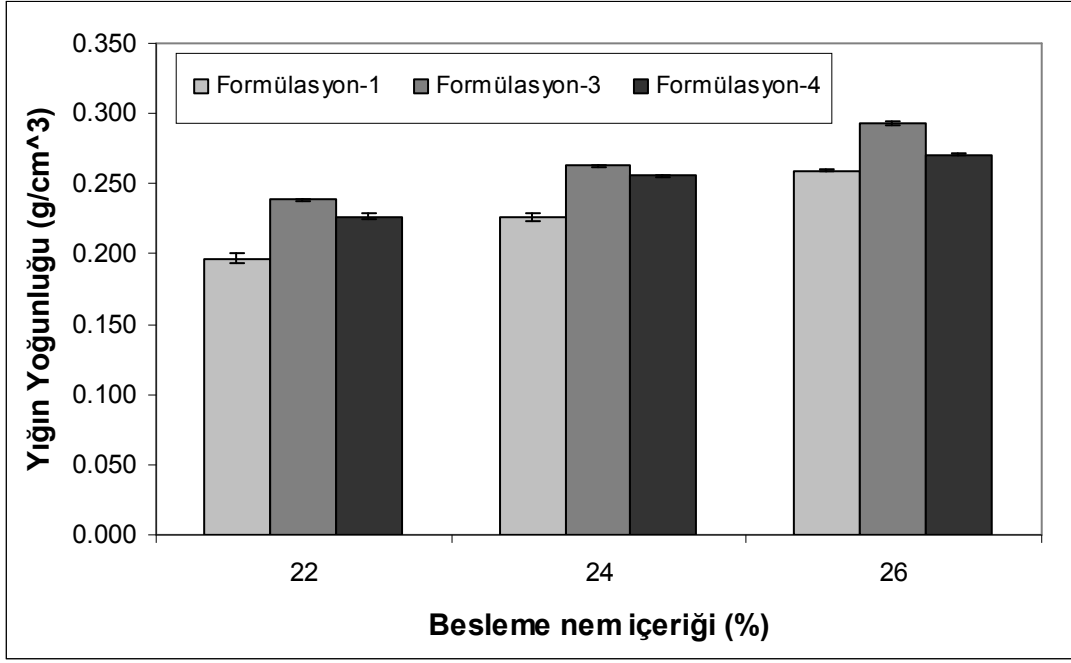
Fan et al. (1996) mısır irmiğinden ürettikleri ekstrüzyon ürünlerinde hem şeker hem de nem içeriğinin kesitsel genişlemeyi azalttığını ve böylece YY değerlerinin arttığını rapor etmişlerdir. Bu çalışma sonucu elde edilen veriler Fan et al. (1996)'nın araştırma bulguları ile uyum göstermektedir. Öte taraftan literatür incelendiğinde ekstrüzyon ürünlerinin genişleme oranı ve YY değerleri arasında ters bir ilişki olduğu birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Singh et al., 1996; Singh et al., 2007; Chaiyakul et al., 2009; Meng et al., 2010).

Tez kapsamında YY değerlerinde tespit edilen bu sonuçlar, literatüre uygun olarak Bölüm 4.1.2.1'de verilen Gİ değerleri ile ters ilişkili bulunmuştur.

#### **4.2.1.2. Kabartma ajanlarının yığın yoğunluğu üzerine etkisi**

Yığın yoğunluğu üzerine kabartma ajanlarının etkilerini araştırmak amacıyla, D-glukoz içeren Formülasyon 1, Formülasyon 3 ve Formülasyon 4 esas alınarak 150°C namli sıcaklığı ve farklı besleme nem içeriklerinde (%22, 24, 26) üretilen örneklerin YY değerleri Şekil 4.11'de verilmiştir.

Grafik incelendiğinde en yüksek YY değerleri sodyum bikarbonat içeren Formülasyon 3 ile üretilen örneklerde tespit edilmiştir. Aynı namli sıcaklığı ve besleme nem içeriğinde Formülasyon 3 kullanılarak üretilen ekstrüzyon ürünlerinin YY değerleri ile diğer formülasyonlar kullanılarak üretilen örneklerin YY değerleri kıyaslandığında belirlenen fark önemli bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Beklenildiği gibi elde edilen sonuçların Bölüm 4.1.2.2'de verilen Gİ değerleri ile ters ilişkili olduğu tespit edilmiştir.



**Şekil 4.11.** Kabartma ajanlarının yığın yoğunluğu üzerine etkisi

Formülasyon 1: D-glukoz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu

Formülasyon 3: Formülasyon 1 + sodyum bikarbonat (%1)

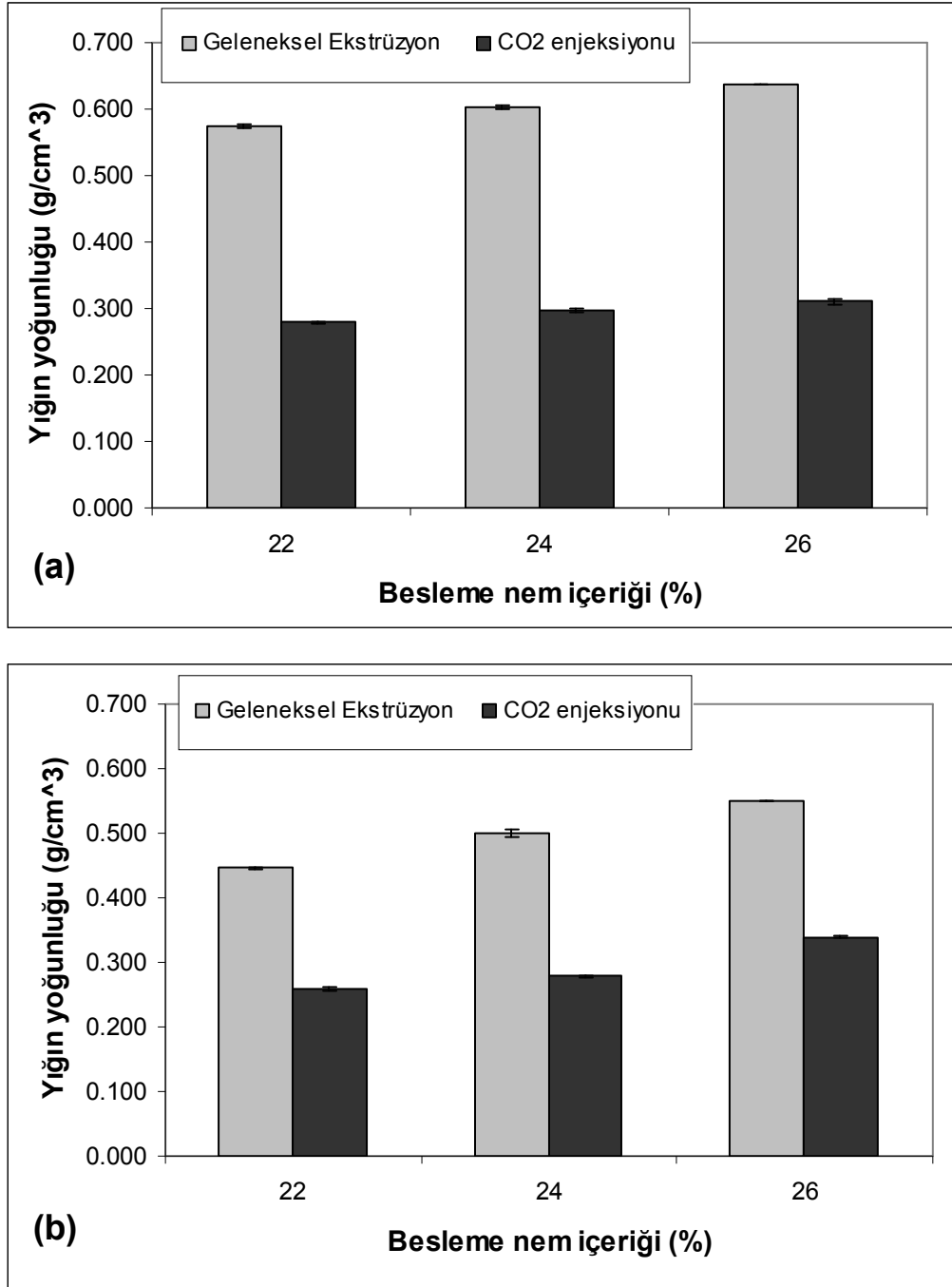
Formülasyon 4: Formülasyon 1 + amonyum bikarbonat (%1)

Singh et al. (2000) araştırmalarında namlu sıcaklığının artırılmasına paralel olarak ekstrüzyon ürünlerinin genişlemesi üzerine sodyum bikarbonatın etkisinin azaldığını bildirmişlerdir. Bu tez çalışması kapsamında 150°C namlu sıcaklığında sodyum bikarbonat içeren Formülasyon 3 kullanılarak üretilen ekstrüzyon ürünlerinin Gİ değerleri kontrol grubu (kabartma ajanı içermeyen, Formülasyon 1) ile kıyaslandığında azalırken aynı koşullarda YY değerlerinin arttığı tespit edilmiştir. YY değerlerinde meydana gelen bu artış Singh et al. (2000)'nın yaklaşımları ile uyum göstermektedir.

Ayrıca, amonyum bikarbonat içeren Formülasyon 4 kullanılarak 150°C namlu sıcaklığı ve farklı besleme nem içeriklerinde (%22, 24, 26) üretilen tüm örneklerin YY değerleri, Formülasyon 1 ile üretilenlerden yüksek, Formülasyon 3 ile üretilen örneklerden ise düşük bulunmuştur. Elde edilen bu sonuçların Kaur and Singh (2004) ve Singh et al. (2000)'nin araştırma bulguları ile uyum içerisinde olduğu tespit edilmiştir.

#### 4.2.2. Uygulanan ekstrüzyon yöntemlerinin yağın yoğunluğu üzerine etkisi

Formülasyon 1 ve Formülasyon 2 kullanılarak 110°C namlu sıcaklığı ve farklı besleme nem içeriklerinde (%22, 24, 26) geleneksel ekstrüzyon ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemleri ile üretilen örneklerin YY değerleri tespit edilmiş ve elde edilen veriler Şekil 4.12'de sunulmuştur.



**Şekil 4.12.** Uygulanan ekstrüzyon yöntemlerinin yağın yoğunluğu üzerine etkisi: (a) Formülasyon 1; (b) Formülasyon 2, kullanılarak 110°C namlu sıcaklığında üretilen ekstrüzyon ürünlerinin YY değerleri

Şekil 4.12a incelendiğinde Formülasyon 1 kullanılarak CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi ile 110°C'de üretilen ekstrüzyon ürünlerinin YY değerleri geleneksel ekstrüzyon yöntemi ile aynı koşullarda üretilen örneklerle karşılaştırıldığında, meydana gelen azalma önemli bulunmuştur (p<0.05).

Aynı sistem koşullarında Formülasyon 2 ile üretilen ekstrüzyon ürünlerinin YY değerlerinde de benzer bir eğilim gözlenmiştir (Şekil 4.12b). Elde edilen sonuçlar, Ferdinand et al. (1992)'ın buğday nişastası-sakaroz karışımından CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi ile üretmiş oldukları ekstrüzyon ürünlerinin YY değerlerindeki azalmayla uyumlu bulunmuştur.

### **4.2.3. Sistem parametrelerinin yığın yoğunluğu üzerine etkisi**

#### **4.2.3.1. Besleme nem içeriğinin yığın yoğunluğu üzerine etkisi**

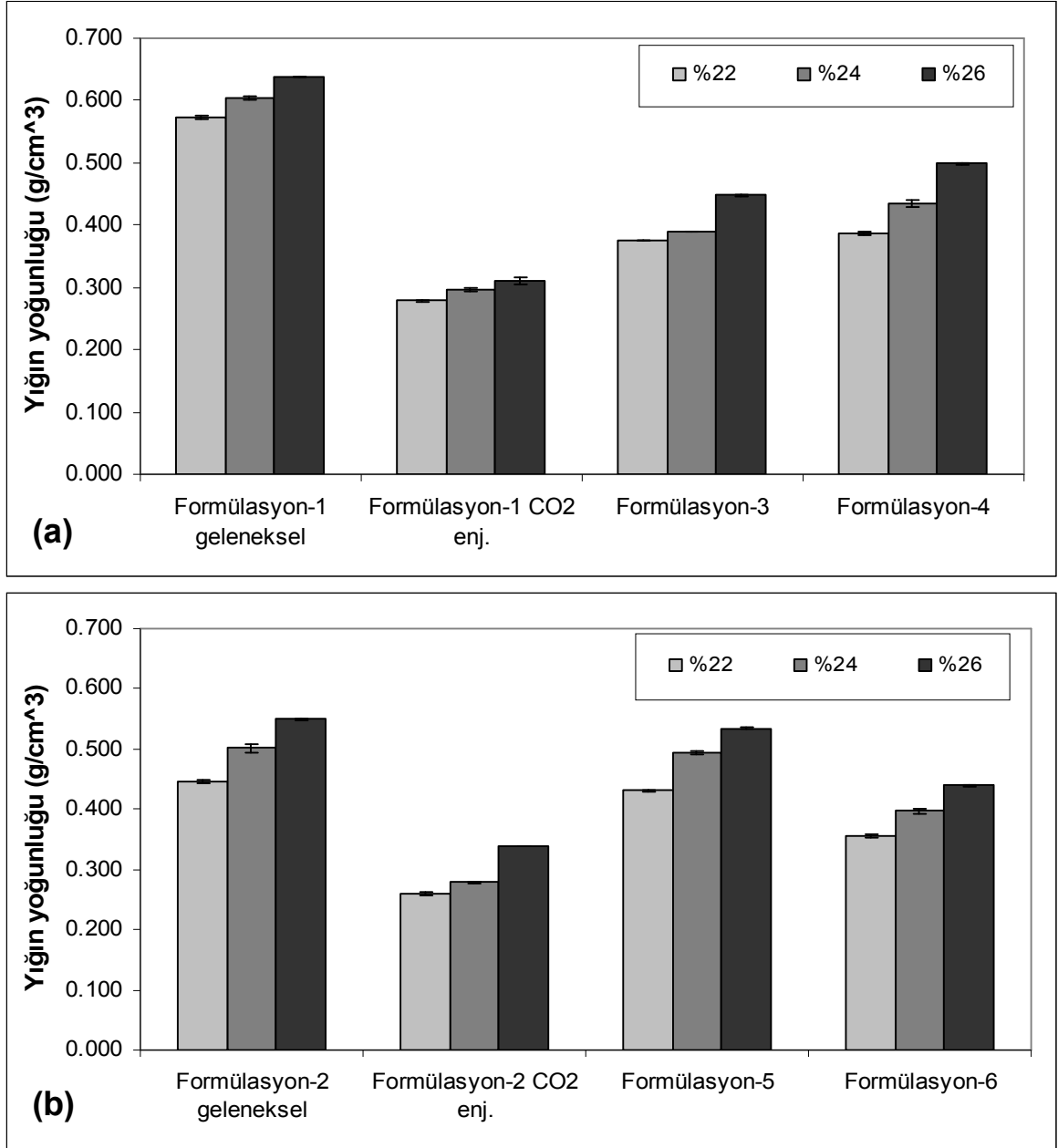
Besleme nem içeriğinin YY üzerine etkisini incelemek amacıyla, Formülasyon 1-6 esas alınarak 110°C namlu sıcaklığı ve farklı besleme nem içeriklerinde (%22, 24, 26) üretilen ekstrüzyon ürünlerinin YY değerleri Şekil 4.13'te verilmiştir.

D-glukoz içeren Formülasyon 1 (geleneksel ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemleri ile), Formülasyon 3 ve Formülasyon 4 kullanılarak 110°C'de üretilen ekstrüzyon ürünlerinin YY değerleri besleme nem içeriğinin artırılmasıyla artış göstermiştir (Şekil 4.13a). Benzer bir eğilim, aynı koşullarda D-riboz içeren ekstrüzyon ürünlerinde de gözlenmiştir (Şekil 4.13b). Besleme nem içeriğinin artırılmasına paralel olarak YY değerlerinde meydana gelen kademeli artış eğilimi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0.05).

Meng et al. (2010) araştırmalarında YY değerlerinin besleme nem içeriğinin artırılmasıyla artarken, namlu sıcaklığı ve vida hızının artırılmasıyla azaldığını bildirmişlerdir. Benzer bir eğilim olarak hem namlu sıcaklığının hem de besleme nem içeriğinin ekstrüzyon ürünlerinin YY değerlerini önemli ölçüde etkilediği Singh et al. (2007) tarafından rapor edilmiştir.

Ferdinand et al. (1990) CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi ile ürettikleri ekstrüzyon ürünlerinde YY değerlerinin besleme nem içeriğinin düşürülmesi ile azaldığını bildirmişlerdir. Schmid et al. (2005) da çalışmalarında besleme nem içeriğinin

%25'ten %22'ye düşürülmesiyle, CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi ile üretilen ekstrüzyon ürünlerinde YY değerlerinin azaldığını rapor etmişlerdir.



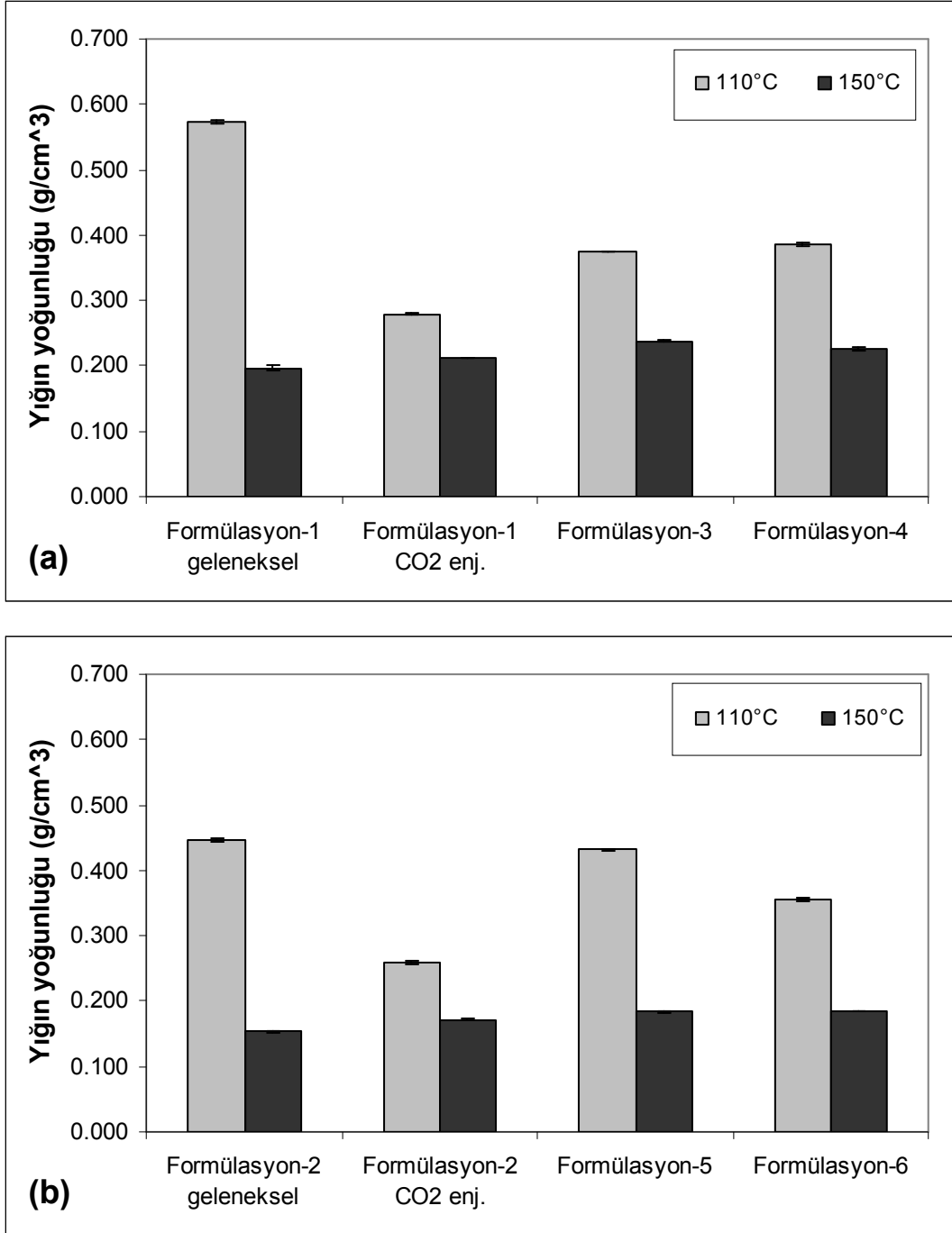
**Şekil 4.13.** Besleme nem içeriğinin yığın yoğunluğu üzerine etkisi; (a) D-glukoz; (b) D-riboz içeren Formülasyon 1-6 ile 110°C namli sıcaklığı ve farklı besleme nem içeriklerinde (%22, 24, 26) üretilen ekstrüzyon ürünlerinin YY değerleri

- Formülasyon 1: D-glukoz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu  
 Formülasyon 2: D-riboz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu  
 Formülasyon 3: Formülasyon 1 + sodyum bikarbonat (%1)  
 Formülasyon 4: Formülasyon 1 + amonyum bikarbonat (%1)  
 Formülasyon 5: Formülasyon 2 + sodyum bikarbonat (%1)  
 Formülasyon 6: Formülasyon 2 + amonyum bikarbonat (%1)



#### 4.2.3.2. Namlu sıcaklığının yığın yoğunluğu üzerine etkisi

Formülasyon 1-6 kullanılarak sabit besleme nem içeriğinde (%22), 110 ve 150°C namlu sıcaklığında üretilen ekstrüzyon ürünlerinin YY değerlerinde meydana gelen değişim tespit edilmiş ve elde edilen sonuçlar Şekil 4.14'te sunulmuştur.



**Şekil 4.14.** Namlu sıcaklığının yığın yoğunluğu üzerine etkisi: (a) D-glukoz; (b) D-riboz içeren Formülasyon 1-6 kullanılarak 110°C ve 150°C namlu sıcaklığında, sabit besleme nem içeriğinde (%22) üretilen ekstrüzyon ürünlerinin YY değerleri

Hem D-glukoz (Şekil 4.14a) hem de D-riboz (Şekil 4.14b) içeren formülasyonlar kullanılarak üretilen ekstrüzyon ürünlerinde namlu sıcaklığının 110°C'den 150°C'ye çıkarılmasıyla YY değerleri önemli ölçüde azalmıştır ( $p < 0.05$ ).

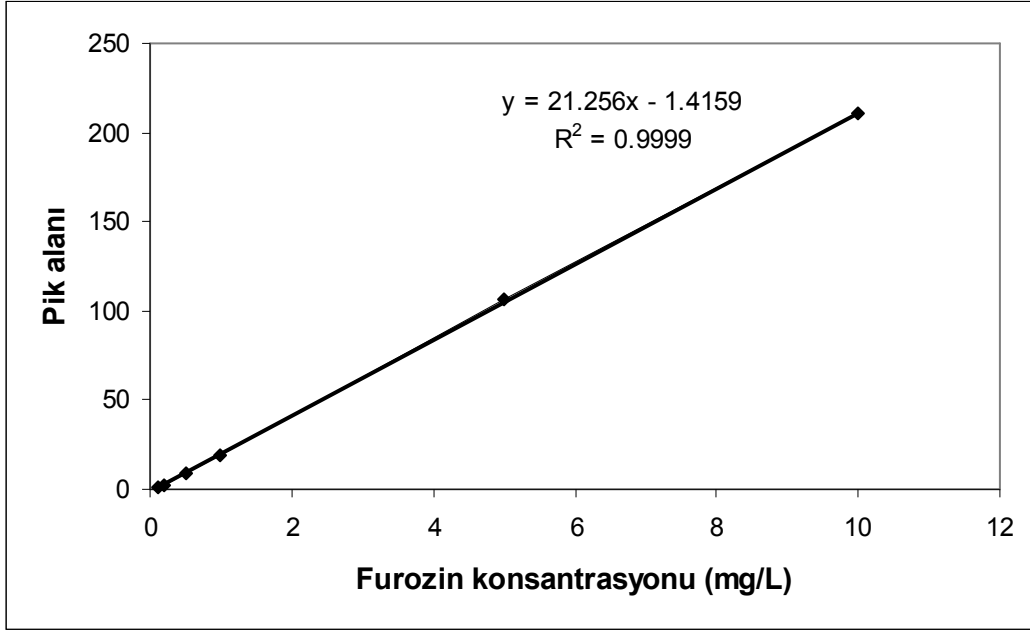
Formülasyon 1 kullanılarak 150°C namlu sıcaklığı ve %22 besleme nem içeriğinde üretilen ekstrüzyon ürünlerinin YY değeri ortalama 0.197 g/cm<sup>3</sup> olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.14a). Aynı formülasyon ile 110°C namlu sıcaklığı ve %26 besleme nem içeriğinde üretilen örneklerde ise bu değer 0.638 g/cm<sup>3</sup> olarak bulunmuştur (Şekil 4.13a). Tüm veriler bir arada değerlendirildiğinde en düşük YY değeri yüksek namlu sıcaklığında ve düşük besleme nem içeriğinde üretilen örneklerde belirlenirken; en yüksek değer ise düşük namlu sıcaklığı ve yüksek besleme nem içeriğinde elde edilmiştir. Formülasyon 2 kullanılarak üretilen örneklerde de benzer bir eğilim görülmektedir (Şekil 4.14b ve Şekil 4.13b). Bu sonuçlar Hagenimana et al. (2006) tarafından rapor edilen verilerle uyum içindedir.

### **4.3. Furozin**

#### **4.3.1. Furozin analizinin validasyon sonuçları**

Furozin kalibrasyon eğrisinin hazırlanmasında 0.1 mg/L – 10 mg/L aralığında altı farklı konsantrasyonda çalışma standart çözeltisi kullanılmıştır. Uygulanan metodun furozin konsantrasyonu ile orantılı olarak sonuç verebilme yeteneğini test etmek amacıyla, kalibrasyon eğrisinin denklemleri ve regresyon katsayısı tespit edilmiştir (Şekil 4.15).

Furozin için hazırlanan kalibrasyon grafiğinin 0.1 mg/L – 10 mg/L konsantrasyon aralığında regresyon katsayısı ( $R^2$ ) değeri 0.9999 olarak bulunmuştur. Bu değer, oluşturulan grafiğin çalışılan konsantrasyon aralığında doğrusal olduğunu göstermektedir. Furozin tayininde kullanılan yöntem ve cihaz ile furozin varlığı en düşük 0.14 mg/kg konsantrasyonunda (LOD) tespit edilebilirken, en az 0.47 mg/kg'lık furozin düzeyi için miktar tayini (LOQ) yapılabilmektedir. Furozin analizinde geri kazanım değeri ise %99.7 ± 2.26 olarak hesaplanmıştır.



**Şekil 4.15.** Furozin kalibrasyon grafiği

#### 4.3.2. Kontrol grubu ekstrüzyon ürünlerinde furozin oluşumu

Bu tez çalışması kapsamında üretilen ekstrüzyon ürünlerinde Maillard reaksiyonuna giren lizin miktarı furozin analizi ile belirlenmiştir. Çalışmada kontrol grubu örnekleri 150°C namlu sıcaklığı, %22 besleme nem değeri, 200 rpm vida hızı ve 2 mm namlu çıkış kalıbı çapı koşullarında üretilmiştir. Geleneksel ekstrüzyon ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemleri ile üretilen ve sodyum bikarbonat ve amonyum bikarbonat ilave edilerek üretilen kontrol grubu ekstrüzyon ürünlerinin furozin miktarındaki değişim Çizelge 4.2'de gösterilmiştir.

Geleneksel ekstrüzyon yöntemiyle sadece beyaz mısır unu (BMU) kullanılarak üretilen ekstrüzyon ürünlerinde furozin miktarı ortalama 30.8 mg/kg olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2). BMU'ya L-asparajin (L-Asn) ilave edilerek aynı koşullarda üretilen ekstrüzyon ürünlerinde bu değer çok fazla değişmezken, soya protein izolatı: SPI (%5 w/w) ilave edilerek üretilen örneklerde istatistiksel olarak önemli fark bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Bu durum, SPI'nin yüksek oranda lizin içermesi ve dolayısıyla Maillard reaksiyonuna katılabilecek lizin miktarının yüksek olması ile açıklanabilir. Sağlayıcı firma SPI'nin 6.3 g lizin/100 g protein ve minimum %90 protein içerdiğini bildirmektedir. D-glukoz, L-Asn ve BMU karışımı kullanılarak 150°C namlu sıcaklığı ve %22 besleme nem değerinde üretilen ekstrüzyon ürünlerinde furozin miktarı, aynı koşullarda sadece BMU ile üretilen örneklerden

yaklaşık 6.3 kat daha yüksek bulunmuştur. Bu önemli fark, mısır endosperminin doğal yapısında bulunan lizin amino asidinin (2g/100g protein; Delcour and Hosney, 2010) formülasyona ilave edilen D-glukoz ile Maillard reaksiyonuna girerek Amadori bileşiklerini oluşturması ile açıklanabilir.

**Çizelge 4.2.** Kontrol grubu örneklerindeki Furozin miktarı değişimi

Yöntem	Furozin (mg/kg)				
	BMU*	BMU+Asn	BMU+SPI +Asn	BMU+Glu +Asn	BMU+Rib +Asn
Geleneksel Ekstrüzyon	30.8aC	30.6aC	70.9aB	195.5aA	7.4aD
CO <sub>2</sub> enjeksiyonu (75 psi)	30.6aC	29.5aC	62.8bB	187.5aA	7.0aD
CO <sub>2</sub> enjeksiyonu (150 psi)	29.4aA	29.2aA	-	-	-
NaHCO <sub>3</sub> ilavesi (%1 w/w)	-	14.0cB	12.9dB	46.8cA	2.7cC
NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub> ilavesi (%1 w/w)	-	15.5bC	28.4cB	104.5bA	5.3bD

(\*) BMU: Beyaz mısır unu, Asn: L-asparajin, SPI: Soya Protein İzolatı, Glu: D-glukoz, Rib: D-riboz  
(\*\*) Aynı sütunda farklı küçük harflerle ve aynı satırda farklı büyük harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05).

Ayrıca Çizelge 4.2 incelendiğinde, D-glukoz ilave edilerek üretilen ekstrüzyon ürünlerinin furozin miktarları tüm üretim koşullarında D-riboz ilave edilerek üretilen örneklerle kıyasla önemli düzeyde yüksek bulunmuştur (p<0.05). Bu durum, muhtemelen furozin oluşum reaksiyonunun glukoz üzerinden yürümesinden kaynaklanmaktadır ve ileride daha kapsamlı olarak tartışılacaktır.

Geleneksel ekstrüzyon ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemleri ile üretilen kontrol grubu örnekleri furozin içeriği bakımından değerlendirilecek olursa, (BMU, SPI, L-Asn karışımından üretilen ekstrüzyon ürünleri hariç) örnekler arasında önemli fark tespit edilmemiştir (Çizelge 4.2). Diğer bir ifadeyle, CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yönteminin furozin oluşum mekanizması üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir.

Kabartma ajanlarının furozin oluşumu üzerine etkilerini takip etmek amacıyla kontrol grubunu oluşturan farklı karışımlara %1 (w/w) oranında sodyum bikarbonat veya amonyum bikarbonat ilave edilerek aynı proses koşullarında ekstrüzyon ürünleri üretilmiştir. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, kabartma ajanları ilave edilerek üretilen ekstrüzyon ürünlerinin furozin miktarları, geleneksel ekstrüzyonla üretilen kontrol grubu örneklerinden önemli ölçüde düşük bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Bu durumun kabartma ajanlarından kaynaklanan pH değişimi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Kabartma ajanlarının pH değişimi ve dolayısıyla furozin oluşumu üzerine etkileri Bölüm 4.3.3.2'de detaylı bir şekilde tartışılmıştır.

### **4.3.3. Formülasyonun furozin oluşumu üzerine etkisi**

#### **4.3.3.1. Şeker tipinin furozin oluşumu üzerine etkisi**

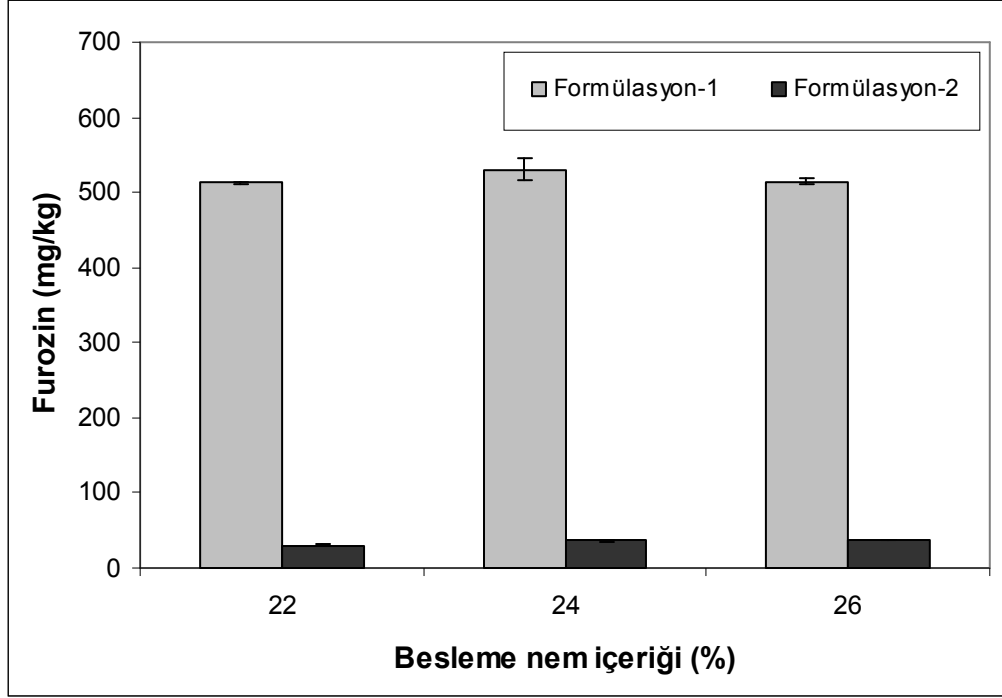
Bileşimde yer alan şeker tipinin furozin oluşumu üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla, D-glukoz içeren Formülasyon 1 ve D-riboz içeren Formülasyon 2 kullanılarak 150°C namlu sıcaklığı ve farklı besleme nem içeriklerinde (%22, 24, 26) üretilen ekstrüzyon ürünlerinin furozin miktarları Şekil 4.16'da verilmiştir.

Şekil 4.16 incelendiğinde şeker tipinin furozin oluşumu üzerine dikkate değer bir etkisi olduğu görülmektedir. Tüm üretim koşullarında D-glukoz kullanılarak üretilen örneklerdeki furozin miktarı D-riboz ile üretilenlerle karşılaştırıldığında önemli ölçüde yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Bu durum bir heksoz şeker olan D-glukoz'un furozinin yapısında yer alması ile açıklanabilir (Bölüm 2.4.1.1; Şekil 2.5).

Maillard reaksiyonunun erken aşamasında, lizinin  $\epsilon$ -amino grupları ile glukozun reaksiyona girmesi sonucu fruktozil-lizin adı verilen Amadori bileşikleri oluşmaktadır. Oluşan bu Amadori bileşiklerinin, asit hidrolizi ile amino asit türevi bir bileşen olan furozine dönüştüğü bildirilmiştir (Erbersdobler and Hupe, 1991).

Charissou et al. (2007), glukoz, fruktoz veya sakaroz kullanarak ürettikleri model bisküvi çalışmasında şeker tipi ve pişirme koşullarının Maillard reaksiyonu üzerine etkilerini incelemiştir. Bu çalışma sonuçlarına göre, fruktozil-lizin olarak bloke lizin oranının glukoz içeren bisküvilerde en yüksek olduğu, glukoz içeren bisküviler ile kıyaslandığında fruktoz ile üretilen örneklerde bu değer 4-5 kat; sakaroz

içeren bisküvilerde ise 10-20 kat daha düşük olduğu araştırmacılar tarafından bildirilmiştir.



**Şekil 4.16.** Şeker tipinin furozin oluşumu üzerine etkisi

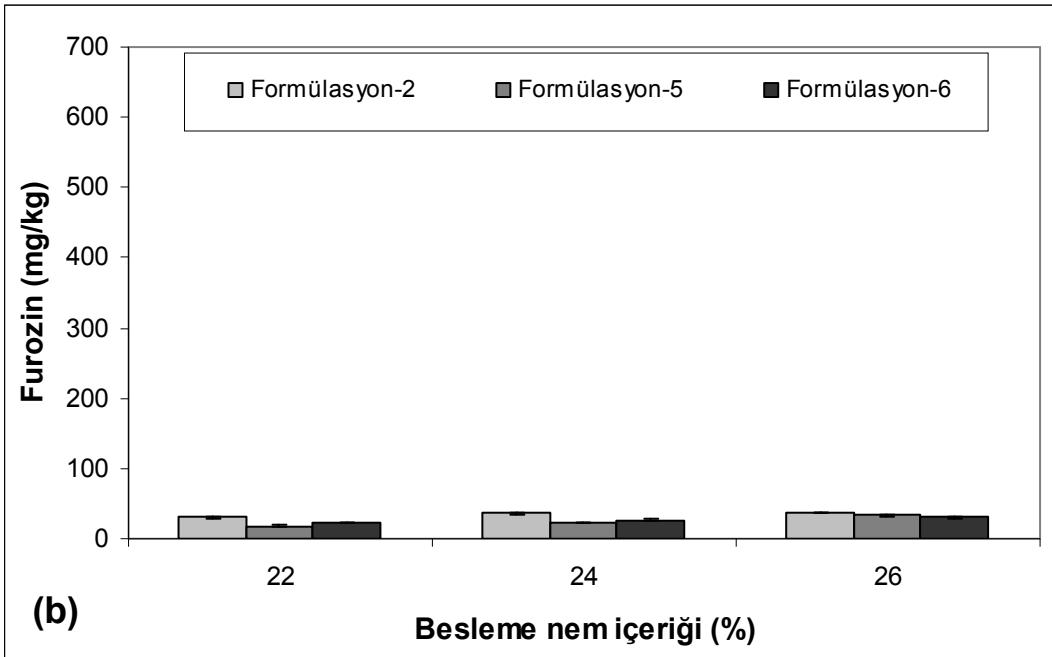
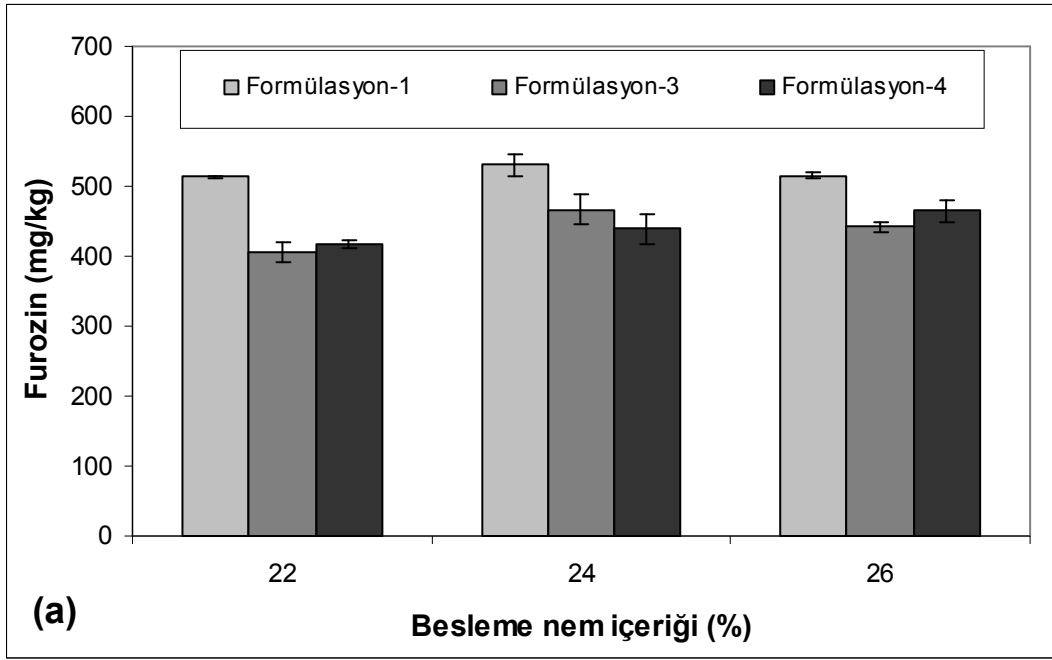
Formülasyon 1: D-glukoz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu

Formülasyon 2: D-riboz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu

#### **4.3.3.2. Kabartma ajanlarının furozin oluşumu üzerine etkisi**

Kabartma ajanlarının bu tez çalışması kapsamında üretilen ekstrüzyon ürünlerinin bazı fiziksel özellikleri üzerine etkileri Bölüm 4.1.2.2 ve Bölüm 4.2.1.2'de detaylı bir şekilde tartışılmıştır. Ancak, kabartma ajanlarının Maillard reaksiyonunun farklı aşamalarında meydana gelen MRÜ'nin oluşum mekanizması üzerine etkisini inceleyen literatür bilgisi oldukça sınırlıdır (Gökmen et al., 2008).

Kabartma ajanlarının erken aşama Maillard reaksiyon ürünlerinin bir göstergesi olan furozin oluşumu üzerine etkilerini araştırmak amacıyla, Formülasyon 1-6 esas alınarak 150°C namlu sıcaklığı ve farklı besleme nem içeriklerinde (%22, 24, 26) üretilen ekstrüzyon ürünlerinin furozin düzeyleri Şekil 4.17'de verilmiştir.



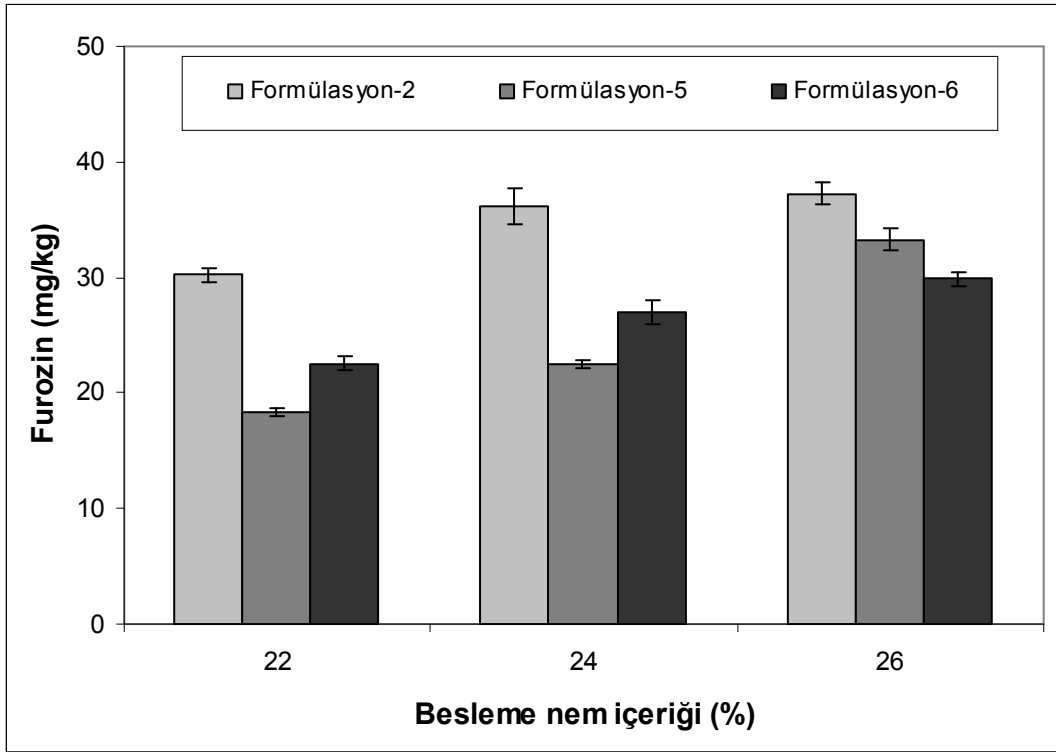
**Şekil 4.17.** Kabartma ajanlarının furozin oluşumu üzerine etkisi; (a) D-glukoz; (b) D-riboz içeren Formülasyon 1-6 ile 150°C namlu sıcaklığı ve farklı besleme nem içeriklerinde (%22, 24, 26) üretilen ekstrüzyon ürünlerinin furozin içerikleri

- Formülasyon 1: D-glukoz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu  
 Formülasyon 2: D-riboz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu  
 Formülasyon 3: Formülasyon 1 + sodyum bikarbonat (%1)  
 Formülasyon 4: Formülasyon 1 + amonyum bikarbonat (%1)  
 Formülasyon 5: Formülasyon 2 + sodyum bikarbonat (%1)  
 Formülasyon 6: Formülasyon 2 + amonyum bikarbonat (%1)

Şekil 4.17a incelendiğinde en yüksek furozin oluşumu, Formülasyon 1 ile üretilen ekstrüzyon ürünlerinde (513.0-530.9 mg/kg) belirlenmiştir. Bir başka ifadeyle kabartma ajanları kullanılarak üretilen ekstrüzyon ürünlerinde (Formülasyon 3 ve Formülasyon 4) furozin miktarının önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ). Bu durum kabartma ajanı ilavesinin son üründe meydana getirdiği pH değişimi ile açıklanabilir. Formülasyon 1 ile 150°C namlu sıcaklığı ve %22 besleme nem içeriğinde üretilen ekstrüzyon ürünlerinde pH değeri 5.81 olarak tespit edilmiştir. Aynı koşullarda sodyum bikarbonat içeren Formülasyon 3 ve amonyum bikarbonat içeren Formülasyon 4 kullanılarak üretilen ekstrüzyon ürünlerinin pH değerleri ise sırasıyla 8.15 ve 7.96 olarak ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde kabartma ajanlarının pH'da artışa neden oldukları ve pH değerindeki artışa bağlı olarak furozin oluşumunun azaldığı söylenebilir. D-glukoz kullanılarak üretilen (Formülasyon 3 ve Formülasyon 4) ekstrüzyon ürünlerinde furozin oluşumunu üzerine etkileri bakımından kabartma ajanları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark tespit edilmemiştir (Şekil 4.17a). Şekil 4.17a ve Şekil 4.17b şekerlerden (D-glukoz, D-riboz) kaynaklanan farklı düzeylerde furozin oluşumunu kolay bir şekilde karşılaştırabilmek için eş y ekseni skalasında oluşturulmuştur. Ancak, D-riboz içeren formülasyonlardan üretilen örneklerin furozin içeriklerinin D-glukoz içerenlere oranla oldukça düşük olması, kabartma ajanlarından kaynaklanan farklılıkları takip etmede güçlükler yaratmaktadır (Şekil 4.17b). Bu nedenle Şekil 4.17b uygun maksimum y ekseni skalası ile yeniden düzenlenerek Şekil 4.18'de verilmiştir.

Şekil 4.18 incelendiğinde en yüksek furozin oluşumu Formülasyon 2 kullanılarak üretilen örneklerde (30.2-37.3 mg/kg) tespit edilmiştir. Sodyum bikarbonat içeren Formülasyon 5 ile üretilen ekstrüzyon ürünlerinin furozin içerikleri, Formülasyon 2 kullanılarak üretilen örneklerin furozin değerleri ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir ( $p<0.05$ ). Benzer bir azalma eğilimi amonyum bikarbonat içeren Formülasyon 6 ile üretilen ekstrüzyon ürünlerinde de görülmektedir. D-riboz kullanılarak üretilen örneklerde kabartma ajanlarının furozin oluşumu üzerine etkileri incelendiğinde, özellikle düşük besleme nem içeriğinde sodyum bikarbonatın amonyum bikarbonata oranla furozin oluşumunu azaltıcı etkisi tespit edilmiştir ve bu fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p<0.05$ ).





**Şekil 4.18.** D-riboz içeren ekstrüzyon ürünlerinin furozin düzeyleri üzerine kabartma ajanlarının etkisi

- Formülasyon 2: D-riboz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu  
 Formülasyon 5: Formülasyon 2 + sodyum bikarbonat (%1)  
 Formülasyon 6: Formülasyon 2 + amonyum bikarbonat (%1)

Formülasyon 2 ile 150°C namli sıcaklığı ve %22 besleme nem içeriğinde üretilen ekstrüzyon ürünlerinin ortalama pH değeri 5.47 iken aynı koşullarda Formülasyon 5 ve Formülasyon 6 kullanılarak üretilen örneklerde ise bu değerler sırasıyla 7.73 ve 7.30 olarak belirlenmiştir. Dolayısıyla, pH değerindeki artışa paralel olarak furozin oluşumunun azaldığı görülmektedir. Ayrıca D-riboz içeren formülasyonlarda özellikle yüksek sıcaklık ve düşük besleme nemi uygulamalarında sodyum bikarbonat kullanılan örneklerde amonyum bikarbonat kullanılan örneklere göre furozin oluşumunun önemli düzeyde daha düşük olduğu belirlenmiştir ( $p < 0.05$ ).

Gökmen et al. (2008) araştırmalarında, farklı reçeteler kullanarak hazırladıkları bisküvi örneklerinde kabartma ajanlarının, pişirme koşullarının ve şeker tipinin furozin oluşumu üzerine etkilerini incelemiştir. Araştırmacılar kabartma ajanlarından sadece amonyum bikarbonat ilave ederek hazırladıkları bisküvi

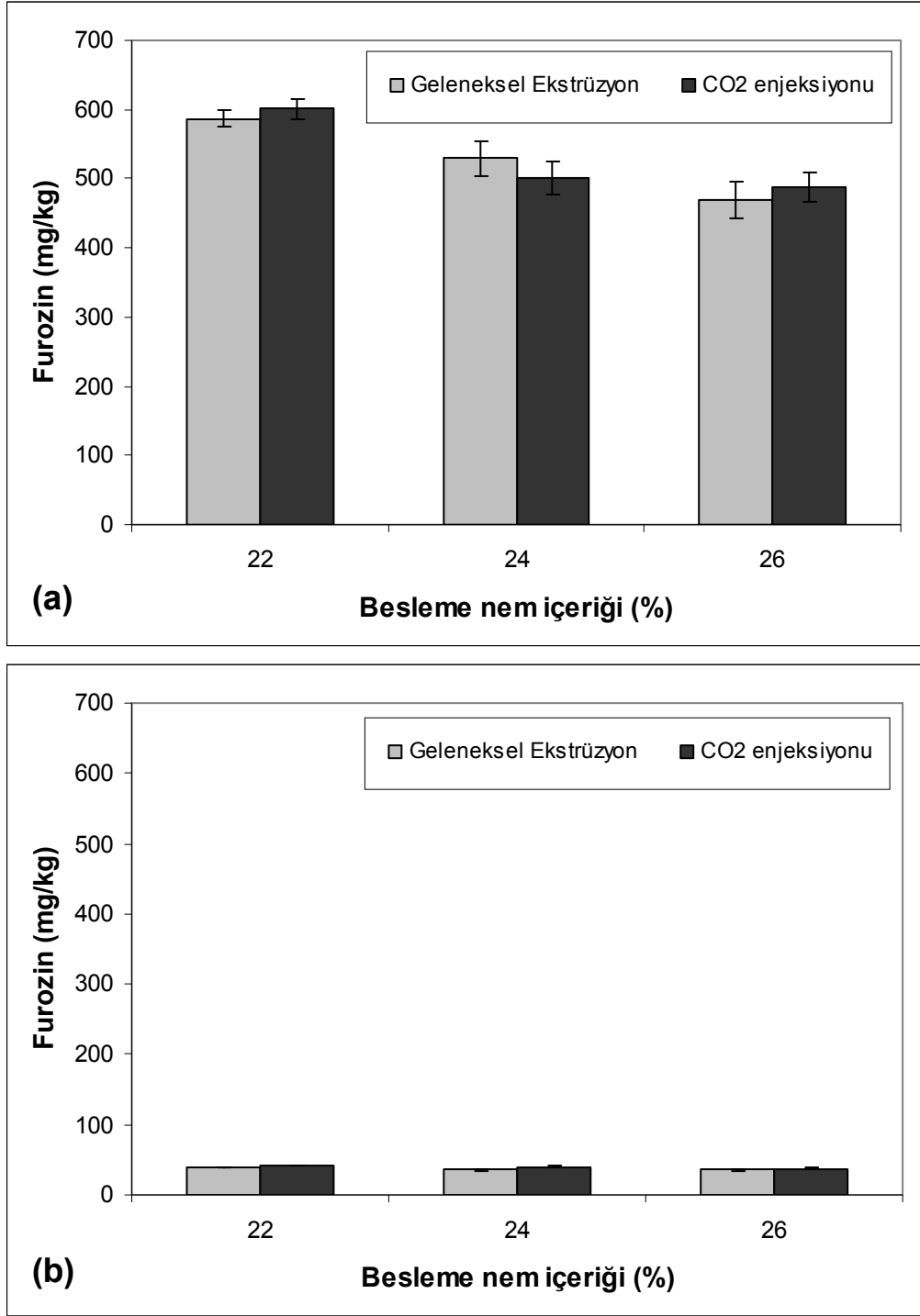
örneklerinin furozin içeriğinin, sadece sodyum bikarbonat ile üretilen örneklerin furozin değerlerinden daha yüksek olduğunu ve amonyum bikarbonatın Maillard reaksiyonunun gelişiminde daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. Bu tez kapsamında özellikle D-riboz içeren formülasyonlar ile üretilen ekstrüzyon ürünlerinden elde edilen furozin değerleri Gökmen et al. (2008)'in araştırma sonuçları ile uyum göstermektedir.

#### **4.3.4. Uygulanan ekstrüzyon yöntemlerinin furozin oluşumu üzerine etkisi**

Bu tez çalışması kapsamında ekstrüzyon ürünlerinin üretiminde iki farklı yöntem uygulanmıştır. Bunlardan ilki yüksek sıcaklık uygulanarak namlu içerisinde basınç oluşturma sonucu üründe genişleme sağlama esasına dayanan “Geleneksel Ekstrüzyon Yöntemi” (Conventional Extrusion Process) dir. Diğer yöntem ise namlu içerisine karbondioksit gazı enjekte edilerek basınç oluşturma ve bunun sonucu üründe genişleme sağlama esasına dayanan “Soğuk Ekstrüzyon Tekniği” (Cold-Extrusion Technique) dir. Genellikle 100°C'nin altındaki sıcaklıklarda çalışılan ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu olarak da anılan bu yöntem, ekstrüzyon teknolojisinde yeni bir tekniktir. Önceki çalışmalar incelendiğinde, yüksek namlu sıcaklıklarında CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi uygulamalarına rastlanmamıştır. Bu tez çalışması kapsamında her iki yöntemin Maillard reaksiyonu üzerine etkilerini karşılaştırmak amacıyla aynı sıcaklık dereceleri (110°C; 150°C) kullanılmıştır.

Literatür incelendiğinde CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi ile ilgili genellikle düşük sıcaklıklarda hacim arttırma, YY ve gözenek iriliği dağılımı gibi ürünün fiziksel özellikleri üzerine araştırmalar mevcuttur (Ferdinand et al., 1990; Ferdinand et al., 1992). Ancak, CO<sub>2</sub> enjeksiyonun ekstrüzyon ürünlerinde Maillard reaksiyonu ürünlerini nasıl etkilediği konusunda herhangi bir literatür bilgisine rastlanmamıştır.

Geleneksel ekstrüzyon ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemlerinin furozin oluşumu üzerine etkilerini incelemek amacıyla, Formülasyon 1 ve Formülasyon 2 kullanılarak 110°C namlu sıcaklığı ve farklı besleme nem içeriklerinde (%22, 24, 26) üretilen ekstrüzyon ürünlerinin furozin değerleri Şekil 4.19'da verilmiştir.



**Şekil 4.19.** Uygulanan ekstrüzyon yöntemlerinin furozin oluşumu üzerine etkisi: (a) Formülasyon 1; (b) Formülasyon 2, kullanılarak 110°C namlu sıcaklığında üretilen ekstrüzyon ürünlerinin furozin içerikleri

Formülasyon 1: D-glukoz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu

Formülasyon 2: D-riboz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu

Bu çalışmada 110°C namlu sıcaklığında ve farklı besleme nem içeriklerinde sisteme 150 psi basınçta CO<sub>2</sub> enjeksiyonu uygulanmıştır. Aynı namlu sıcaklığında (110°C) Formülasyon-1 ile üretilen ekstrüzyon ürünlerinde besleme nem değerleri sabit tutularak furozin sonuçları kıyaslandığında (Şekil 4.19a) üretim yöntemleri arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmamıştır. Formülasyon 2 kullanılarak üretilen ekstrüzyon ürünlerinde de benzer eğilim görülmektedir (Şekil 4.19b).

Elde edilen sonuçlar bir arada değerlendirildiğinde, beklenildiği gibi CO<sub>2</sub> enjeksiyonunun furozin oluşumu üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı görülmektedir. Maillard reaksiyonunun erken aşamasında meydana gelen Amadori bileşiklerinin oluşum basamakları (Bölüm 2.4.1.1; Şekil 2.5) takip edildiğinde karbondioksitin reaksiyon mekanizması üzerine etki edebileceği herhangi bir noktanın bulunmadığı görülmektedir.

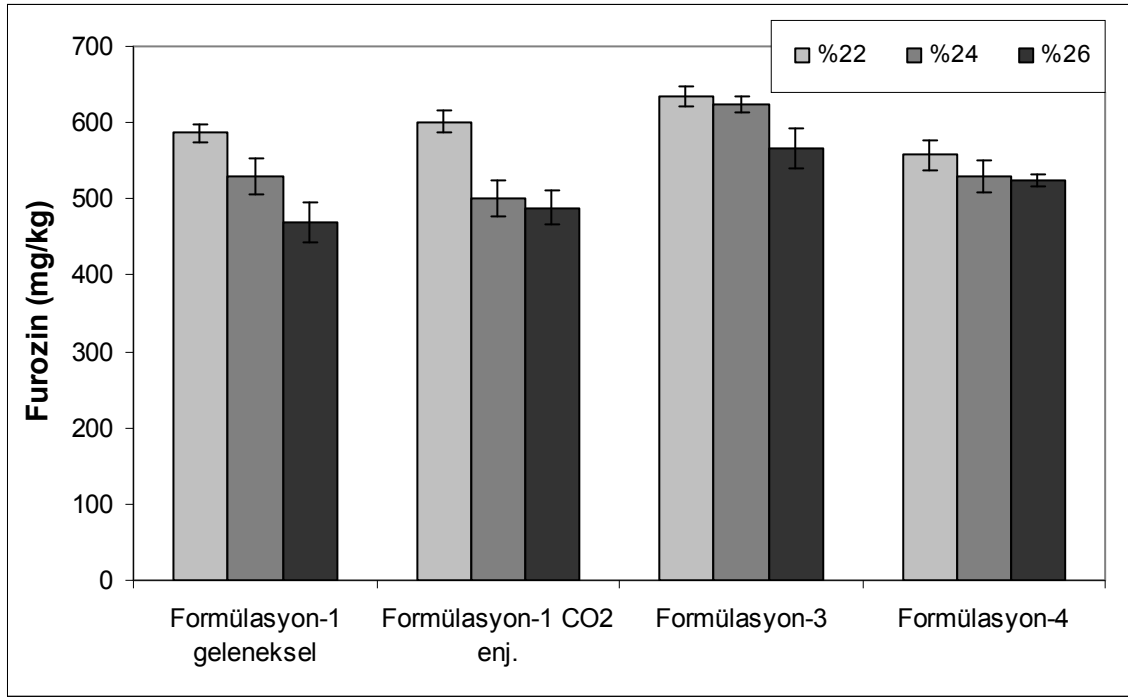
#### **4.3.5. Sistem parametrelerinin furozin oluşumu üzerine etkisi**

##### **4.3.5.1. Besleme nem içeriğinin furozin oluşumu üzerine etkisi**

Besleme nem içeriği hamurun reolojisini önemli miktarda modifiye ederek, ekstrüder namlusunda ve çıkış kalıbında kesme etkisini değiştirmektedir. Sürtünme etkisi ve akış davranışı, beslemenin miktarına bağlıdır. Düşük nem miktarlarına sahip genişlemiş ürünler, kalıptan çıkışta nemin ani olarak uzaklaşmasıyla elde edilmektedir. Dolayısıyla besleme nem içeriği sadece son ürünün fiziksel özelliklerini değil aynı zamanda bir dizi kimyasal reaksiyona farklı oranlarda katılması veya dehidrasyonu nedeniyle de ekstrüzyon pişirme teknolojisinde önemli sistem parametrelerinden biri olarak değerlendirilebilir.

Furozin oluşumu üzerine besleme nem içeriğinin etkisini araştırmak amacıyla, D-glukoz içeren Formülasyon 1 (geleneksel ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemleri ile), Formülasyon 3 ve Formülasyon 4 esas alınarak 110°C namlu sıcaklığı ve farklı besleme nem içeriklerinde (%22, 24, 26) üretilen ekstrüzyon ürünlerinin furozin düzeyleri Şekil 4.20'da verilmiştir.

Formülasyon 1 kullanılarak 110°C'de geleneksel ekstrüzyon yöntemiyle üretilen ekstrüzyon ürünlerinde besleme nem içeriği artırıldıkça furozin miktarında meydana gelen düşüş (Şekil 4.20) istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).



**Şekil 4.20.** Besleme nem içeriğinin furozin oluşumu üzerine etkisi

- Formülasyon 1: D-glukoz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatu (%5), beyaz mısır unu  
 Formülasyon 3: Formülasyon 1 + sodyum bikarbonat (%1)  
 Formülasyon 4: Formülasyon 1 + amonyum bikarbonat (%1)

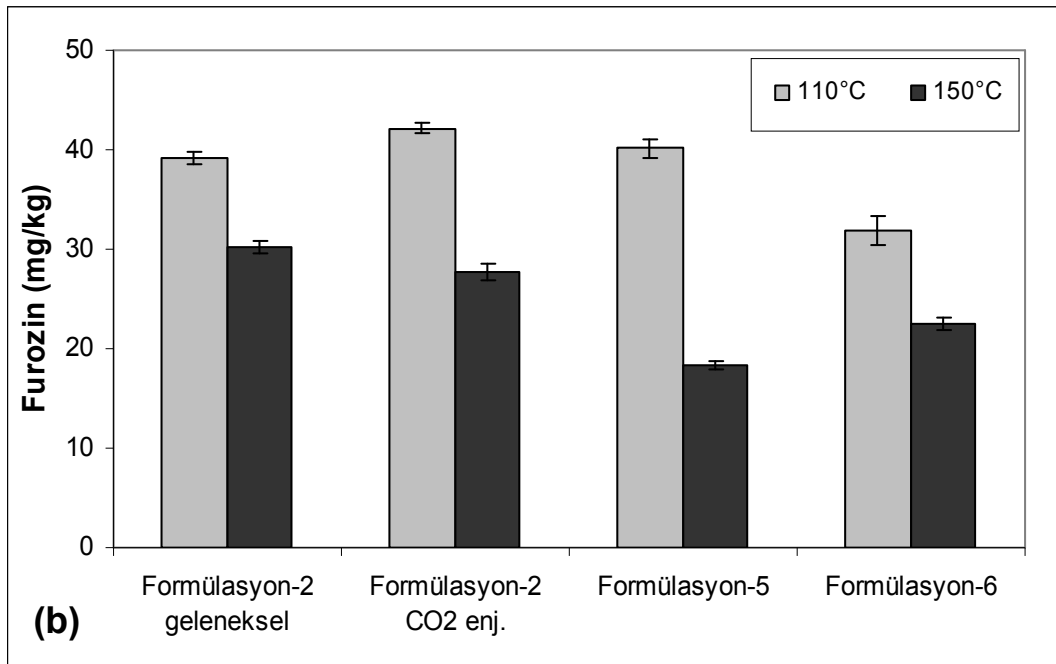
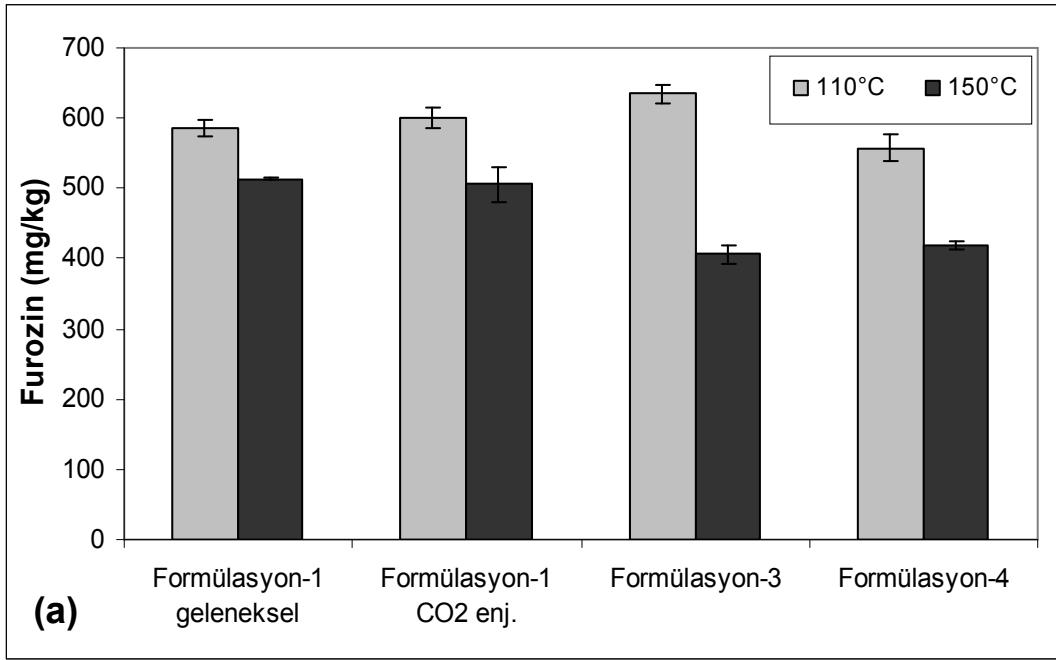
Benzer bir eğilim olarak, sodyum bikarbonat içeren Formülasyon 3, amonyum bikarbonat içeren Formülasyon 4 ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemiyle Formülasyon 1 kullanılarak üretilen örneklerin furozin değerleri (Şekil 4.20) özellikle besleme nem içeriğinin %22'den %26'ya artırılması ile önemli oranda azalmıştır (p<0.05). Diğer bir anlatımla, besleme nemindeki azalmaya paralel olarak lizin kaybı artmaktadır.

Björck et al. (1983) tarafından yapılan bir araştırmada ekstrüzyon pişirmenin yararlanılabilir lizin üzerine etkileri incelenmiş ve proses sonunda lizinde yaklaşık %11 azalma olduğu ve bu düşüşün biyolojik denemelerde kimyasal metotlara kıyasla daha belirgin olduğu bildirilmiştir. Ayrıca araştırmacılar kaybedilmeyen lizin miktarının (lysine retention) artan proses sıcaklığı ile negatif; artan besleme nemi ile pozitif ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte, Ilo and Berghofer (2003) çalışmalarında besleme nem içeriğinin ekstrüzyon pişirme teknolojisinde amino asit kaybı üzerine koruyucu bir etkisinin olduğunu rapor etmişlerdir. Tez çalışması kapsamında elde edilen bu bulgular Björck et al. (1983) ve Ilo and Berghofer (2003)' in araştırma sonuçları ile uyum göstermektedir.

#### **4.3.5.2. Namlu sıcaklığının furozin oluşumu üzerine etkisi**

Ekstrüzyon pişirme teknolojisinde namlu sıcaklığı, hem polimerin fiziksel özelliklerini hem de kimyasal reaksiyon kinetiğini etkilediğinden kompleks bir etkiye sahiptir. Bu tez çalışması kapsamında namlu sıcaklığının Maillard reaksiyonunun erken aşamasında meydana gelen Amadori bileşiklerinin bir göstergesi olan furozin oluşumu üzerine etkileri incelenmiştir. Formülasyon 1-6 kullanılarak 110 ve 150°C namlu sıcaklığında besleme nem içeriği sabit tutularak (%22) üretilen ekstrüzyon ürünlerinde furozin miktarında meydana gelen değişim Şekil 4.21’de verilmiştir.

Namlu sıcaklığının 110°C’den 150°C’ye çıkarılmasıyla %22 besleme nem değerinde üretilen tüm ekstrüzyon ürünlerinde beklenen durumun aksine furozin miktarlarında önemli bir azalma meydana gelmiştir ( $p<0.05$ ) (Şekil 4.21). Bu durumun muhtemelen Maillard reaksiyonunun erken aşamasında oluşan furozinin kararsız bir yapıya sahip olması ve sonraki aşamalarda ileri Maillard reaksiyonu ürünlerine dönüşerek azalmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Capuano et al., 2008; Erbersdobler and Somoza, 2007; Ramírez-Jiménez et al., 2001).



**Şekil 4.21.** Namlu sıcaklığının furozin oluşumu üzerine etkisi: (a) D-glukoz; (b) D-riboz içeren Formülasyon 1-6 kullanılarak 110°C ve 150°C namlu sıcaklığında, %22 besleme nem içeriğinde üretilen ekstrüzyon ürünlerinin furozin düzeyleri

- Formülasyon 1: D-glukoz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatu (%5), beyaz mısır unu  
 Formülasyon 2: D-riboz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatu (%5), beyaz mısır unu  
 Formülasyon 3: Formülasyon 1 + sodyum bikarbonat (%1)  
 Formülasyon 4: Formülasyon 1 + amonyum bikarbonat (%1)  
 Formülasyon 5: Formülasyon 2 + sodyum bikarbonat (%1)  
 Formülasyon 6: Formülasyon 2 + amonyum bikarbonat (%1)

#### 4.4. HMF

Bu çalışmanın hedeflerinden biri de ekstrüzyon pişirme prosesinde kullanılan farklı indirgen şekerlerin Maillard reaksiyonu üzerine etkilerinin araştırılmasıdır. Dolayısıyla, bu tez kapsamında bir heksoz şeker olan D-glukoz ve bir pentoz şeker olan D-riboz seçilmiş ve Maillard reaksiyon ürünlerinin oluşumu takip edilmiştir. Furfural ve HMF' nin oluşum mekanizmaları sunulan tezin literatür kısmında (Bölüm 2.4.2.1) detaylı bir şekilde açıklanmıştır. Buna göre furfural ve HMF' nin oluşum rotaları iki temel eksenle özetlenebilir. Monosakaritler derişik asit çözeltilerinde ısıtıldıklarında dehidrasyona uğrayarak furan türevleri oluştururlar. Aldopentozlar furfurala; aldoheksozlar ise HMF' ye dönüşür. Bir diğer yaklaşım ise Maillard reaksiyonu üzerinden Amadori ve Heyns ürünlerinin, ortamın pH ve sıcaklığına bağlı olarak degradasyon ürünlerinin oluşumudur. Ortam nötr veya asidik olduğu durumlarda 1,2-enolizasyon yolu ile başlangıç şekeri pentoz ise furfural; heksoz ise HMF oluşumu gerçekleşmektedir.

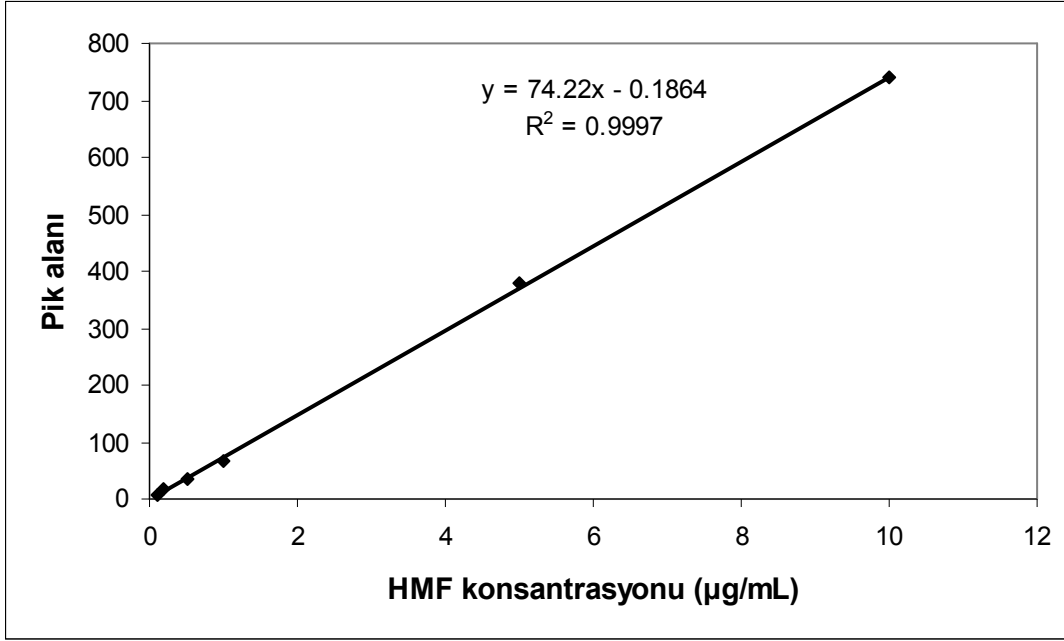
HMF genellikle ısııl işlem görmemiş gıdalarda bulunmazken, karbonhidrat içeriği yüksek gıdaların termal prosesleri sırasında ve depolama süresince oluştuğu bilinmektedir. Bu nedenle gıda maddelerine uygulanan ısııl işlem şiddetinin ya da depolama koşullarının etkisinin incelenmesinde HMF miktarının belirlenmesi önem kazanmaktadır (Ibarz et al., 2000; Morales, 2009).

##### 4.4.1. HMF analizinin validasyon sonuçları

HMF kalibrasyon grafiğinin oluşturulmasında 0.1 mg/L – 10 mg/L aralığında altı farklı konsantrasyonda çalışma standart çözeltileri hazırlanmıştır. Uygulanan metodun HMF konsantrasyonu ile orantılı olarak sonuç verebilme yeteneğini test etmek amacıyla, kalibrasyon eğrisinin denklemi ve regresyon katsayısı tespit edilmiştir (Şekil 4.22).

HMF için hazırlanan kalibrasyon grafiğinin regresyon katsayısı ( $R^2$ ) 0.9997 olarak tespit edilmiştir. Bu değer, oluşturulan grafiğin 0.1 mg/L – 10.0 mg/L konsantrasyon aralığında doğrusal olduğunu göstermektedir. HMF tayini için tespit sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ) değerleri sırasıyla, 2.4 µg/100g, 7.9 µg/100g olarak tespit edilmiştir. HMF için geri kazanım değeri ortalama %102.0 ± 3.26 olarak belirlenmiştir.





**Şekil 4.22.** HMF kalibrasyon grafiği

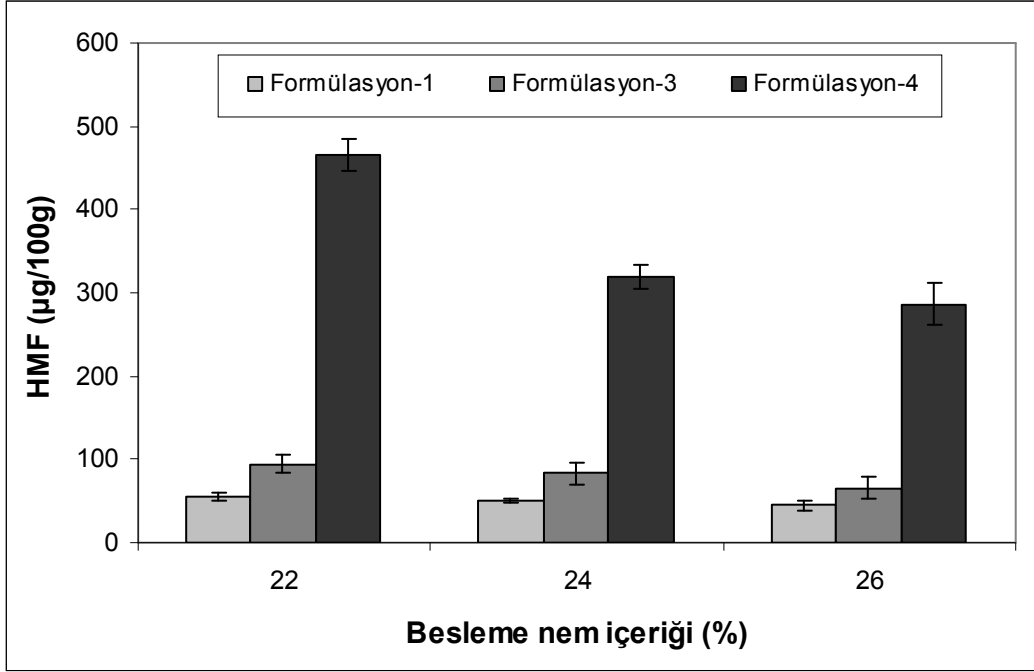
#### 4.4.2. Kabartma ajanlarının HMF oluşumu üzerine etkisi

Kabartma ajanlarının HMF oluşumu üzerine etkisini araştırmak amacıyla, bir heksoz şeker olan D-glukoz içeren Formülasyon 1, Formülasyon 3 ve Formülasyon 4 esas alınarak 110°C namlu sıcaklığı ve farklı besleme nem içeriklerinde (%22, 24, 26) üretilen ekstrüzyon ürünlerinin HMF düzeyleri belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar Şekil 4.23'te sunulmuştur.

Elde edilen ekstrüzyon ürünlerinde kabartma ajanı tipinin HMF oluşumunu önemli ölçüde etkilediği görülmektedir. Şekil 4.23 incelendiğinde %1 (w/w) oranında amonyum bikarbonat içeren Formülasyon 4 kullanılarak 110°C namlu sıcaklığı ve %22 besleme neminde üretilen ekstrüzyon ürünlerinde HMF miktarı, aynı koşullarda Formülasyon 1 (amonyum bikarbonat ilavesiz) ile üretilen örneklerin HMF değerinden yaklaşık 8.5 kat yüksek olduğu tespit edilmiştir. HMF oluşumunda meydana gelen bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

Sodyum bikarbonat ilave edilerek aynı üretim koşullarında üretilen örneklerde (Formülasyon 3) ise en yüksek HMF miktarı 94.4 µg/100g'dır. Bu değer Formülasyon 1 ile üretilen örneklerin HMF değerinden 1.7 kat yüksek;

Formülasyon 4 ile üretilen ekstrüzyon ürünlerinin HMF miktarından ise yaklaşık 4.9 kat düşük bulunmuştur (Şekil 4.23). Farklı sıcaklık-nem uygulamalarında bu değerler oransal değişim gösteriyor olsa da, tüm üretim koşullarında formülasyonunda amonyum bikarbonat içeren ekstrüzyon ürünlerinde, sodyum bikarbonat içerenlere oranla çok daha yüksek HMF miktarı belirlenmiştir. HMF düzeyinde tespit edilen bu fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p<0.05$ ).



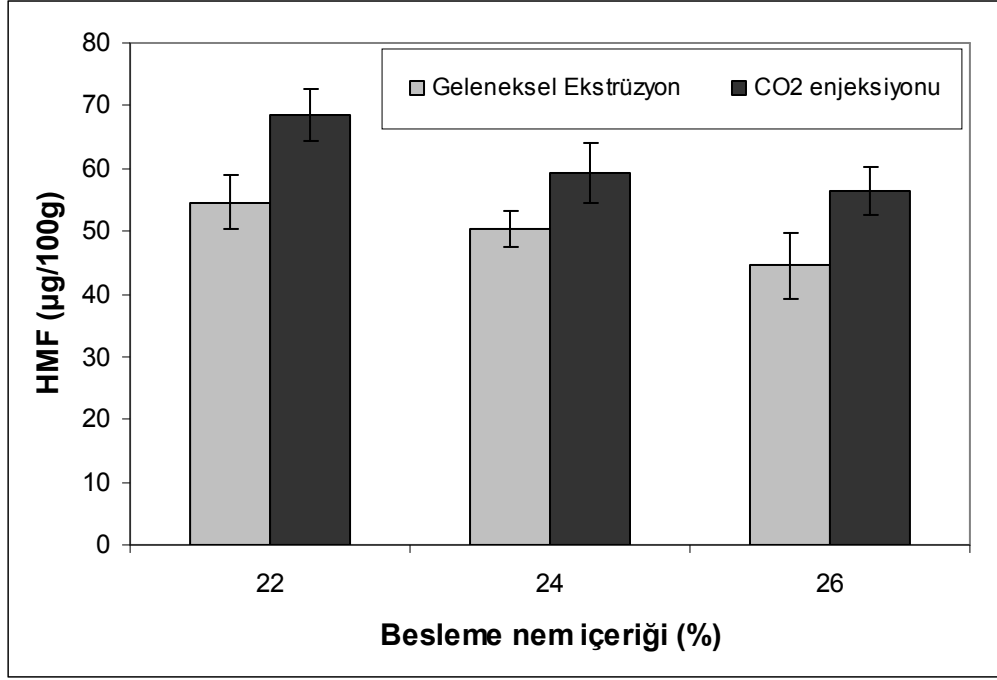
**Şekil 4.23.** Kabartma ajanlarının HMF oluşumu üzerine etkisi

- Formülasyon 1: D-glukoz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu  
Formülasyon 3: Formülasyon 1 + sodyum bikarbonat (%1)  
Formülasyon 4: Formülasyon 1 + amonyum bikarbonat (%1)

Gökmen et al. (2008) araştırmalarında pişirme sırasında bisküvilerde HMF oluşumu üzerine kabartma ajanlarının ve şekerlerin etkisini incelemişler ve en yüksek HMF konsantrasyonunu amonyum bikarbonat içeren bisküvilerde tespit etmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca, amonyum bikarbonat yerine sodyum bikarbonat kullanılarak pişirme sırasında bisküvilerde HMF oluşumunun önemli bir oranda düştüğünü bildirmişlerdir. Bu tez çalışması kapsamında elde edilen veriler Gökmen et al. (2008)'nin bulguları ile uyum göstermektedir.

#### 4.4.3. Uygulanan ekstrüzyon yöntemlerinin HMF oluşumu üzerine etkisi

Geleneksel ekstrüzyon ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemlerinin HMF oluşumu üzerine etkilerini incelemek amacıyla, Formülasyon 1 kullanılarak 110°C namlu sıcaklığı ve farklı besleme nem içeriklerinde (%22, 24, 26) üretilen ekstrüzyon ürünlerinin HMF değerleri Şekil 4.24'te verilmiştir.



Şekil 4.24. Uygulanan ekstrüzyon yöntemlerinin HMF oluşumu üzerine etkisi

Formülasyon 1: D-glukoz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu

Geleneksel ekstrüzyon yöntemi ile 110°C namlu sıcaklığı ve %22 besleme nem değerinde üretilen örneklerin ortalama HMF miktarı 54.7 µg/100 g olarak belirlenmiştir. CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi uygulanarak aynı koşullarda üretilen örneklerde ise bu değer 68.6 µg/100 g olarak tespit edilmiştir. Şekil 4.24'te sunulan tüm veriler birlikte değerlendirildiğinde CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi uygulanarak üretilen örneklerin HMF miktarları aynı koşullarda (namlu sıcaklığı, besleme nem içeriği vb.) geleneksel yöntemle üretilenlere kıyasla artış göstermiş ve bu fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0.05). Bu durum, CO<sub>2</sub>' in sulu ortamda zayıf bir asit olan karbonik aside dönüşmesi (Eşitlik 4.1) ve ortam pH' sının belirli bir miktar düşmesi ile açıklanabilir.



Genellikle, düşük pH seviyelerinde HMF oluşumunun arttığı çeşitli kaynaklarda bildirilmiştir (Gökmen et al., 2007; Gökmen et al., 2008; Capuano and Fogliano, 2011). Formülasyon 1 kullanılarak, 110°C namlu sıcaklığı ve farklı besleme nem değerlerinde geleneksel ekstrüzyon ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemleri ile üretilen örneklerin pH değişimleri Çizelge 4.3'te gösterilmiştir. Her iki yöntem birbirleri ile kıyaslandığında, aynı namlu sıcaklığı ve besleme nem içeriğinde CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi ile üretilen örneklerin pH değerleri geleneksel ekstrüzyon ile üretilenlere göre daha düşük bulunmuştur (Çizelge 4.3). Bu durum Eşitlik 4.1'de ortaya konulan teorik bilgiyle uyum göstermektedir.

**Çizelge 4.3.** CO<sub>2</sub> enjeksiyonu uygulamasının ürün pH değerleri üzerine etkisi

Yöntem*	Namlu Sıcaklığı (°C)	Besleme Nemi (%)	CO <sub>2</sub> Basıncı (psi)	pH
Geleneksel Ekstrüzyon	110	22	0**	6.18
	110	24	0	6.26
	110	26	0	6.47
CO <sub>2</sub> enjeksiyonu	110	22	150	5.86
	110	24	150	5.95
	110	26	150	6.06

(\*) Her üretimde vida hızı 200 rpm ve ekstrüder çıkış kalıbı çapı 2 mm sabit tutulmuştur.

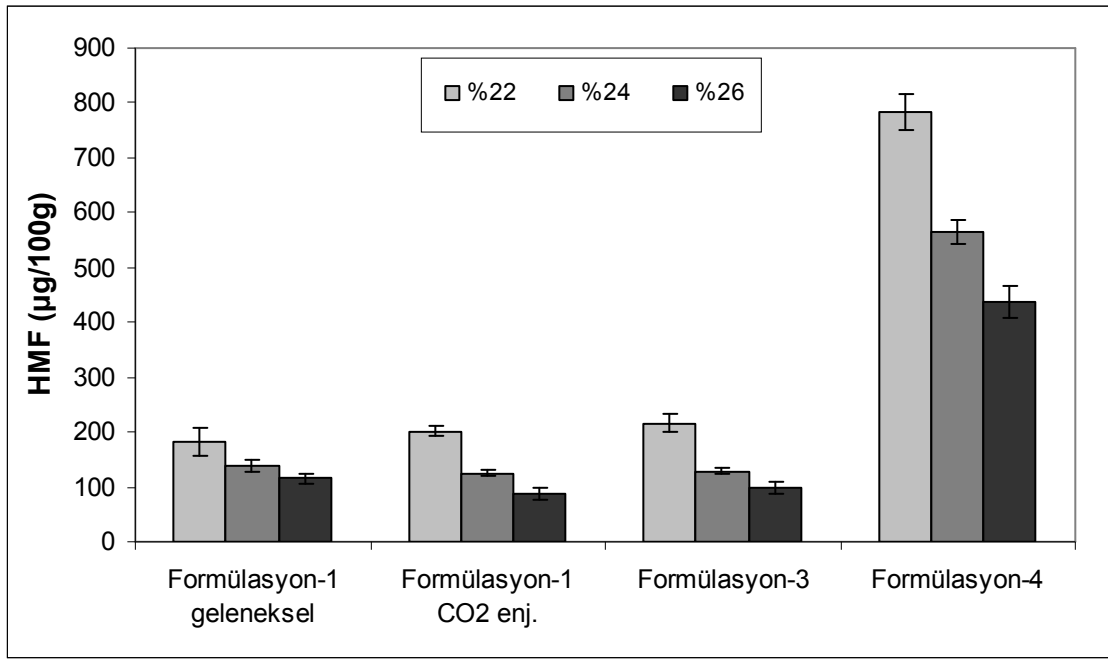
(\*\*) CO<sub>2</sub> basıncı uygulanmamıştır.

Gökmen et al. (2007), bisküvi örnekleri üzerine yaptıkları çalışmada hamur pH değerinin düşürülmesinin, hem sakaroz hem de glukoz içeren örneklerde oluşan HMF miktarını artırdığını bildirmişlerdir. HMF oluşumunda meydana gelen bu artışın, sakaroz içeren örneklerde çok daha belirgin olduğunu bildiren araştırmacılar, glukoz içeren örneklerde de, tüm örnekler için pH değişiminden kaynaklanan HMF miktarları arasındaki farkların istatistiksel olarak önemli olduğunu tespit etmişlerdir.

#### 4.4.4. Sistem parametrelerinin HMF oluşumu üzerine etkisi

##### 4.4.4.1. Besleme nem içeriğinin HMF oluşumu üzerine etkisi

Besleme nem içeriğinin HMF oluşumu üzerine etkisini araştırmak amacıyla, D-glukoz içeren Formülasyon 1 (geleneksel ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemleri ile), Formülasyon 3 ve Formülasyon 4 esas alınarak 150°C namlu sıcaklığı ve farklı besleme nem içeriklerinde (%22, 24, 26) üretilen ekstrüzyon ürünlerinin HMF miktarları belirlenmiş ve elde edilen veriler Şekil 4.25'te sunulmuştur.



**Şekil 4.25.** Besleme nem içeriğinin HMF oluşumu üzerine etkisi

Formülasyon 1: D-glukoz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu

Formülasyon 3: Formülasyon 1 + sodyum bikarbonat (%1)

Formülasyon 4: Formülasyon 1 + amonyum bikarbonat (%1)

Grafik incelendiğinde Formülasyon 1 kullanılarak 150°C'de geleneksel ekstrüzyon yöntemiyle üretilen ekstrüzyon ürünlerinde besleme nem içeriği artırıldıkça, özellikle besleme nem değerinin %22'den %26'ya artırılmasıyla, HMF miktarında meydana gelen düşüş istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Benzer bir eğilim, Formülasyon 1 ile CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemiyle üretilen örneklerin HMF değerleri ile sodyum bikarbonat içeren Formülasyon 3 ve amonyum bikarbonat içeren Formülasyon 4 kullanılarak üretilen ekstrüzyon ürünlerinin HMF

sonuçlarında da gözlenmiştir. Anılan bu örneklerde de besleme nem içeriği artırıldıkça HMF miktarlarında meydana gelen azalma önemli bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

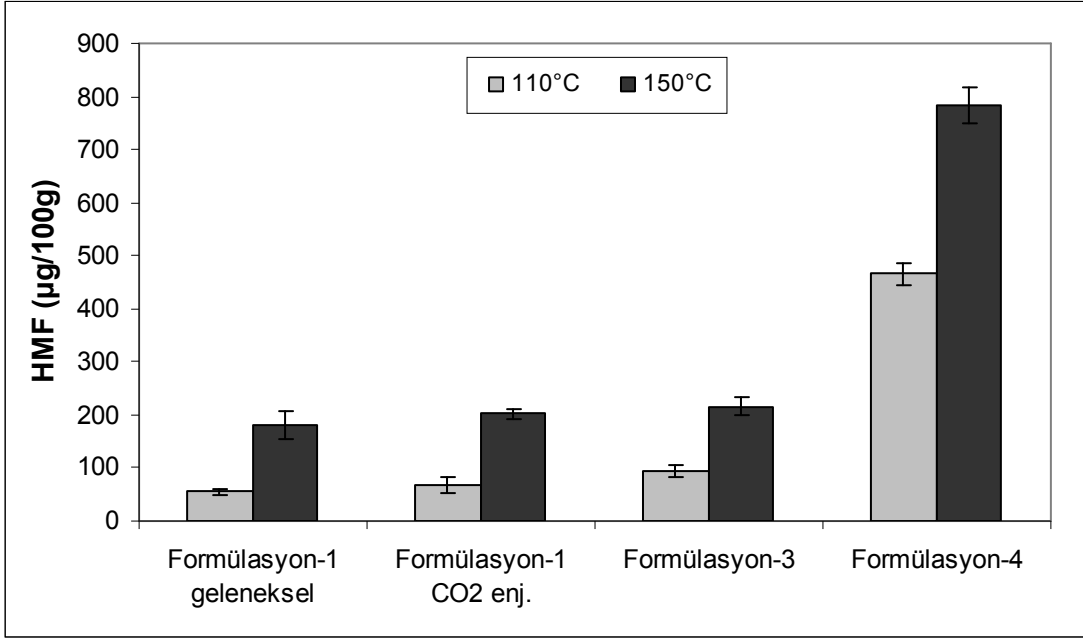
Aldoheksozlar derişik asit çözeltilerinde ısıtıldıklarında dehidrasyona uğrayarak HMF oluşumuna neden olmaktadır. Bu reaksiyonun gerçekleşebilmesi için 3 molekül suyun heksoz şekerin yapısından ayrılması gerekir (BeMiller and Huber, 2008; Kuster, 1990). Dolayısıyla, ekstrüzyon pişirme teknolojisinde yüksek nem içeriğine sahip besleme karışımlarından heksoz dehidrasyonu yoluyla HMF oluşumunun oldukça sınırlı düzeyde gerçekleşmesi beklenir. Diğer bir anlatımla, heksoz dehidrasyon mekanizması üzerinden HMF oluşumu için nem içeriği düşük girdilere gereksinim duyulmaktadır. Bu durum, tez çalışması kapsamında üretilen ekstrüzyon ürünlerinde besleme nem değerinin %26'dan %22'ye düşürülmesiyle HMF miktarında meydana gelen artışı açıkça ortaya koymaktadır.

#### **4.4.4.2. Namlu sıcaklığının HMF oluşumu üzerine etkisi**

Tez çalışması kapsamında namlu sıcaklığının HMF oluşumu üzerine etkileri incelenmiş ve elde edilen sonuçlar Şekil 4.26'da gösterilmiştir. Grafikte Formülasyon 1 (geleneksel ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemleri ile), Formülasyon 3 ve Formülasyon 4 kullanılarak 110 ve 150°C namlu sıcaklığında %22 besleme nem içeriğinde üretilen ekstrüzyon ürünlerinde HMF miktarında meydana gelen değişim karşılaştırmalı olarak verilmiştir.

Şekil 4.26 incelendiğinde namlu sıcaklığındaki artışa paralel olarak aynı besleme nem içeriğine sahip örneklerin HMF miktarlarındaki artışın istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Diğer bir ifadeyle, ısı işlem şiddeti artıkça HMF konsantrasyonunda artış gözlenmiştir.

Formülasyon 1 kullanılarak CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi ile üretilen örneklerin HMF değerleri geleneksel ekstrüzyon yöntemiyle üretilenlere benzer bir eğilim göstermektedir. Namlu sıcaklığı ile HMF sonuçları arasında pozitif korelasyon gözlenirken, besleme nem içeriğinin HMF değerlerini negatif yönde etkilediği belirlenmiştir (Şekil 4.25, Şekil 4.26).



**Şekil 4.26.** Namlu sıcaklığının HMF oluşumu üzerine etkisi

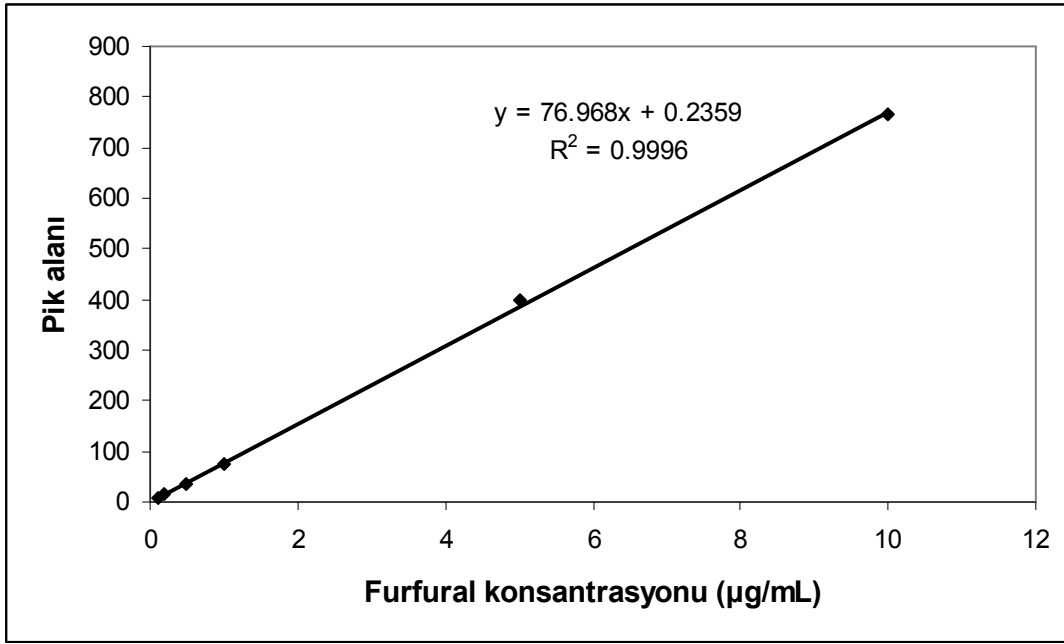
- Formülasyon 1: D-glukoz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatu (%5), beyaz mısır unu  
 Formülasyon 3: Formülasyon 1 + sodyum bikarbonat (%1)  
 Formülasyon 4: Formülasyon 1 + amonyum bikarbonat (%1)

## 4.5. Furfural

### 4.5.1. Furfural analizinin validasyon sonuçları

Furfural analizi için gerçekleştirilen validasyon çalışmaları kapsamında doğrusallık, tespit sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ) ile %geri kazanım değerleri belirlenmiştir.

Furfural için hazırlanan kalibrasyon grafiğinin 0.1 mg/L – 10 mg/L konsantrasyon aralığında regresyon katsayısı ( $R^2$ ) 0.9996 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.27). Bu değer, oluşturulan kalibrasyon grafiğinin çalışılan konsantrasyon aralığında doğrusal olduğunu göstermektedir. Furfural için LOD değeri 7.7 µg/100g, LOQ değeri ise 25.8 µg/100g olarak bulunmuştur. Furfural için geri kazanım değeri ise ortalama  $97.5 \pm 2.11$  olarak tespit edilmiştir.



**Şekil 4.27.** Furfural kalibrasyon grafiği

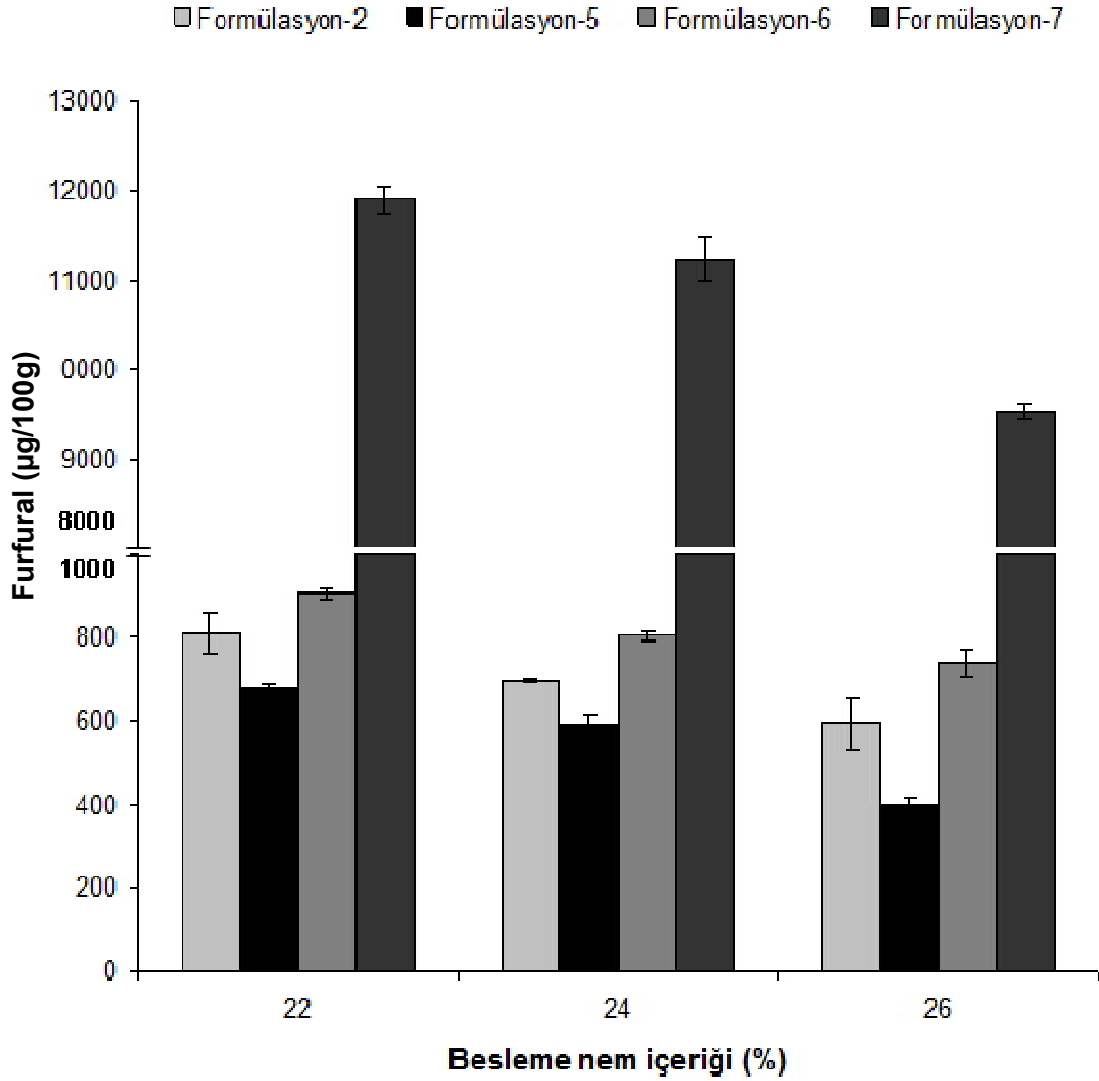
#### 4.5.2. Kabartma ajanları ve sitrik asidin furfural oluşumu üzerine etkisi

Genellikle asidik tuzlar içeren hamur kabartma ajanları, bileşiminde yer aldıkları hamura ilave edildiğinde, ortamda gaz oluşturarak kullanıldıkları ürün içerisinde gözeneklerin oluşmasını ve büyümesini sağlar. Öte yandan bu kimyasallar ortam pH'sını değiştirerek, pişirme sırasında meydana gelen kimyasal reaksiyonları etkilemektedir. Bu aşamada pH değişiminin furfural oluşumu üzerine etkilerini takip etmek amacıyla kabartma ajanlarını içeren Formülasyon 5 ve Formülasyon 6'nın yanı sıra bileşiminde %1 (w/w) oranında sitrik asit içeren Formülasyon 7 ile de ekstrüzyon ürünleri üretilmiştir.

Bir pentoz şeker olan D-riboz içeren Formülasyon 2, Formülasyon 5, Formülasyon 6 ve Formülasyon 7 kullanılarak 150°C namlu sıcaklığı ve farklı besleme nem içeriklerinde (%22, 24, 26) üretilen ekstrüzyon ürünlerinin furfural düzeyleri belirlenmiş ve elde edilen veriler Şekil 4.28'de gösterilmiştir.

Grafik değerlendirildiğinde en yüksek furfural seviyesi (11901.3 µg/100 g) Formülasyon 7 kullanılarak 150°C namlu sıcaklığı ve %22 besleme nem içeriğinde üretilen örneklerde tespit edilmiştir.





**Şekil 4.28.** Kabartma ajanları ve sitrik asidin furfural oluşumu üzerine etkisi

- Formülasyon 2: D-riboz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu  
 Formülasyon 5: Formülasyon 2 + sodyum bikarbonat (%1)  
 Formülasyon 6: Formülasyon 2 + amonyum bikarbonat (%1)  
 Formülasyon 7: Formülasyon 2 + sitrik asit (%1)

Sabit sıcaklıkta (150°C) tüm besleme nem içeriklerinde sodyum bikarbonat içeren Formülasyon 5 ile üretilen örneklerin furfural değerleri Formülasyon 2 ile üretilenlere oranla önemli ölçüde azalırken; amonyum bikarbonat içeren Formülasyon 6 kullanılan örneklerde ise bu değerde önemli ölçüde artış gözlenmiştir ( $p < 0.05$ ). Aynı üretim koşullarında sitrik asit içeren Formülasyon 7 kullanılarak üretilen örneklerden elde edilen furfural miktarları diğer formülasyonlar

ile kıyaslandığında tespit edilen artış önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Bu durum sitrik asitten kaynaklanan pH düşüşü ile açıklanabilir. D-riboz içeren Formülasyon 2, Formülasyon 5, Formülasyon 6 ve Formülasyon 7 ile üretilen örneklerin pH değişimleri Çizelge 4.4'te sunulmuştur.

**Çizelge 4.4.** Kabartma ajanları ve sitrik asit uygulamasının ürün pH değerleri üzerine etkisi

Yöntem*	Namlu Sıcaklığı (°C)	Besleme Nemi (%)	CO <sub>2</sub> Basıncı (psi)	pH
Formülasyon 2	150	22	0**	5.47
	150	24	0	5.64
	150	26	0	5.85
Formülasyon 5	150	22	0	7.73
	150	24	0	7.83
	150	26	0	8.46
Formülasyon 6	150	22	0	7.30
	150	24	0	7.51
	150	26	0	7.76
Formülasyon 7	150	22	0	4.47
	150	24	0	4.52
	150	26	0	4.72

(\*) Her üretimde vida hızı 200 rpm ve ekstrüder çıkış kalıbı çapı 2 mm sabit tutulmuştur.

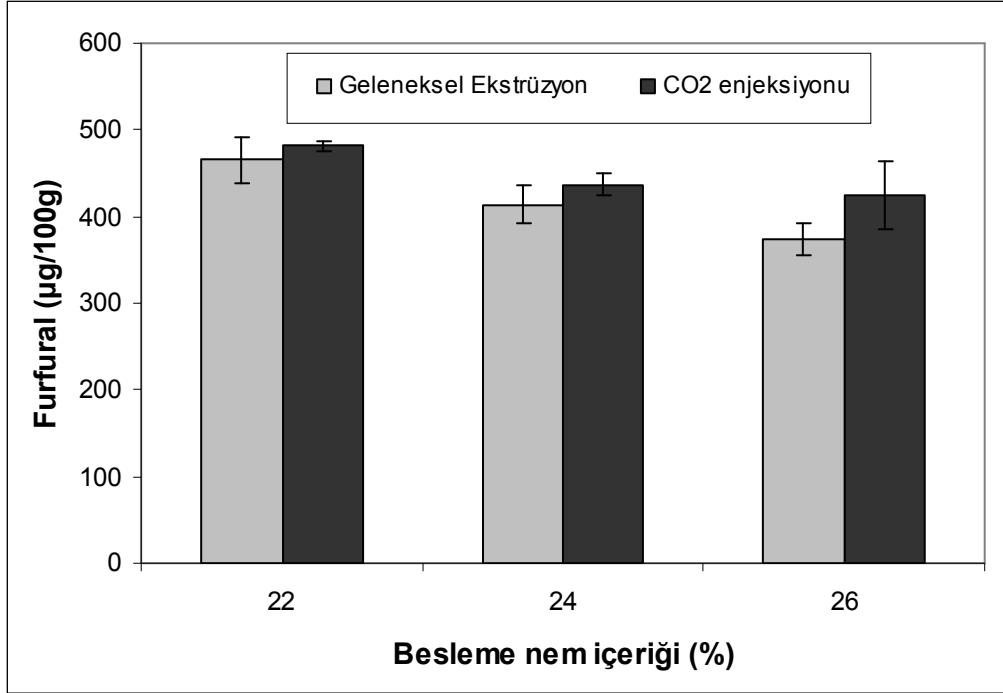
(\*\*) CO<sub>2</sub> basıncı uygulanmamıştır.

Sodyum bikarbonat ve amonyum bikarbonat son üründe pH artışına neden olurken, %1 (w/w) oranında ilave edilen sitrik asit pH değerinde azalmaya neden olmuştur.

Literatür incelendiğinde pH değerinde meydana gelen azalmanın Maillard reaksiyon hızını artırdığı ve düşük pH koşullarında HMF, furfural, metilfurfural gibi birçok tepkime ürününün oluştuğu çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur (Akkan et al., 2001; Espinosa Mansilla et al., 1992; Ferrer et al., 2002; Xu et al., 2003; Ameer et al., 2006; Olano and Martínez-Castro, 2004; Villamiel et al., 2006). Bu tez çalışması kapsamında pH değerinde meydana gelen azalmaya paralel olarak furfural miktarındaki artış önceki çalışmalarla uyum göstermektedir.

#### 4.5.3. Uygulanan ekstrüzyon yöntemlerinin furfural oluşumu üzerine etkisi

Formülasyon-2 kullanılarak 110°C namlu sıcaklığı ve farklı besleme nem içeriklerinde (%22, 24, 26) geleneksel ekstrüzyon ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemleri ile üretilen ekstrüzyon ürünlerinin furfural değerleri Şekil 4.29'da verilmiştir.



Şekil 4.29. Uygulanan ekstrüzyon yöntemlerinin furfural oluşumu üzerine etkisi

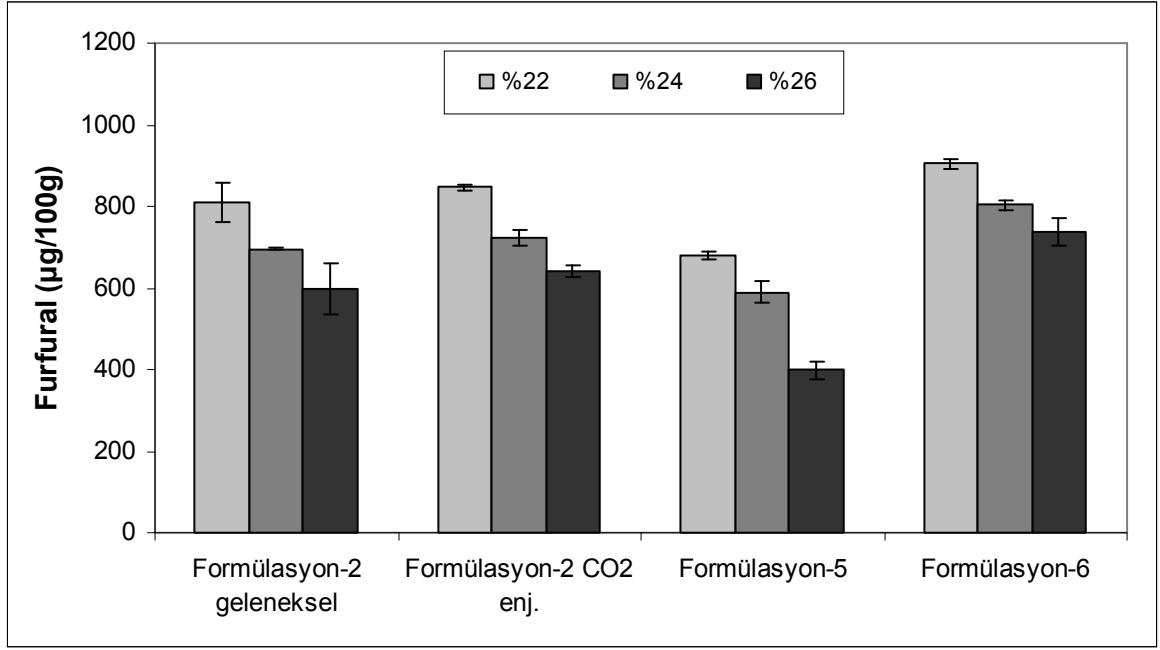
Formülasyon 2: D-riboz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu

Formülasyon 2 ile 110°C'de üretilen ekstrüzyon ürünlerinde besleme nem değerleri sabit tutularak furozin sonuçları karşılaştırıldığında, üretim yöntemleri arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmamıştır.

#### 4.5.4. Sistem parametrelerinin furfural oluşumu üzerine etkisi

##### 4.5.4.1. Besleme nem içeriğinin furfural oluşumu üzerine etkisi

Besleme nem içeriğinin furfural oluşumu üzerine etkisini araştırmak amacıyla, D-riboz içeren Formülasyon 2 (geleneksel ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemleri ile), Formülasyon 5 ve Formülasyon 6 kullanılarak 150°C namlu sıcaklığı ve farklı besleme nem içeriklerinde (%22, 24, 26) üretilen ekstrüzyon ürünlerinin furfural düzeyleri belirlenmiş ve elde edilen veriler Şekil 4.30'da sunulmuştur.



**Şekil 4.30.** Besleme nem içeriğinin furfural oluşumu üzerine etkisi

Formülasyon 2: D-riboz (%2), asparajın (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu

Formülasyon 5: Formülasyon 2 + sodyum bikarbonat (%1)

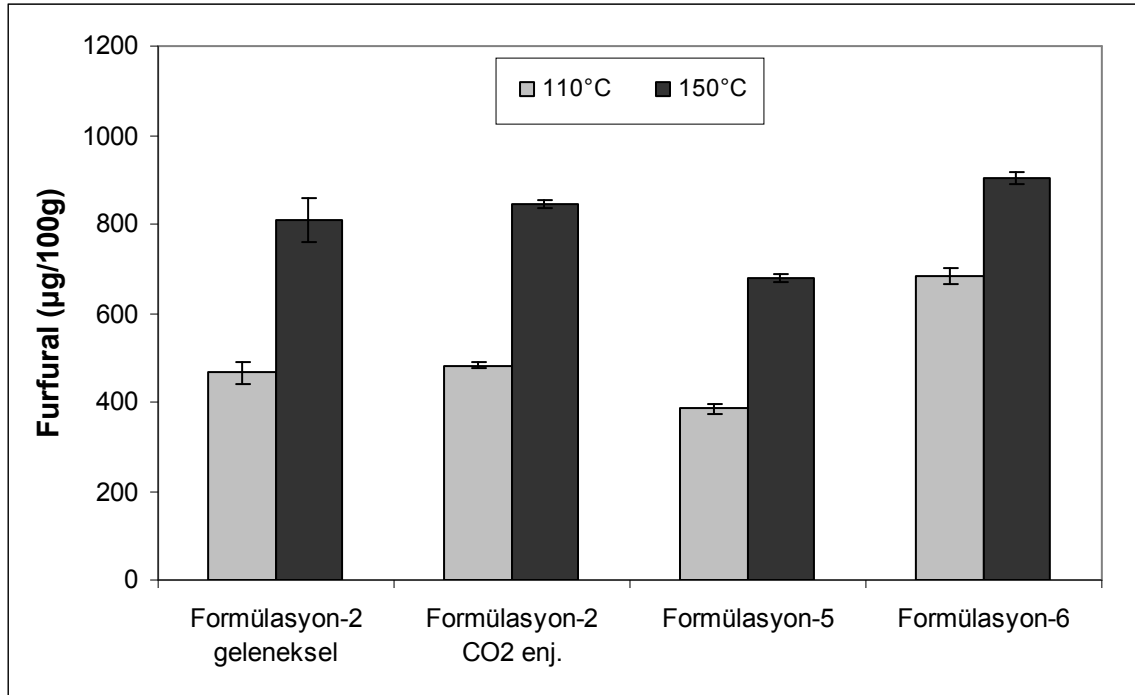
Formülasyon 6: Formülasyon 2 + amonyum bikarbonat (%1)

Şekil 4.30 incelendiğinde D-riboz içeren formülasyonlar kullanılarak 150°C namlu sıcaklığında üretilen tüm ekstrüzyon ürünlerinde besleme nem değerinin %22'den %26'ya artırılmasıyla furfural miktarında kademeli olarak azalma tespit edilmiştir. Meydana gelen bu düşüş her bir uygulama için istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Furfural düzeyinde en belirgin azalma yüksek nem içeriğinde (%26); sodyum bikarbonat içeren Formülasyon 5 ile üretilen örneklerde tespit edilmiştir.

Derişik asit çözeltilerinde ısıtıldıklarında aldopentozlar dehidrasyona uğrayarak furfurala dönüşür (Bölüm 4.4.4.1'de sunulan heksoz dehidrasyon mekanizması yoluyla HMF oluşumuna benzer şekilde). Bu reaksiyonun gerçekleşebilmesi için pentoz şekerin yapısından 3 molekül suyun ayrılması gerekir (BeMiller and Huber, 2008). Dolayısıyla, yüksek nem içeriğine sahip besleme karışımının furfural oluşumunu sınırlandırması beklenen bir durumdur. Nitekim tez çalışması kapsamında elde edilen bulguların literatür ile uyum içinde olduğu açıkça görülmektedir.

#### 4.5.4.2. Namlu sıcaklığının furfural oluşumu üzerine etkisi

Namlu sıcaklığının furfural oluşumu üzerine etkilerini araştırmak amacıyla, D-riboz içeren Formülasyon 2 (geleneksel ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemleri ile), Formülasyon 5 ve Formülasyon 6 kullanılarak 110 ve 150°C namlu sıcaklığında %22 besleme nem içeriğinde üretilen ekstrüzyon ürünlerinde furfural miktarı tespit edilmiş ve furfural seviyelerinde meydana gelen değişim Şekil 4.31'de verilmiştir.



**Şekil 4.31.** Namlu sıcaklığının furfural oluşumu üzerine etkisi

Formülasyon 2: D-riboz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu

Formülasyon 5: Formülasyon 2 + sodyum bikarbonat (%1)

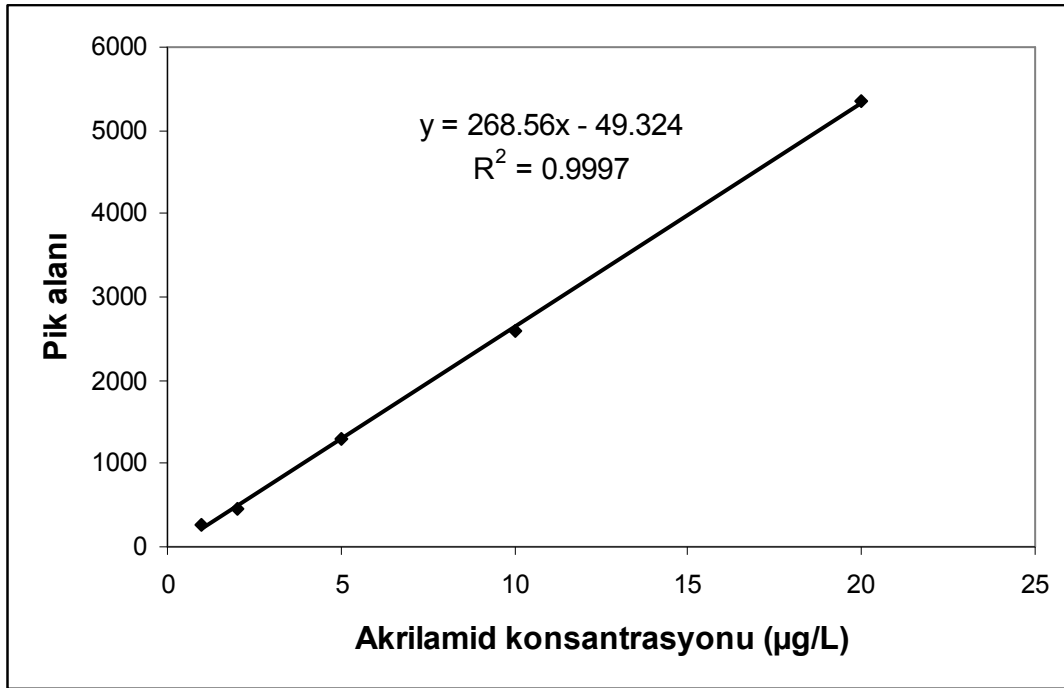
Formülasyon 6: Formülasyon 2 + amonyum bikarbonat (%1)

Namlu sıcaklığının 110°C'den 150°C'ye çıkarılmasıyla, Şekil 4.31'de sunulan tüm ekstrüzyon örneklerinde furfural değerlerinin önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ).

## 4.6. Akrilamid

### 4.6.1. Akrilamid analizinin validasyon sonuçları

Akrilamid kalibrasyon eğrisinin hazırlanmasında 1 µg/L – 20 µg/L aralığında farklı konsantrasyonlarda çalışma standart çözeltisi kullanılmıştır. Uygulanan metodun akrilamid konsantrasyonu ile orantılı olarak sonuç verebilme yeteneğini analiz etmek amacıyla, kalibrasyon eğrisinin denklemi ve regresyon katsayısı tespit edilmiş ve Şekil 4.32’de sunulmuştur.



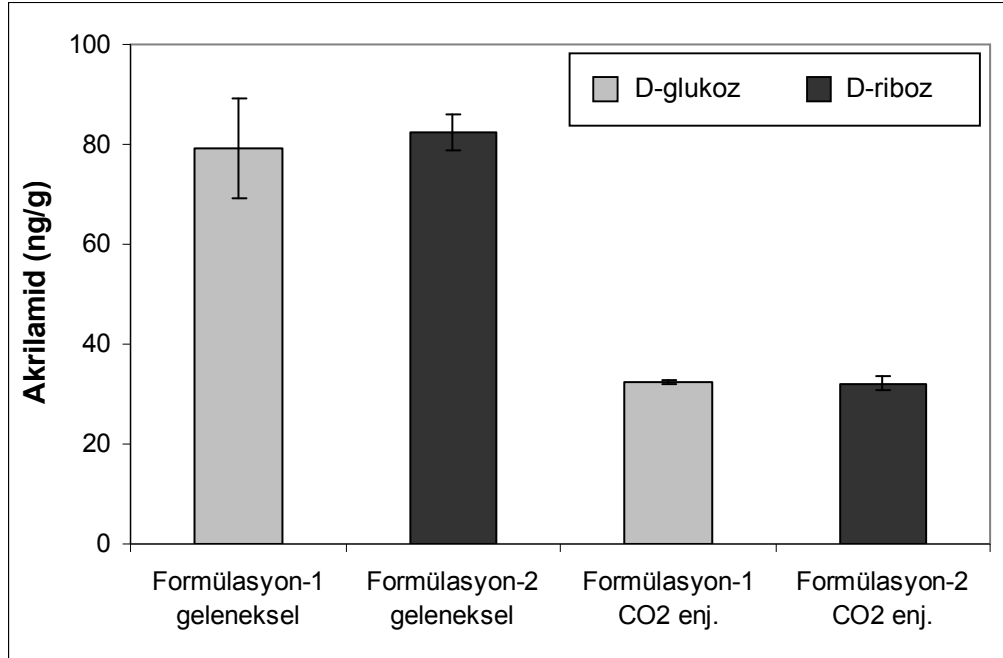
**Şekil 4.32.** Akrilamid kalibrasyon grafiği

Akrilamid için hazırlanan kalibrasyon grafiğinin 1 µg/L – 20 µg/L konsantrasyon aralığında regresyon katsayısı ( $R^2$ ) değeri 0.9997 olarak bulunmuştur. Bu değer, oluşturulan grafiğin çalışılan konsantrasyon aralığında doğrusal olduğunu göstermektedir. Akrilamid tayini için tespit sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ) değerleri sırasıyla 3 ng/g ve 10 ng/g olarak tespit edilmiştir. Akrilamid analizinde geri kazanım değeri ise >%95.0 olarak bulunmuştur.

## 4.6.2. Formülasyonun akrilamid oluşumu üzerine etkisi

### 4.6.2.1. Şeker tipinin akrilamid oluşumu üzerine etkisi

Şeker tipinin akrilamid oluşumu üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla, formülasyonunda D-glukoz içeren Formülasyon 1 (geleneksel ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemleri ile), Formülasyon 3, Formülasyon 4 ve D-riboz içeren Formülasyon 2 (geleneksel ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemleri ile), Formülasyon 5, Formülasyon 6 kullanılarak sabit namlu sıcaklığı (150°C) ve besleme nem içeriğinde (%22) üretilen ekstrüzyon ürünlerinin akrilamid miktarları Şekil 4.33 ve Şekil 4.34'te sunulmuştur.

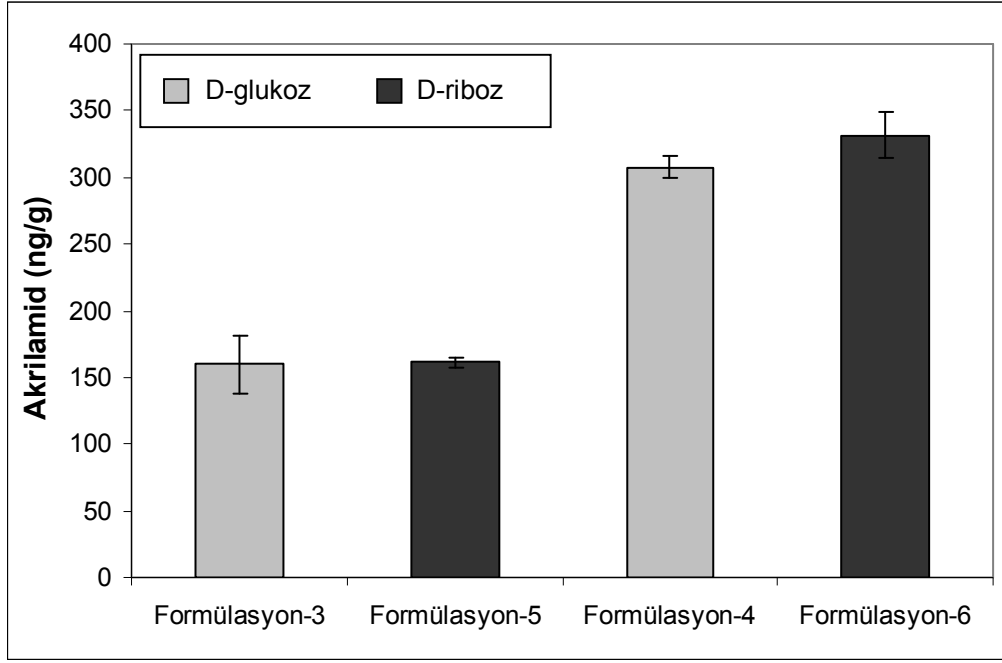


**Şekil 4.33.** Geleneksel ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemleri kullanılarak üretilen ekstrüzyon ürünlerinde şeker tipinin akrilamid oluşumu üzerine etkisi

Formülasyon 1: D-glukoz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu

Formülasyon 2: D-riboz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu

Şekil 4.33 incelendiğinde ne geleneksel ekstrüzyon nede CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemleri kullanılarak üretilen ekstrüzyon ürünlerinin akrilamid düzeyleri üzerine formülasyonlarda yer alan şeker tipinin dikkate değer bir etkisi gözlenmemiştir. Benzer bir eğilim olarak Şekil 4.34'te sunulan örneklerde de şeker tipinin akrilamid oluşumu üzerine etkisi önemli bulunmamıştır.



**Şekil 4.34.** Sodyum bikarbonat ve amonyum bikarbonat kullanılarak üretilen ekstrüzyon ürünlerinde şeker tipinin akrilamid oluşumu üzerine etkisi

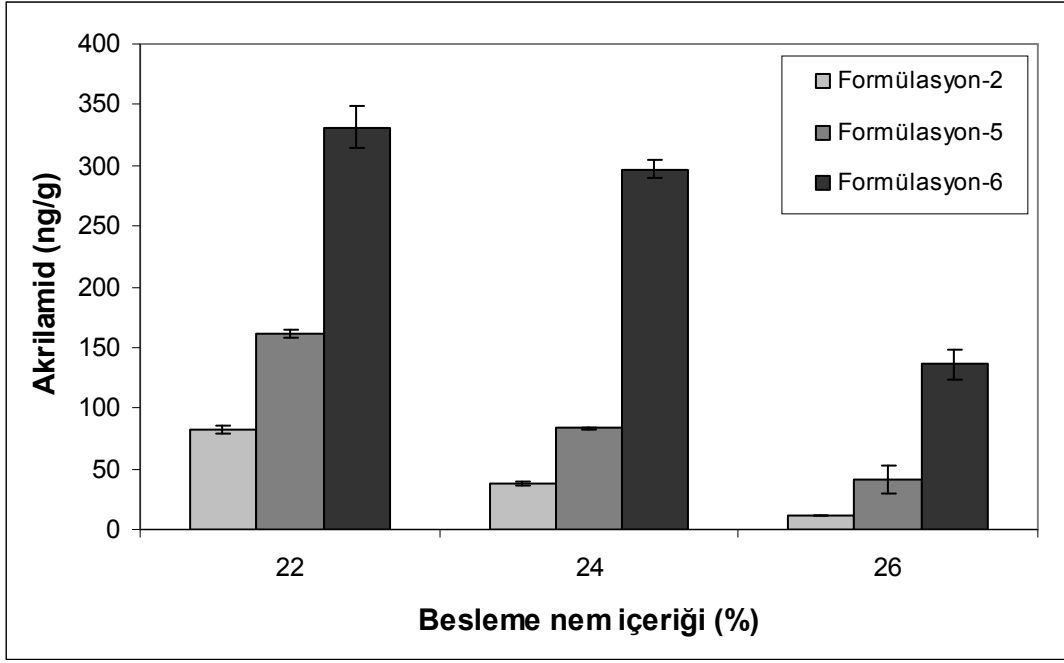
- Formülasyon 3: Formülasyon 1 + sodyum bikarbonat (%1)  
 Formülasyon 4: Formülasyon 1 + amonyum bikarbonat (%1)  
 Formülasyon 5: Formülasyon 2 + sodyum bikarbonat (%1)  
 Formülasyon 6: Formülasyon 2 + amonyum bikarbonat (%1)

Tez çalışması kapsamında üretilen ekstrüzyon ürünlerinde şeker tipinin akrilamid oluşumu üzerine önemli bir etkisinin olmaması nedeniyle, ileriki bölümlerde yer alan farklı parametrelerin akrilamid oluşum mekanizması üzerine etkileri araştırılırken sadece D-riboz şeker kullanılarak üretilen örnekler dikkate alınmıştır.

#### **4.6.2.2. Kabartma ajanlarının akrilamid oluşumu üzerine etkisi**

Kabartma ajanlarının akrilamid oluşumu üzerine etkilerini araştırmak amacıyla, bir pentoz şeker olan D-riboz içeren Formülasyon 2, Formülasyon 5 ve Formülasyon 6 kullanılarak 150°C namli sıcaklığı ve farklı besleme nem içeriklerinde (%22, 24, 26) üretilen ekstrüzyon ürünlerinin akrilamid düzeyleri tespit edilmiş ve elde edilen sonuçlar Şekil 4.35'te sunulmuştur.





**Şekil 4.35.** Kabartma ajanlarının akrilamid oluşumu üzerine etkisi

Formülasyon 2: D-riboz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu

Formülasyon 5: Formülasyon 2 + sodyum bikarbonat (%1)

Formülasyon 6: Formülasyon 2 + amonyum bikarbonat (%1)

Formülasyon 2 kullanılarak 150°C namli sıcaklığı ve %22 besleme nem içeriğinde üretilen ekstrüzyon ürünlerinde akrilamid düzeyi ortalama 82.5 ng/g olarak tespit edilmiştir. Kabartma ajanlarından sodyum bikarbonatın akrilamid oluşumu üzerine etkisini incelemek amacıyla, Formülasyon 5 kullanılarak elde edilen sonuçlar ile Formülasyon 2 verileri kıyaslandığında, tüm besleme nem içeriklerinde akrilamid miktarları önemli ölçüde artmıştır ( $p < 0.05$ ). Bu artış %22 besleme neminde yaklaşık 2 kat olarak tespit edilirken, %24 ve %26 besleme neminde üretilen örneklerde ise sırasıyla 2.2 ve 3.5 kat olarak belirlenmiştir. Diğer taraftan sodyum bikarbonat içeren Formülasyon 5 kullanılarak üretilen ekstrüzyon ürünleri içerisinde en yüksek akrilamid miktarı 150°C'de %22 besleme nem içeriğinde elde edilen örneklerde ortalama 161.7 ng/g olarak tespit edilmiştir. Bu değer aynı koşullarda amonyum bikarbonat içeren Formülasyon 6 ile üretilen örneklerin akrilamid seviyesinden yaklaşık 2.1 kat düşük bulunmuştur. Diğer bir ifadeyle amonyum bikarbonat akrilamid düzeyini önemli ölçüde artırmıştır ( $p < 0.05$ ).

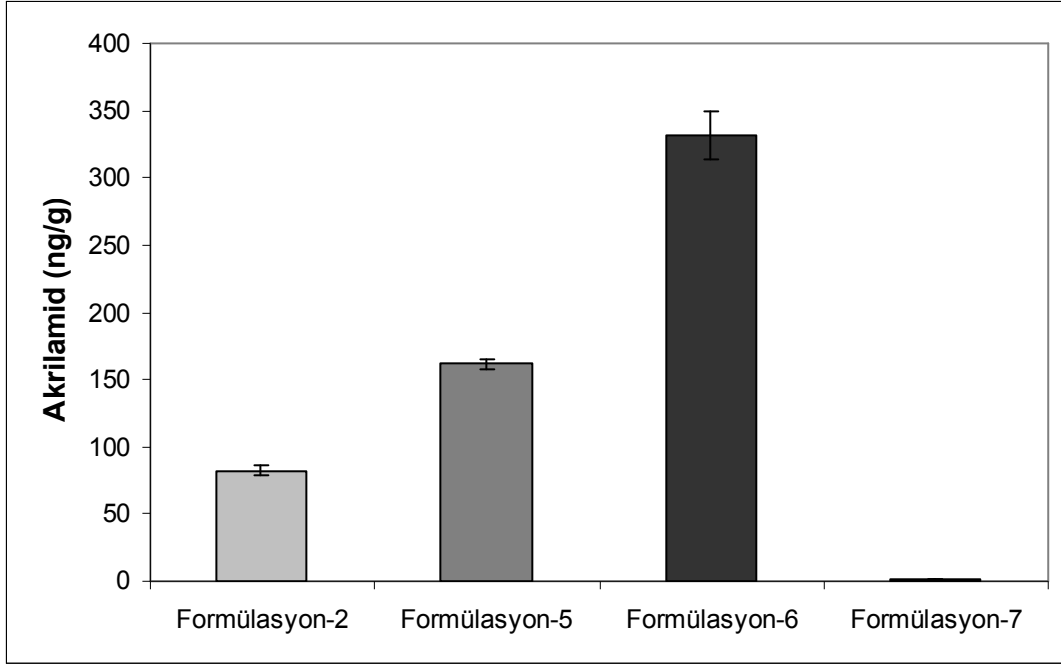
Farklı çalışmalarda amonyum bikarbonatın akrilamid oluşumunu teşvik ettiği (Amrein et al., 2004; Amrein et al., 2006) ve sodyum bikarbonat ile bu kabartma ajanı yer değiştirildiğinde ürünün akrilamid içeriğinin önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir (Amrein et al., 2004; Graf et al., 2006).

Amonyum bikarbonatın akrilamid oluşumunu teşvik edici etkisinin indirgen şekerlerin varlığına bağlı olduğu bulunmuştur. Bazı ürün formülasyonlarında amonyum bikarbonat bulunmasına rağmen indirgen şekerlerle sakaroz yer değiştirildiğinde akrilamid içeriğinin önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir (Amrein et al., 2004; Graf et al., 2006). Dolayısıyla, akrilamid oluşumu üzerine amonyum bikarbonatın geliştirici etkisinin dolaylı bir yoldan gerçekleştiği ve reaksiyonun ilerleyebilmesi için indirgen şekerlere gereksinim duyulduğu Amreain et al. (2006) tarafından rapor edilmiştir. Araştırmacılar bu durumun amonyum bikarbonattan açığa çıkan amonyak ile indirgen şekerlerin reaksiyona girmesi sonucu gliseraldehit, glioksal, metilglioksal gibi reaktif şeker fragmentlerinin oluşumuna bağlı olduğunu ileri sürmüşlerdir. Oluşan bu şeker fragmentleri de serbest asparajin ile reaksiyona girmekte, glukoz veya fruktoz ile asparajin arasında meydana gelen reaksiyonla kıyaslandığında daha yüksek miktarda akrilamid oluşumuna neden olmaktadır (Amrein et al., 2004; Amrein et al., 2006). Bu tez çalışması kapsamında elde edilen bulgular literatürle uyum göstermektedir.

#### **4.6.2.3. Sitrik asidin akrilamid oluşumu üzerine etkisi**

Akrilamid oluşumunu sınırlamada kullanılan önemli stratejilerden biri de ortam pH'sının düşürülmesidir. Bu amaçla genellikle ısıtılma işlemi öncesinde formülasyona sitrik asit veya tartarik asit gibi organik asitlerin ilave edilmesi önerilmektedir (Jung et al., 2003; Amrein et al., 2004; Graf et al., 2006).

Bu tez çalışması kapsamında pH değişiminin akrilamid oluşumu üzerine etkilerini takip etmek amacıyla kabartma ajanlarını içeren Formülasyon 5 ve Formülasyon 6'ya ek olarak bileşiminde %1 (w/w) oranında sitrik asit içeren Formülasyon 7 ve sadece Formülasyon 2 kullanılarak 150°C namlu sıcaklığında %22 besleme nem içeriğinde üretilen ekstrüzyon ürünlerinin akrilamid miktarındaki değişim Şekil 4.36'da verilmiştir.



**Şekil 4.36.** Sitrik asidin akrilamid oluşumu üzerine etkisi

- Formülasyon 2: D-riboz (%2), asparajın (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu  
 Formülasyon 5: Formülasyon 2 + sodyum bikarbonat (%1)  
 Formülasyon 6: Formülasyon 2 + amonyum bikarbonat (%1)  
 Formülasyon 7: Formülasyon 2 + sitrik asit (%1)

Formülasyon 2'nin bileşimine %1 (w/w) oranında ilave edilen sitrik asit; son üründe akrilamid miktarının 82.5 ng/g değerinden 1.2 ng/g değerine düşmesine neden olmuştur (Şekil 4.36). Ancak bu değer LOD ve LOQ değerlerinin altındadır. Grafikte görüldüğü gibi kabartma ajanları (Formülasyon 5 ve Formülasyon 6) akrilamid oluşumunu teşvik ederken, sitrik asit akrilamid oluşumunu önemli seviyede sınırlandırmıştır ( $p < 0.05$ ). Bu durum farklı formülasyonlardan kaynaklanan pH değişimi ile açıklanabilir (Bölüm 4.5.2; Çizelge 4.4).

Isıl işlem öncesinde organik asit ilavesi ile pH değerinin azaltılmasına bağlı olarak akrilamid oluşumunun sınırlandırılabilceği çeşitli çalışmalarla ortaya konulmuştur (Jung et al., 2003; Amrein et al., 2004; Graf et al., 2006; Gökmen et al., 2007; Mestdagh et al., 2008; Mulla et al., 2011). Jung et al. (2003) araştırmalarında, %0.2' lik sitrik asit uygulamasıyla kızartılmış ve fırınlanmış mısır cipslerinde akrilamid seviyesinin sırasıyla yaklaşık %82 ve %73 azaldığını rapor etmişlerdir. Buna ek olarak araştırmacılar, kızartmadan önce %1 ve %2'lik sitrik asit

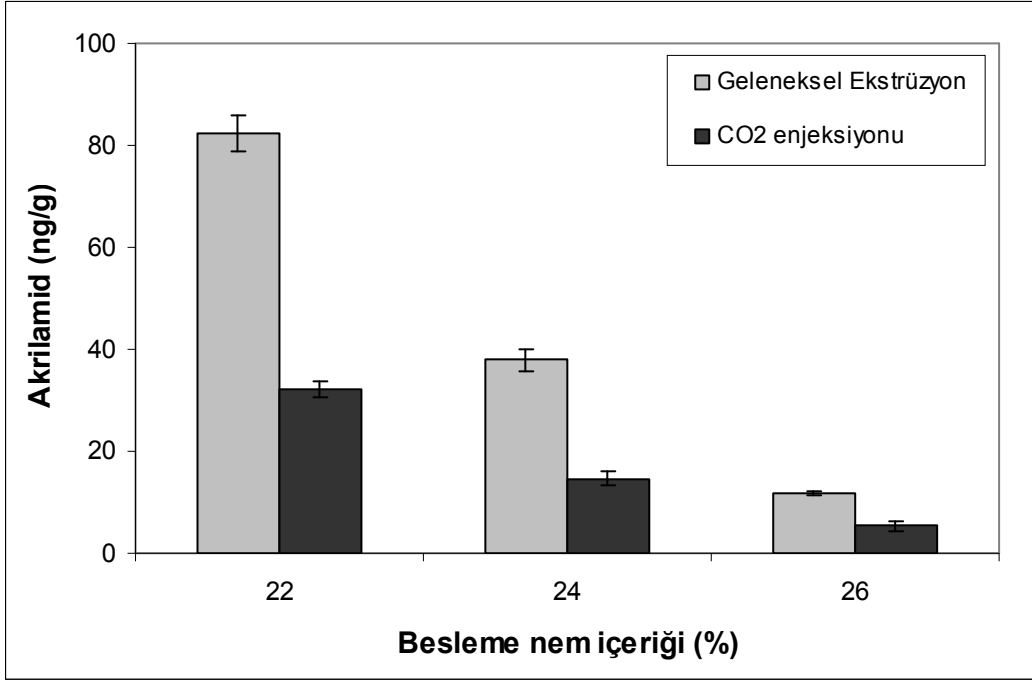
çözeltisinde 1 saat bekletilen patateslerde ise kızartma işleminden sonra akrilamid oluşumunun sırasıyla %73 ve %79 engellendiğini bildirmişlerdir.

Bir başka araştırmada ise, glukoz içeren bisküvi formülasyonuna sitrik asit ilave edildiğinde pH değerinin 7.40'tan 3.28'e düştüğü ve 205°C'de 11 dakika pişirme işleminden sonra akrilamid seviyesinin %67 azaldığı bildirilmiştir. (Gökmen et al., 2007). Akrilamid oluşumunun asitliğin artması ile sınırlandırılması asparajinin  $\alpha$ -amino grubunun protonasyonu sonucu N-glikozilamin oluşumunun engellemesi ile açıklanabilir (Jung et al., 2003; Gökmen et al., 2007). Bu tez kapsamında elde edilen sonuçlar literatürle uyum göstermektedir. Diğer taraftan hamur formülasyonuna ilave edilen sitrik asidin son üründe (bisküvilerde) istenmeyen tat ve renge neden olduğu ve dolayısıyla bu ürünlerin kabul edilebilirliklerinin düşük olduğu bildirilmiştir (Gökmen et al., 2007). Farklı bir çalışmada 100  $\mu$ mol/g un konsantrasyonunda ilave edilen sitrik asidin akrilamid oluşumunu %92 azalttığı ancak, duyu analizi sonucu nihai ürünün kabul edilebilir olmadığı rapor edilmiştir (Mulla et al., 2011).

#### **4.6.3. Uygulanan ekstrüzyon yöntemlerinin akrilamid oluşumu üzerine etkisi**

Geleneksel ekstrüzyon ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemlerinin akrilamid oluşumu üzerine etkisini incelemek amacıyla, Formülasyon-2 kullanılarak 150°C namlu sıcaklığı ve farklı besleme nem içeriklerinde (%22, 24, 26) geleneksel ekstrüzyon ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemleri ile üretilen ekstrüzyon ürünlerinin akrilamid değerleri tespit edilmiş ve elde edilen veriler Şekil 4.37'de sunulmuştur.

Şekil 4.37'de görüldüğü gibi CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yönteminin akrilamid oluşumu üzerine dikkate değer bir etkisi olduğu tespit edilmiştir. Formülasyon-2 kullanılarak 150°C namlu sıcaklığı ve %22 besleme nem içeriğinde geleneksel ekstrüzyon yöntemi ile üretilen örneklerin akrilamid miktarı 82.5 ng/g olarak bulunmuştur. Aynı formülasyon ve sistem parametreleri kullanılarak 75 psi basınçta uygulanan CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi ile üretilen ekstrüzyon ürünlerinde ise bu değer yaklaşık %61 azalmış ve 32.2 ng/g olarak tespit edilmiştir.



**Şekil 4.37.** Uygulanan ekstrüzyon yöntemlerinin akrilamid oluşumu üzerine etkisi

Formülasyon 2: D-riboz (%2), asparajın (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu

Tüm sistem parametreleri sabit tutulup %24 nem içeriğinde CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi ile üretilen örneklerin akrilamid miktarında, geleneksel yöntemle üretilen örneklere kıyasla %61.5 azalma; %26 besleme nem içeriğinde ise yaklaşık %55.5 azalma gösterdiği belirlenmiştir. CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi ile %26 besleme nem içeriğinde üretilen örneğin akrilamid miktarı 5.30 ng/g olup, bu değer LOQ değerinin altındadır. Şekil 4.37’de sunulan veriler bir arada değerlendirildiğinde CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yönteminin tüm besleme nem içeriklerinde akrilamid oluşumunu önemli ölçüde sınırlandırdığı tespit edilmiştir (p<0.05).

Literatür incelendiğinde son yıllarda akrilamid oluşumunu sınırlandırma stratejileri arasında reçete ve formülasyonlardaki değişiklikler (akrilamid öncülleri düşük patates ve hububat çeşitlerinin seçilmesi; proteinler, amino asitler, organik asitler ve asit düzenleyiciler; Ca<sup>2+</sup> veya Mg<sup>2+</sup> gibi divalent katyonların ilavesi; doğal antioksidanlar veya antioksidan ekstraktlarının ilavesi; indirgen şekerler yerine sakarozun ve amonyum bikarbonat yerine sodyum bikarbonatın kullanılması gibi) ya da proses koşullarında ve/veya teknolojilerdeki değişiklikleri (kızartma veya pişirme proseslerinde sıcaklık-zaman profillerinin değiştirilmesi; fırın tipinin değiştirilmesi, fermentasyon süresinin uzatılması gibi) kapsayan birçok uygulama

yer almaktadır (Claus et al., 2008; Capuano and Fogliano, 2011). Ancak, ekstrüzyon uygulamalarında CO<sub>2</sub> enjeksiyonunun akrilamid oluşum mekanizması üzerine etkisi konusunda herhangi bir literatür bilgisine rastlanmamıştır.

Akrilamid oluşumunda ilk basamak, serbest asparajinin  $\alpha$ -amino grubu ile bir karbonil kaynağının reaksiyona girerek Schiff bazı oluşturmasıdır. Daha sonraki aşamada ısıtmanın da etkisiyle ortamdan karbondioksitin eliminasyonu ile dekarboksilatların oluştuğu öne sürülmüştür. Dekarboksile Schiff bazı ya ısıtmanın etkisiyle doğrudan akrilamid oluşturmakta ya da amonyağın eliminasyonu ile akrilamide dönüşebilen 3-APA'ya degrade olmaktadır (Zyzak et al., 2003). Maillard reaksiyonu yoluyla akrilamid oluşum mekanizması (Bölüm 2.4.3.1; Şekil 2.7) üzerinde kilit role sahip en önemli basamaklardan biri Schiff bazı oluşumundan sonra ısıtmanın etkisi ile dekarboksilasyonun meydana gelmesidir. Eğer ekstrüderler proses reaktörleri gibi düşünülecek olursa, namluya belirli oranda CO<sub>2</sub> enjekte edilmesiyle dekarboksile Schiff bazı oluşmadan önce anılan bu reaksiyon zincirinin bloke olması beklenir. Dolayısıyla, Maillard reaksiyonu üzerinden akrilamid oluşumu sınırlandırılmış ya da engellenmiş olabilir. Bu tez çalışması kapsamında yüksek namlu sıcaklığı (150°C) uygulamalarında dahi etkin bir şekilde CO<sub>2</sub> enjeksiyonu gerçekleştirilmiş ve akrilamid oluşumunda dikkate değer bir azalma tespit edilmiştir. CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yönteminin ekstrüzyon ürünlerinin üretiminde güvenilir alternatif bir yol olduğu ve akrilamid oluşumunun sınırlandırılmasına yönelik ileriki çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.

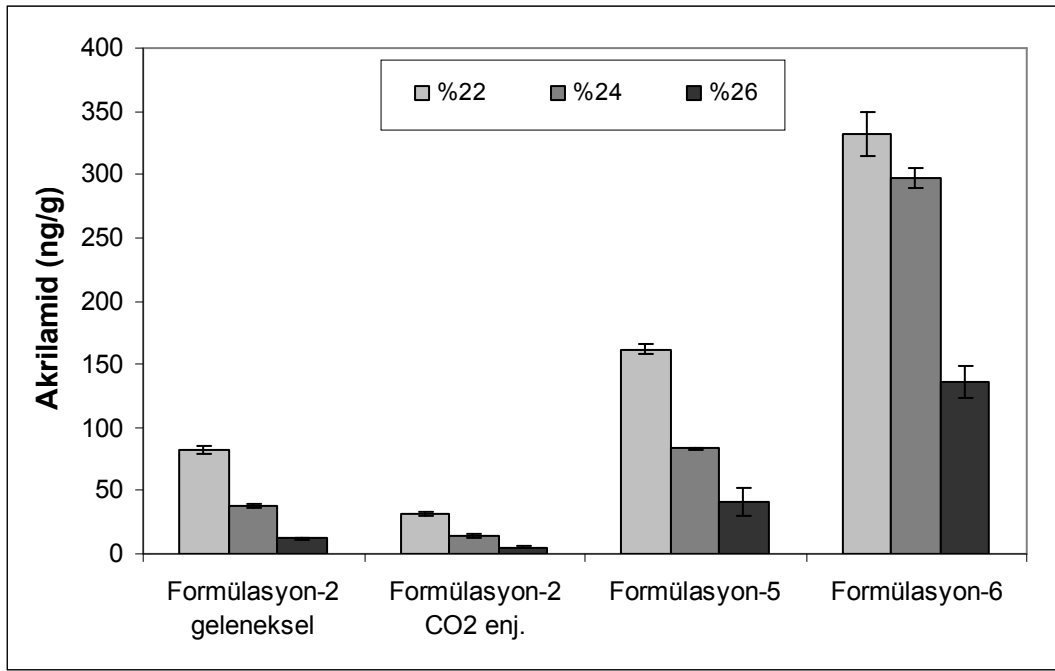
#### **4.6.4. Sistem parametrelerinin akrilamid oluşumu üzerine etkisi**

##### **4.6.4.1. Besleme nem içeriğinin akrilamid oluşumu üzerine etkisi**

Akrilamid oluşumu üzerine besleme nem içeriğinin etkisini araştırmak amacıyla, D-riboz içeren Formülasyon 2 (geleneksel ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemleri ile), Formülasyon 5 ve Formülasyon 6 esas alınarak 150°C namlu sıcaklığı ve farklı besleme nem içeriklerinde (%22, 24, 26) üretilen ekstrüzyon ürünlerinin akrilamid miktarları belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar Şekil 4.38'de gösterilmiştir.

Grafik incelendiğinde besleme nem içeriğinin akrilamid oluşumunu dikkate değer bir biçimde etkilediği görülmektedir. Formülasyon 2 kullanılarak 150°C namlu

sıcaklığı ve %22 besleme nem içeriğinde üretilen ekstrüzyon ürünlerinin akrilamid seviyesinde, nem içeriğinin artırılmasına (%24, 26) paralel olarak kademeli bir düşüş tespit edilmiştir. Bu azalma eğilimi Şekil 4.38'de verilen diğer örneklerde de görülmektedir ve besleme nem içeriğinin artırılmasıyla akrilamid miktarında meydana gelen azalma tüm örneklerde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).



**Şekil 4.38.** Besleme nem içeriğinin akrilamid oluşumu üzerine etkisi

Formülasyon 2: D-riboz (%2), asparajin (500 ppm), soya protein izolatı (%5), beyaz mısır unu

Formülasyon 5: Formülasyon 2 + sodyum bikarbonat (%1)

Formülasyon 6: Formülasyon 2 + amonyum bikarbonat (%1)

En düşük akrilamid seviyesi Formülasyon 2 kullanılarak 150°C namlu sıcaklığı ve %26 besleme nem içeriğinde CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi ile üretilen ekstrüzyon ürünlerinde tespit edilmiştir (5.30 ng/g). Bu değer, aynı koşullarda %22 besleme nem içeriğinde üretilen örneklerin akrilamid miktarı ile kıyaslandığında yaklaşık %84 azalma olduğunu ifade etmektedir, ancak LOQ değerinin altındadır.

Formülasyon 2 kullanılarak %22 besleme neminde geleneksel ekstrüzyon yöntemi ile üretilen örnek ile karşılaştırıldığında, CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi ile %26 besleme

nem içeriğinde üretilen örneğin akrilamid düzeyinde daha yüksek oranda (%94) azalma tespit edilmiştir. Gözlenen bu dikkate değer azalma, akrilamid oluşum mekanizmasında gerçekleşen dekarboksilasyon ve dehidrasyon basamaklarının CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi ile yüksek besleme nem içeriğinde önemli ölçüde sınırlandırılması ile açıklanabilir.

#### **4.6.4.2. Namlu sıcaklığının akrilamid oluşumu üzerine etkisi**

Namlu sıcaklığının akrilamid oluşumu üzerine etkisini araştırmak amacıyla, D-riboz içeren Formülasyon 2 kullanılarak 110 ve 150°C namlu sıcaklığında ve farklı besleme nem içeriklerinde (%22, 24, 26) geleneksel ekstrüzyon yöntemi ile üretilen ekstrüzyon ürünlerinin akrilamid miktarları tespit edilmiş ve akrilamid seviyelerinde meydana gelen değişim Çizelge 4.5'te sunulmuştur.

**Çizelge 4.5. Namlu sıcaklığının akrilamid oluşumu üzerine etkisi**

Yöntem*	Namlu Sıcaklığı (°C)	Besleme Nemi (%)	Akrilamid (ng/g)
Formülasyon 2	110	22	<LOD
	110	24	<LOD
	110	26	<LOD
	150	22	82.5
	150	24	37.9
	150	26	11.9

Çizelge 4.5 incelendiğinde, tüm besleme nem içeriklerinde namlu sıcaklığının 110°C'den 150°C'ye çıkarılmasıyla elde edilen ekstrüzyon ürünlerinin akrilamid miktarları önemli ölçüde artmıştır ( $p < 0.05$ ). Formülasyon 2 kullanılarak 110°C namlu sıcaklığı ve %22 besleme nem içeriğinde üretilen örneklerde akrilamid miktarı ortalama 0.8 ng/g olarak tespit edilmiştir. Bu değer LOD değerinin altındadır. Formülasyon 2 ile 110°C namlu sıcaklığı, %24 ve %26 besleme nem içeriklerinde ise akrilamid tespit edilememiştir. Aynı koşullar altında sistem parametrelerinden sadece namlu sıcaklığının 150°C'ye çıkarılmasıyla bu değer



82.5 ng/g seviyesine yükselmiştir. Sıcaklığın artırılmasına paralel olarak akrilamid miktarındaki bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

Hem akrilamidin hem de kahve renkli ürünlerin yüksek sıcaklıklarda Maillard reaksiyonu sırasında oluştuğu bilinen bir gerçektir (Mottram et al., 2002; Stadler et al., 2002; Friedman, 2003; Friedman and Levin, 2008; Claus et al., 2008; Gökmen and Şenyuva, 2006; Capuano and Fogliano, 2011).

Mottram et al. (2002) araştırmalarında fosfat tamponunda hazırladıkları eşmolar asparajin-glukoz karışımını 185°C'ye ısıtarak akrilamid oluşumunu takip etmişlerdir. Araştırmacılar, asparajinden akrilamid oluşumunun sıcaklığa bağımlı olduğunu ve akrilamid oluşumu için 100°C'nin üzerindeki sıcaklık uygulamalarına gereksinim duyulduğunu bildirmişlerdir. Aynı araştırmada ayrıca, asparajin ve glukozun kuru karışımları (tampon çözelti olmaksızın) 185°C'ye ısıtıldığında ise eser miktarda akrilamid tespit edildiği bildirilmiştir (Mottram et al., 2002).

Gökmen et al. (2007) farklı formülasyonlar kullanarak ürettikleri bisküvilerde uygulanan sıcaklığın artırılmasına paralel olarak akrilamid miktarının arttığını ve zamana bağlı olarak belirli bir plato değerine ulaştığını rapor etmişlerdir.

## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada ekstrüzyon pişirme prosesinde sistem parametrelerinin ve formülasyonun Maillard reaksiyonu üzerine etkileri araştırılmıştır. İndirgen şekerler (D-glukoz, D-riboz), kabartma ajanları (sodyum bikarbonat, amonyum bikarbonat), soya protein izolatu, asparajin, sitrik asit ve beyaz mısır unu kullanılarak farklı ürün formülasyonları hazırlanmıştır. Bazı proses koşulları değiştirilerek bu formülasyonlardan geleneksel ekstrüzyon ve CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemleri ile ekstrüzyon ürünleri üretilmiştir. Elde edilen örneklerin fiziksel özelliklerinde meydana gelen değişimler ve proses sırasında oluşan bazı Maillard reaksiyon ürünleri takip edilmiştir.

Isıl işlem görmüş gıdalarda furozin içeriğinin belirlenmesi, esansiyel bir amino asit olan lizin kaybının değerlendirilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Tez çalışması kapsamında elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, şeker tipinin ve kabartma ajanlarının furozin oluşumu üzerine dikkate değer bir etkisi olduğu görülmektedir. Ekstrüzyonla pişirme işleminde formülasyona bir heksoz şeker olan D-glukoz yerine bir pentoz şeker olan D-riboz'un dahil edilmesi, furozin düzeyinin azalmasına neden olmuştur. Dolayısıyla yararlanılabilir lizin kaybının da azaldığı düşünülebilir. Ancak D-riboz'un da lizin ile reaksiyona girerek furozin dışında reaksiyon ürün/ürünleri oluşturabileceği göz ardı edilmemelidir. Bu nedenle ileriki çalışmalarda lizinle diğer şekerlerin reaksiyon ürünlerinin daha kapsamlı araştırılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir. Buna ek olarak, sodyum bikarbonat ve amonyum bikarbonat ilave edilerek üretilen ekstrüzyon ürünlerinde furozin içeriğinin önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir. Ekstrüzyon prosesi sırasında ısıl işlemin şiddeti artırıldıkça beklenen durumun aksine furozin miktarının düştüğü bulgulanmıştır.

Furfurallar genellikle, karbonhidratça zengin ürünlerin işlenmesi sırasında uygulanan ısıl işlemin şiddeti ve depolama etkisini değerlendirmek amacıyla tayin edilmektedir. Bu tez çalışması kapsamında ekstrüzyon pişirme işleminde uygulanan sistem parametrelerinin ve üretim aşamasında kullanılan bileşenlerin HMF ve furfural oluşumu üzerine etkileri araştırılmıştır. Elde edilen bulgular

değerlendirildiğinde, amonyum bikarbonat ilave edilerek üretilen ekstrüzyon ürünlerinde HMF miktarının sodyum bikarbonat kullanılarak üretilenlere kıyasla önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. Kabartma ajanlarının furfural oluşumu üzerine etkileri incelendiğinde ise, amonyum bikarbonatın furfural seviyesini önemli ölçüde artırdığı, sodyum bikarbonatın ise furfural oluşumunu sınırlandırdığı tespit edilmiştir. Bu nedenle ürün formülasyonu eğer kabartma ajanı kullanımını gerektiriyorsa, amonyum bikarbonat yerine sodyum bikarbonatın tercih edilmesi önerilebilir. Çalışmada ayrıca, formülasyona ilave edilen sitrik asidin furfural oluşumunu kayda değer bir şekilde artırdığı belirlenmiştir.

Gıdalara uygulanan ısı işlem sonucu insan sağlığı için olası zararlı etkiler gösteren bileşiklerden biri olan akrilamidin oluşumunun sınırlandırılmasına yönelik birçok strateji geliştirilmiştir. Ancak bu stratejilerden bazılarının yüksek maliyetli olması veya beraberinde yeni riskleri de getirmesi kullanım olanaklarını daraltmakta ve dolayısıyla alternatif yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla tez çalışması kapsamında formülasyonların ve sistem parametrelerinin akrilamid oluşumu üzerine etkileri de takip edilmiştir. Elde edilen bulgular değerlendirildiğinde, şeker tipinin (D-glukoz ve D-riboz) akrilamid oluşumu üzerine dikkate değer bir etkisi gözlenmemiştir. Diğer taraftan bu çalışmada kullanılan kabartma ajanlarının her ikisi de akrilamid miktarını önemli ölçüde artırmıştır. Bu çalışmada ayrıca formülasyona %1 (w/w) oranında ilave edilen sitrik asidin akrilamid miktarını önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir. Fakat organik asit ilavesi ile asitliğin yükseltilmesine bağlı olarak istenmeyen tat, renk ve tekstürün oluşması, ürün kabul edilebilirliklerinin düşük olması ve HMF/furfural düzeyini artırması nedenleriyle kullanımı önerilmemektedir.

Proses sırasında uygulanan şiddetli ısı işlemin Maillard reaksiyon hızını artırdığı ve Maillard reaksiyon ürünlerinin oluşumunu teşvik ettiği bilinmektedir. Tez çalışmasında tespit edilen veriler değerlendirildiğinde, beklenildiği gibi namlu sıcaklığının artırılmasına paralel olarak HMF, furfural ve akrilamid düzeylerinin arttığını göstermektedir. Diğer taraftan bu değerlerin besleme nem içeriğinin artırılmasına bağlı olarak genellikle kademeli bir şekilde azaldığı belirlenmiştir.

Bu tez çalışması kapsamında uygulanan ekstrüzyon yöntemlerinin Maillard reaksiyon ürünlerinin oluşumu üzerine etkilerini takip edebilmek amacıyla CO<sub>2</sub>

enjeksiyonu yüksek namlu sıcaklıklarında da gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bulgular değerlendirildiğinde, CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yönteminin furozin ve furfural oluşumu üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Düşük namlu sıcaklığında CO<sub>2</sub> enjeksiyonu uygulamasının HMF oluşumunu bir miktar artırdığı ancak yüksek namlu sıcaklığında ise HMF içeriği açısından yöntemler arasında fark olmadığı tespit edilmiştir.

Maillard reaksiyonu yoluyla akrilamid oluşum mekanizması üzerinde kilit role sahip en önemli basamaklardan biri Schiff bazı oluşumundan sonra ısıtmanın etkisi ile dekarboksilasyonun meydana gelmesi ve dekarboksile Schiff bazı oluşumudur. Eğer ekstrüderler proses reaktörleri gibi düşünülecek olursa, namluya belirli oranda karbondioksit beslenmesiyle dekarboksile Schiff bazı oluşmadan önce anılan bu reaksiyon zincirinin bloke olması beklenir. Dolayısıyla, Maillard reaksiyonu üzerinden akrilamid oluşumunun sınırlandırılması ya da engellenmesi mümkün görülmektedir. Tez çalışması kapsamında benimsenen bu hipotez ışığında 150°C namlu sıcaklığında sisteme 75 psi basınçta CO<sub>2</sub> enjeksiyonu gerçekleştirilmiş ve akrilamid oluşumu yaklaşık %61 oranında sınırlandırılmıştır.

Bu tez çalışması kapsamında ayrıca, üretilen ekstrüzyon ürünlerinin bazı fiziksel özellikleri de takip edilmiştir. Elde edilen bulgular değerlendirildiğinde, CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yönteminde düşük sıcaklık uygulamalarının ekstrüzyon ürünlerinde genişlemeyi teşvik ettiği, yüksek sıcaklık uygulamalarında ise tersi bir durum gözleendiği belirlenmiştir. Bununla birlikte her iki namlu sıcaklığında da CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yöntemi kullanılarak üretilen örneklerin yüzeylerinin daha üniform ve gözenek dağılımlarının daha homojen olduğu gözlenmiştir. Yürütülen tez çalışmasında ayrıca Gİ değerleri ile motor torku değerleri arasında pozitif, YY değerleri ile de negatif bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir.

Bu tez çalışması ekstrüzyon ürünlerinde hammadde formülasyonuna ve proses koşullarına bağlı olarak bazı Maillard reaksiyon ürünlerinin oluşabileceğini açıkça göstermektedir. Bunlar arasında “insanlar için olası karsinojen” olarak tanımlanan akrilamid oluşumunun sınırlandırılmasına yönelik uygulanan CO<sub>2</sub> enjeksiyonu yönteminin ekstrüzyon ürünlerinin üretiminde güvenilir bir alternatif yaklaşım olduğu bu araştırma ile ilk kez ortaya konmuştur.

## KAYNAKLAR

- Abramson-Zetterberg, L., Wong, J., Ilbäck, N.G., 2005, Acrylamide tissue distribution and genotoxic effects in a common viral infection in mice, *Toxicology*, 211, 70-76.
- Akdogan, H., 1996, Pressure, torque, and energy responses of a twin screw extruder at high moisture contents, *Food Research International*, 29 (5-6), 423-429.
- Akkan, A.A., Özdemir, Y., Ekiz, H.L., 2001, Derivative spectrophotometric determination of 5(hydroxymethyl)-2-furaldehyde HMF and furfural in Locust an extract, *Nahrung/Food*, 45(1), 43-46.
- Allen, K.E., Carpenter, C.E., Walsh, M.K., 2007, Influence of protein level and starch type on an extrusion-expanded whey product, *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 953-960.
- Ameur, L.A., Trystram, G., Birlouez-Aragon, I., 2006, Accumulation of 5-hydroxymethyl-2-furfural in cookies during the backing process: Validation of an extraction method, *Food Chemistry*, 98, 790–796.
- Amrein, T.M., Andres, L., Escher, F., Amadò, R., 2007, Occurrence of acrylamide in selected foods and mitigation options, *Food Additives and Contaminants*, 24,13-25.
- Amrein, T.M., Andres, L., Manzardo, G.G., Amadò, R., 2006, Investigations on the promoting effect of ammonium hydrogencarbonate on the formation of acrylamide in model systems, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 10523-10561.
- Amrein, T.M., Lukac, H., Andres, L., Perren, R., Escher, F., Amadò, R., 2005, Acrylamide in roasted almonds and hazelnuts, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 7819-7825.
- Amrein, T.M., Schönbacher, B., Escher, F., Amadò, R., 2004, Acrylamide in gingerbread: Critical factors for formation and possible ways for reduction, *J. Agric. Food Chem.*, 52, 4282-4288.
- Archer, M.C., Bruce, W.R., Chan, C.C., Corpet, D.E., Medline, A., Roncucci, L., et al., 1992, Aberrant crypt foci and microadenoma as markers for colon cancer, *Environmental Health Perspectives*, 98, 195-197.
- Barrett, A., Kaletunç, G., Rosenburg, S., Kenneth Breslauer, K., 1995, Effect of sucrose on the structure, mechanical strength and thermal-properties of corn extrudates, *Carbohydrate Polymers*, 26(4), 261-269.
- Barrett, A.H. and Peleg, M., 1992. Extrudate cell structure–texture relationships. *Journal of Food Science* 57, 1253–1257.

- Batisuti, J.P., Barros, R.M.C., Areas, J.A.G., 1991, Optimization of extrusion cooking process for chickpea (*Cicer arietinum* L.) defatted flour by response surface methodology, *Journal of Food Science*, 56, 1695-1698.
- Becalski, A., Lau, B.P.-Y., Lewis, D., Seaman, S.W., 2003, Acrylamide in foods: occurrence, sources, modeling, *J. Agric. Food Chem.*, 51, 802-808.
- BeMiller, J.N. and Huber, K.C., 2008, Carbohydrates. Damodaran, S., Parkin, K.L., Fennema, O.R. (eds.), *Fennema's Food Chemistry*, CRC Press, Boca Raton, pp.83-154.
- Berrios, J.D., Wood, D.F., Whitehand, L., Pan, J., 2004, Sodium bicarbonate and the microstructure, expansion and color of extruded black beans, *Journal of Food Processing and Preservation*, 28, 5, 321-335.
- Besaratinia, A. and Pfeifer, G.P., 2007, A review of mechanisms of acrylamide carcinogenicity, *Carcinogenesis*, 28, 519-528.
- Bhattacharya, M. and Hanna, M.A., 1988, Effect of lipids on the properties of extruded products, *J. of Food Science*, 51, 1230-1231.
- Bilgi Boyaci, B., Han, J-Y., Masatcioglu, M.T., Yalcin, E., Celik, S., Ryu, G-H., Koksel, H., 2012, Effects of cold extrusion process on thiamine and riboflavin contents of fortified corn extrudates, *Food Chemistry*, 132, 2165-2170.
- Björck, I., Noguchi, A., Asp, N.-G., Cheftel, J.-C., Dahlqvist, A., 1983, Protein nutritional value of a biscuit processed by extrusion cooking: effects on available lysine, *J. Agric. Food Chem.*, 31, 488-492.
- Boopathy, R., Bokang, H., Daniels, L., 1993, Biotransformation of furfural and 5-hydroxymethyl furfural by enteric bacteria, *Journal of Industrial Microbiology*, 11(3), 147-150.
- Brands, C.M. and van Boekel, M.A.J.S., 2001, Reactions of monosaccharides during heating of sugar-casein systems: Building of a reaction network model, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4667-4675.
- Bruce, W.R., Archer, M.C., Corpet, D.E., Medline, A., Minkin, S., Stamp, D., et al., 1993, Diet, aberrant crypt foci and colorectal cancer, *Mutation Research*, 290, 111-118.
- Capuano E., Ferrigno A., Acampa I., Ameer, L.A., Fogliano, V., 2008, Characterization of the Maillard reaction in bread crisps, *European Food Research and Technology*, 228, 311-319.
- Capuano, E. and Fogliano, V., 2011, Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies, *LWT - Food Science and Technology*, 44, 793-810.

- Capuano, E., Ferrigno, A., Acampa, I., Serpen, A., Açar, Ö.Ç., Gökmen, V., et al., 2009, Effect of flour type on Maillard reaction and acrylamide formation during toasting of bread crisp model systems and mitigation strategies, *Food Research International*, 42, 1295-1302.
- Carpenter, K.J., 1960, The estimation of the available lysine in animal- protein foods, *Biochem. J.*, 77, 604-610.
- Carvalho, C.W.P. and Mitchell, J.R., 2000, Effect of sugar on the extrusion of maize grits and wheat flour, *International Journal of Food Science and Technology*, 35(6), 569-576.
- Carvalho, C.W.P. and Mitchell, J.R., 2001, Effect of sucrose on starch conversion and glass transition of nonexpanded maize and wheat extrudates, *Cereal Chemistry*, 78(3), 342-348.
- Case, S.E., Hamann, D.D., Schwartz, S.J., 1992, Effect of starch gelatinization on physical properties of extruded wheat- and corn based products, *Cereal Chemistry*, 69, 401-409.
- Chaiyakul, S., Jangchud, K., Jangchud, A., Wuttijumnong, P., Winger, R., 2009, Effect of extrusion conditions on physical and chemical properties of high protein glutinous rice-based snack, *LWT - Food Science and Technology*, 42, 781-787.
- Charissou, A., Ameer, L.A., Birlouez-Aragon, I., 2007, Kinetics of formation of three indicators of the Maillard reaction in model cookies: Influence of baking temperature and type of sugar, *J. Agric. Food Chem.*, 55, 4532-4539.
- Chen, F.L., Wei, Y.M., Zhang, B., Ojokoh, A.O., 2010, System parameters and product properties response of soybean protein extruded at wide moisture range, *Journal of Food Engineering*, 96, 208-213.
- Chessari C.J. and Sellahewa J.N., 2001, *Effective process control*. Edited by Guy, R., *Extrusion Cooking, Technologies and Applications*, CRC Pres Inc., FL, USA, pp.83-107.
- Chiang, G.H., 1983, A simple and rapid high-performance liquid chromatographic procedure for determination of furosine, a lysine reducing sugar derivative, *J. Agric. Food Chem.*, 31, 1373-1374.
- Chinnaswamy, R. and Hanna, M.A, 1988, Relationship between amylose content and extrusion-expansion properties of com starches, *Cereal Chem.*, 65, 138-143.
- CIAA, Confederation of the Food and Drink Industries of the EU, 2009, CIAA acrylamide "toolbox" -REV 12-February 2009. [www.ciaa.be/documents/acrylamide](http://www.ciaa.be/documents/acrylamide) (accessed November, 2012).
- Claus, A., Carle, R., Schieber, A., 2008, Acrylamide in cereal products: A review, *Journal of Cereal Science*, 47, 118-133.

- Claus, A., Weisz, G.M., Schieber, A., Carle, R., 2006, Pyrolytic acrylamide formation from purified wheat gluten and gluten-supplemented wheat bread rolls, *Molecular Nutrition and Food Research*, 49, 87-93.
- Cuzzoni, M.T., Stoppini, G., Gazzani, G., Mazza, P., 1988, Influence of water activity and reaction temperature of ribose-lysine and glucose-lysine Maillard systems on mutagenicity, absorbance and content of furfurals, *Food and Chemical Toxicology*, 26(10), 815-822.
- Davidek, T. and Davidek, J., 2003, Chemistry of the Maillard Reaction in Foods. Edited by Tomasik, P., *Chemical and Functional Properties of Food Saccharides*, CRC Press, USA., Chapter:18.
- de Mesa, N.J.E., Alavi, S., Singh, N., Shi, Y-C., Dogan, H., Sang, Y., 2009, Soy protein-fortified expanded extrudates: Baseline study using normal corn starch, *Journal of Food Engineering*, 90, 262–270.
- Delcour, J.A. and Hosney, R.C., 2010, *Principles of Cereal Science and Technology*. Third Edition, AACC, U.S.A.
- Delgado, T., Corzo, N., Santa-Maria, G., Jimeno, M.L., et al., 1992, Determination of furosine in milk samples by ion pair reversed phase liquid chromatography, *Chromatographia*, 33, 374-376.
- Delgado-Andrade, C., Rufián-Henares, J.A., Morales, F.J., 2005, Fast method to determine furosine in breakfast cereals by capillary zone electrophoresis, *Eur. Food Res. Technol. A*, 221, 707-711.
- Delgado-Andrade, C., Seiquer, I., Navarro, M.P., Morales, F.J., 2008, Estimation of hydroxymethylfurfural availability in breakfast cereals. Studies in Caco-2 cells, *Food and Chemical Toxicology*, 46, 1600-1607.
- Doerge, D.R., da Costa, G.G., McDaniel, L.P., Churchwell, M.I., Twaddle, N.C., Beland, F.A., 2005, DNA adducts derived from administration of acrylamide and glycidamide to mice and rats, *Mutation Research*, 580, 131-141.
- EFSA, 2009, Scientific report of EFSA prepared by data collection and exposure unit (DATEX) on “Monitoring of acrylamide levels in food”. The EFSA Scientific Report, 285, 1-26.
- Erbersdobler H.F. and Somoza V., 2007, Forty years of furosine – Forty years of using Maillard reaction products as indicators of the nutritional quality of foods, *Molecular Nutrition and Food Research*, 51, 423-430.
- Erbersdobler, H.F. and Zucker, H., 1966, Untersuchungen zum Gehalt an Lysin und verfügbarem Lysin in Trockenmagermilch, *Milchwiss.*, 21, 564-568.
- Erbersdobler, H.F., Hupe, A., 1991, Determination of lysine damage and calculation of lysine bio-availability in several processed foods, *Z. Ernährungswissenschaft*, 30, 46-49.



- Espinosa Mansilla, A., Salinas, F., Berzas Nevado, J.J., 1992, Differential determination of furfural and hydroxymethylfurfural by derivative spectroscopy, *Journal of AOAC International*, 75(4), 678-684.
- European Commission, 2002, Opinion of the Scientific Committee on Food on new findings regarding the presence of acrylamide in food, Brussel, Belgium, 16p. [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out131\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out131_en.pdf) (accessed December, 2012).
- European Commission, 2007, Commission recommendation 2007/331/EC: on the monitoring of acrylamide levels in food. *Official Journal*, L123, 33-40. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/> (accessed December, 2012).
- Fallico, B., Zappalà, M., Arena, E., Verzera, A., 2004, Effects of conditioning on HMF content in unifloral honeys, *Food Chemistry*, 85(2), 305-313.
- Fan, J., Mitchell, J.R., Blanshard, J.M.V., 1996, The effect of sugars on the extrusion of maize grits: I. The role of the glass transition in determining product density and shape, *International Journal of Food Science and Technology*, 31, 55-65.
- Farhat, I.A., Blanshard, J.M.V., Descamps, M., Mitchell, J.R., 2000, Effect of sugars on retrogradation of waxy maize starch-sugar extrudates, *Cereal Chemistry*, 77(2), 202-208.
- Farhat, I.A., Mousia, Z., Mitchell, J.R., 2003, Structure and thermomechanical properties of extruded amylopectin-sucrose systems, *Carbohydrate Polymers*, 52(1), 29-37.
- Faubion, J.M. and Hoseney, R.C., 1982, High-temperature short-time cooking of wheat starch and flour: I. Effect of moisture and flour type on extrudates properties, *Cereal Chem.*, 59, 529-533.
- Ferdinand, J.M., Clark, S.A., Smith, A.C., 1992, Structure formation in extrusion-cooked starch-sucrose mixtures by carbon dioxide injection, *Journal of Food Engineering*, 16, 283-291.
- Ferdinand, J.M., Lai-Fook, R.A., Ollett, A.-L., Smith, A.C., Clark, S.A., 1990, Structure formation by carbon dioxide injection in extrusion cooking, *Journal of Food Engineering*, 11, 209-224.
- Fernández-Artigas, P., Guerra-Hernández, E., García-Villanova, B., 1999, Browning indicators in model systems and baby cereals, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 47, 2872-2878.
- Ferrer, E., Alegría, A., Farré, R., Abellán, P., Romero, F., 2002, High-performance liquid chromatographic determination of furfural compounds in infant formulas, changes during heat treatment and storage, *Journal of Chromatography A*, 947(1), 85-95.
- Fichtali, J. and van de Voort, F.R., 1989, Fundamental and practical aspects of twin-screw extrusion, *Cereal Food World*, 34, 921-929.

- Friedman, M. and Levin, C.E., 2008, Review of methods for the reduction of dietary content and toxicity of acrylamide, *J. Agric. Food Chem.*, 56, 6113-6140.
- Friedman, M., 2003, Chemistry, biochemistry and safety of acrylamide. A review, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 4504-4526.
- García-Villanova, B., Guerra-Hernández, E., Martínez Gómez, E., Montilla, J., 1993, Liquid chromatography for the determination of 5-(hydroxymethyl)-2-furaldehyde in breakfast cereals, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 41, 1254-1255.
- Germond, J.E., Philippossian, G., Richli, U., Bracco, I., Arnaud, M.J., 1987, Rapid and complete urinary elimination of [14C]-5-(hydroxymethyl)-2-furaldehyde, *Journal of Toxicology and Environment Health*, 22(1), 79-89.
- Godfrey, V.B., Chen, L.J., Griffin, R.J., Lebetkin, E.H., Burka, L.T., 1999, Distribution and metabolism of (5-hydroxymethyl)furfural in male F344 rats and B6C3F1 mice after oral administration, *Journal of Toxicology and Environment Health Part A*, 57, 199-210.
- Gökmen, V. and Şenyuva, H.Z., 2006. Improved method for the determination of hydroxymethylfurfural in baby foods using liquid chromatography–mass spectrometry, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 2845-2849.
- Gökmen, V. and Senyuva, H.Z., 2007, Effects of some cations on the formation of acrylamide and furfurals in glucose-asparagine model system, *European Food Research and Technology*, 225, 815-820.
- Gökmen, V., Açar, Ö.C., Köksel, H., Açar, J., 2007, Effects of dough formula and baking conditions on acrylamide and hydroxymethylfurfural formation in cookies, *Food Chemistry*, 104, 1136-1142.
- Gökmen, V., Açar, Ö.C., Serpen, A., Morales, F.J., 2008, Effect of leavening agents and sugars on the formation of hydroxymethylfurfural in cookies during baking, *European Food Research and Technology*, 226, 1031-1037.
- Gökmen, V., Kocadağlı, T., Göncüoğlu, N., Ataç-Mogol, B., 2012, Model studies on the role of 5-hydroxymethyl-2-furfural in acrylamide formation from asparagine, *Food Chemistry*, 132, 168-174.
- Gökmen, V., Serpen, A., Çetinkaya-Açar, Ö., J. Morales, F.J., 2008, Significance of furosine as heat-induced marker in cookies, *Journal of Cereal Science*, 48, 843-847.
- Graf, M., Amrein, T.M., Graf, S., Szalay, R., Escher, F., Amadò, R., 2006, Reducing the acrylamide content of a semi-finished biscuit on industrial scale, *LWT-Food Science and Technology*, 39, 724-728.

- Granvogl, M. and Schieberle, P., 2006, Thermally generated 3-aminopropionamide as a transient intermediate in the formation of acrylamide, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 54, 5933-5938.
- Granvogl, M. and Schieberle, P., 2007, Quantification of 3-aminopropionamide in cocoa, coffee and cereal products. Correlation with acrylamide concentrations determined by an improved clean-up method for complex matrices. *European Food Research and Technology*, 225, 857-863.
- Granvogl, M., Jezussek, M., Koehler, P., Schieberle, P., 2004, Quantification of 3-aminopropionamide in potatoes: a minor but potent precursor in acrylamide formation, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52, 4751-4757.
- Guenther, H., Anklam, E., Wenzl, T., Stadler, R.H., 2007, Acrylamide in coffee: review of progress in analysis, formation and level reduction, *Food Additives and Contaminants*, 24, 60-71.
- Guy, R., 2001, *Extrusion Cooking, Technologies and Applications*, CRC Press Inc., FL, USA., 206p.
- Hagenimana, A., Ding, X., Fang, T., 2006, Evaluation of rice flour modified by extrusion cooking, *Journal of Cereal Science*, 43, 38-46.
- Hamlet, C.G. and Sadd, P.A., 2005, Effects of yeast stress and pH on 3-monochloropropanediol (3-MCPD)-producing reactions in model dough systems, *Food Additives and Contaminants*, 22, 616-623.
- Hamlet, C.G., Sadd, P.A., Gray, D.A., 2004, Generation of monochloropropanediols (MCPDs) in model dough systems. 1. Leavened doughs, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52, 2059-2066.
- Harper, J.M., 1989, *Food Extruders and Their Applications*. Mercier, C., Linko, P. and Harper, J.M. (eds.), *Extrusion Cooking*, American Association of Cereal Chemists, Inc. Minnesota, pp.1-15.
- Hayashi, N., Hayakawa, I., Fujio, Y., 1992. Hydration of heat-treated soy protein isolate and its effect on the molten flow properties at an elevated temperature, *International Journal of Food Science and Technology* 27, 565-571.
- Hodge, J.E., 1953, Chemistry of browning reactions in model systems, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1(15), 928-943.
- Hsieh, F., Grenus, K.M., Hu, L., Huff, H.E., 1993, Twin-screw extrusion of rice flour with salt and sugar, *Cereal Chemistry*, 70(5), 493-498.
- Husøy, T., Haugen, M., Murkovic, M., Jöbstl, D., Stølen, L. H., Bjellaas, T., et al., 2008, Dietary exposure to 5-hydroxymethylfurfural from Norwegian food and correlations with urine metabolites of short-term exposure, *Food and Chemical Toxicology*, 46(12), 3697-3702.

- Hwang, M.P. and Hayakawa, K.I., 1980, Bulk densities of cookies undergoing commercial baking processes, *Journal of Food Science*, 45(5), 1400-1407.
- IARC, 1994, Acrylamide, In *IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans*, Vol. 60. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 389-433.
- Ibarz, A., Pagán, J., Garza, S., 2000, Kinetic models of nonenzymatic browning in apple puree, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(8), 1162-1168.
- Ilo, S. and Berghofer, E., 2003, Kinetics of lysine and other amino acids loss during extrusion cooking of maize grits, *Journal of Food Science*, 68(2), 496-502.
- Janzowski, C., Glaab, V., Samimi, E., Schlatter, J., Eisenbrand, G., 2000, 5-Hydroxymethylfurfural: assessment of mutagenicity, DNA-damaging potential and reactivity towards cellular glutathione, *Food Chemistry and Toxicology*, 38(9), 801-809.
- Jung, M.Y., Choi, D.S., Ju, J.W., 2003, A novel technique for limitation of acrylamide formation in fried and baked corn chips and in French fries, *Journal of Food Science*, 68, 1287-1290.
- Kang, L.N., Wei, Y.M., Zhang, B., 2007, Effects of technological parameters on system pressure and torque in soy protein texturization by high moisture extrusion, *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association* 22(4), 43-49.
- Kaur, M. and Singh, N., 2004, Effect of ammonium bicarbonate on extrusion behaviour of rice and corn grits, *Journal of Food Science and Technology*, 41(2), 223-225.
- Koyama, N., Sakamoto, H., Sakuraba, M., Koizumi, T., Takashima, Y., Hayashi, M., et al., 2006, Genotoxicity of acrylamide and glycidamide in human lymphoblastoid TK6 cells, *Mutation Research*, 603, 151-158.
- Kroh, L.W., 1994, Caramelisation in food and beverages, *Food Chemistry*, 4(51), 373-379.
- Kuster, B.F.M., 1990, 5-Hydroxymethylfurfural (HMF). A Review Focussing on its Manufacture, *Starch/Stärke*, 42(8), 314-321.
- Lai, C.S., Guetzlaff, J., Hosney, R.C., 1989, Role of sodium bicarbonate and trapped air in extrusion, *Cereal Chemistry*, 66(2), 69-73.
- Lawton, J.W., Davis, A.B., Behnke, K.C., 1985, High-temperature short-time extrusion of wheat gluten and bran-like fraction, *Cereal Chem.*, 62, 267-271.

- Lee, K.-G. and Shibamoto, T., 2002. Toxicology and antioxidant activities of nonenzymatic browning reaction products: Review, *Food Reviews International*, 18(2-3), 151-175.
- Lee, Y.C., Shlyankevich, M., Jeong, H.K., Douglas, J.S., Surh, Y., 1995, Bioactivation of 5 hydroxymethyl-2-furaldehyde to an electrophilic and mutagenic allylic sulfuric acid ester, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 209(3), 996–1002.
- Lin, S., Huff, H.E., Hsieh, F., 2000, Texture and chemical characteristics of soy protein meat analog extruded at high moisture, *Journal of Food Science* 65(2), 264-269.
- Lingnert, H., 2002, Acrylamide in food: Mechanisms of formation and influencing factors during heating foods, *Scandinavian Journal of Nutrition* 46(4), 159-172.
- Lo, T.E., Moreira, R.G., Castell-Perez, M.E., 1998, Effect of operation conditions on melt rheological characteristics during twin-screw food extrusion, *American Society of Agricultural Engineers*, 41(6), 1721-1728.
- LoPachin, R.M., 2004, Changing view of acrylamide neurotoxicity, *Neurotoxicology*, 25, 617-630.
- Malec, L.S., Gonzales, A.S.P., Naranjo, G.B., Vigo, M.S., 2002, Influence of water activity and storage temperature on lysine availability of a milk-like system, *Food Research International*, 35(9), 849-853.
- Martins, C., Oliveira, N.G., Pingarilho, M., Gamboa da Costa, G., Martins, V., Marques, M. M., et al., 2007, Cytogenetic damage induced by acrylamide and glycidamide in mammalian cells: correlation with specific glycidamide-DNA adducts, *Toxicological Sciences*, 95, 383-390.
- Martins, S.I.F.S., and van Boekel, M.A.J.S., 2003, Melanoidins extinction coefficient in the glucose/glycine Maillard reaction, *Food Chemistry*, 83(1), 135–142.
- Matthey, F.P. and Hanna, M.A., 1997, Physical and functional properties of twin-screw extruded whey protein concentrate-corn starch blends, *Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 30, 359-366.
- Mauron, J., 1981, The Maillard reaction in food: critical review from the nutritional standpoint, *Progress in Food Nutrition Sciences*, 5, 5-35.
- Mei, N., Hu, J., Churchwell, M.I., Guo, L., Moore, M.M., Doerge, D.R., et al., 2008, Genotoxic effects of acrylamide and glycidamide in mouse lymphoma cells, *Food and Chemical Toxicology*, 46, 628-636.
- Meng, X., Threinen, D., Hansen, M., Driedger, D., 2010, Effects of extrusion conditions on system parameters and physical properties of a chickpea flour-based snack, *Food Research International*, 43, 650-658.

- Mercier, C. and Feillet, P., 1975, Modification of carbohydrate components by extrusion-cooking of cereal products, *Cereal Chemistry* 52, 283-297.
- Mercier, C., Linko, P., Harper, J.M., 1989, *Extrusion Cooking*, American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, USA, 471p.
- Mestdagh, F., Castelein, P., van Peteghem, C., De Meulenaer, B., 2008, Importance of degradation components in the formation of acrylamide in fried foodstuffs, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 3001-3003.
- Meuser, F. and van Lengerich, B., 1984, Possibilities of quality optimization of industrially extruded flat breads. Zeuthen, P., Cheftel, J.C., Eriksson, C., Jul, M., Leniger, H., Linko, P., Varela, G., and Vos, G. (eds), *Thermal Processing and Quality of Foods*, Elsevier Applied Science Publ., London, pp.180-184.
- Meuser, F., Pfaller, W., Van Lengerich, B., 1987, Technological Aspects Regarding Specific Changes to The Characteristic Properties of Extrudates by HTST Extrusion Cooking. Edited by O'Connor, C., *Extrusion Technology for the Food Industry*, Elsevier Applied Science Publisher, New York, pp.35-54.
- Miyakawa, Y., Nishi, Y., Kato, K., Sato, H., Takahashi, M., Hayashi, Y., 1991, Initiating activity of eight pyrolysates of carbohydrates in a two stage mouse skin tumorigenesis model, *Carcinogenesis*, 12, 1169-1173.
- Monien, B.H., Frank, H., Seidel, A., Glatt, H., 2009, Conversion of the common food constituent 5-hydroxymethylfurfural into a mutagenic and carcinogenic sulfuric acid ester in the mouse in vivo, *Chemical Research in Toxicology*, 22, 1123-1128.
- Morales, F. J. and Jiménez-Pérez, S., 2001, Hydroxymethylfurfural determination in infant milk-based formulas by micellar electrokinetic capillary chromatography, *Food Chemistry*, 72(4), 525-531.
- Morales, F.J., 2009, Hydroxymethylfurfural and related compounds. Stadler, R.H., Lineback, D.R. (eds.), *Process-Induced Food Toxicants: occurrence, formation, mitigation and health*, John Wiley & Sons, Inc., New Jersey, pp.135-174.
- Moscicki, L. and van Zuilichem, D.J., 2011, Extrusion-Cooking and Related Technique. Edited by Moscicki, L., *Extrusion-Cooking Techniques: Applications, Theory and Sustainability*, WILEY-VCH, Weinheim, Germany, pp.1-24.
- Mottram D.S., 1994, Flavor compounds formed during the Maillard reaction. Parliment, T.H., Morello, M.J., and McGorin, R.J. (eds.), *Thermally Generated Flavors: Maillard, Microwave, and Extrusion Processes*, American Chemical Society, Washington, DC, pp.104-126.

- Mottram, D.S., Low, M.Y., Elmore, J.S., 2006, The Maillard reaction and its role in the formation of acrylamide and other potentially hazardous compounds in foods. Skog, K., Alexander, J. (eds.), Acrylamide and other hazardous compounds in heat-treated foods, Cambridge, pp.328-353.
- Mottram, D.S., Wedzicha, B.L., Dodson, A.T., 2002, Acrylamide is formed in the Maillard reaction, *Nature*, 419, 448-449.
- Mulla, M.Z., Bharadwaj, V.R., Annapure, U.S., Singhal, R.S., 2011, Effect of formulation and processing parameters on acrylamide formation: A case study on extrusion of blends of potato flour and semolina, *LWT - Food Science and Technology*, 44, 1643-1648.
- Murkovic, M. and Bornik, M.-A., 2007, Formation of 5-hydroxymethyl-2-furfural (HMF) and 5-hydroxymethyl-2-furoic acid during roasting of coffee, *Mol. Nutr. Food Res.*, 51, 390-394.
- Nomeir, A.A., Silvena, D.M., McComish, M.F., Chadwick, M., 1992, Comparative metabolism and disposition of furfural and furfuryl alcohol in rats, *Drug Metabolism and Disposition*, 20(2), 198-204.
- Nursten, H., 2005, *The Maillard Reaction: Chemistry, Biochemistry and Implications*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 214p.
- Olano, A. and Martínez-Castro, I., 2004, Nonenzymatic Browning. Edited by Nollet, L.M.L., *Handbook of Food Analysis*, Second Edition, CRC Press, pp.1855-1890.
- Özkan, 2011, Sıvı Kromatografik Yöntemlerin Analitik Validasyon İşlemleri ve İlgili Parametreleri. Editör Genç, L., *Kromatografik Sistemler*, Anadolu Üniversitesi Yayınları, No.2209, Eskişehir, s.96-122.
- Pan, Z., Zhang, S., Jane, J., 1998. Effects of extrusion variables and chemicals on the properties of starch-based binders and processing conditions, *Cereal Chemistry*, 75, 541-546.
- Pansawat, N., Jangchuda, K., Jangchuda, A., Wuttijumnonga, P., Saaliac, F.K., Eitenmillerb, R.R., Phillips, R.D., 2008, Effects of extrusion conditions on secondary extrusion variables and physical properties of fish, rice-based snacks, *LWT-Food Science And Technology*, 41, 632-641.
- Perez-Locas, C. and Yaylayan, V.A., 2008, Isotope labeling studies on the formation of 5-(hydroxymethyl)-2-furaldehyde (HMF) from sucrose by pyrolysis-GC/MS, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56, 6717-6723.
- Rada-Mendoza, M., Luz Sanz, M., Olano, A., Villamiel, M., 2004, Formation of hydroxymethylfurfural and furosine during the storage of jams and fruit-based infant foods. *Food Chemistry*, 85(4), 605-609.

- Rada-Mendoza, M., Olano, A., Villamiel, M., 2002, Determination of hydroxymethylfurfural in commercial jams and in fruit-based infant foods, *Food Chemistry*, 79, 513-516.
- Ramírez-Jiménez, A., García-Villanova, B., Guerra-Hernández, E., 2001, Effect of toasting time on the browning of sliced bread, *Journal of Science and Food Agriculture*, 81(5), 513-518.
- Ramírez-Jiménez, A., García-Villanova, B., Guerra-Hernández, E., 2000a, Hydroxymethylfurfural and methylfurfural content of selected bakery products, *Food Research International*, 33(6), 833-838.
- Ramírez-Jiménez, A., Guerra-Hernández, E., García-Villanova, B., 2000b, Browning indicators in bread, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 4176-4181.
- Ramírez-Jiménez, A., Guerra-Hernández, E., García-Villanova, B., 2003, Evolution of non enzymatic browning during storage of infant rice cereal, *Food Chemistry*, 3(2), 219-225.
- Resmini, P. and Pellegrino, L., 1991, Analysis of food heat-damage by direct HPLC of furosine, *International Chromatography Laboratory*, 6, 7-11.
- Resmini, P., Pellegrino, L., Batelle, G., 1990, Accurate quantification of furosine in milk and dairy products by a direct HPLC method, *Ital. J. Food Sci.*, 3, 173-183.
- Resmini, P., Pellegrino, L., Pagani, M.A., De Noni, I., 1993, Formation of 2-acetyl-3-D-glucopyranosylfuran (glucosylisomaltol) from nonenzymatic browning in pasta drying, *Italian Journal of Food Science*, 4, 341-353.
- Rice, J.M., 2005, Carcinogenicity of acrylamide, *Mutation Research*, 580, 3-20.
- Rudén, C., 2004, Acrylamide and cancer risk—expert risk assessments and the public debate, *Food and Chemical Toxicology*, 42, 335–349.
- Rufián-Henares, J.A., Delgado-Andrade, C., Morales, F.J., 2006. Relationship between acrylamide and thermalprocessing indexes in commercial breakfast cereals: A survey of Spanish breakfast cereals, *Mol. Nutr. Food Res.* 2006, 50, 756-762.
- Rufián-Henares, J.A., Delgado-Andrade, C., Morales, F.J., 2009, Non-enzymatic browning: The case of the Maillard reaction. Delgado-Andrade, C. and Rufián-Henares, J.A. (eds.), *Assessing the Generation and Bioactivity of Neo-Formed Compounds in Thermally Treated Foods*, Editorial Atrio, S.L., Granada, Spain, pp.9-25.
- Ryu, G.H., Kim, B.S., Mulvaney, S.J., 2002, Optimization of extrusion process for dairy ingredient fortification of cornmeal puffed via CO<sub>2</sub> gas injection, *Food Sci. Biotechnol.*, 11(5), 552-556.



- Schettgen, T., Kütting, B., Hornig, M., Beckmann, M.W., Weiss, T., Drexler, H., et al., 2004, Trans-placental exposure of neonates to acrylamide—a pilot study, *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 77, 213-216.
- Schmid, A.H., Dolan K.D., Ng P.K.W., 2005, Effect of extruding wheat flour at lower temperatures on physical attributes of extrudates and on thiamin loss when using carbon dioxide gas as a puffing agent, *Cereal Chemistry*, 82(3), 305-313.
- Shaw, I. and Thomson, B., 2003, Acrylamide Food Risk, *The Lancet*, Vol. 361, 434.
- Shipp, A., Lawrence, G., Gentry, R., McDonald, T., Bartow, H., Bounds, J., et al., 2006, Acrylamide: review of toxicity data and dose-response analyses for cancer and noncancer effects, *Critical Reviews in Toxicology*, 36, 481-608.
- Singh, B., Sekhon, K.S., Singh, N., 2007, Effects of moisture, temperature and level of pea grits on extrusion behaviour and product characteristics of rice, *Food Chemistry*, 100, 198-202.
- Singh, N., Sharma, S., Singh, B., 2000, The effect of sodium bicarbonate and glycerol monostearate addition on the extrusion behaviour of maize grits, *Journal of Food Engineering*, 46, 61-66.
- Singh, N., Singh, B., Sandhu, K.S., Bawa, A.S., Sekhon, K.S., 1996, Extrusion behavior of wheat, rice and potato blends, *Journal of Food Science and Technology*, 31, 291-294.
- Sopade, P.A., and Le Grys, G.A., 1991, Effect of added sucrose on extrusion cooking of maize starch, *Food Control*, 2(2), 103-109.
- Sorgel, F., Weissenbacher, R., Kinzig-Schippers, M., Hofmann, A., Illauer, M., Skott, A., et al., 2002, 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, *Chemotherapy*, 48, 267-274.
- Stadler, R.H., Blank, I., Varga, N., Robert, F., Hau, J., Guy, P.A., et al., 2002, Acrylamide from Maillard reaction products, *Nature*, 419, 449-450.
- Stadler, R.H., Robert, F., Riediker, S., Varga, N., Davidek, T., Devaud, S., et al., 2004, In-depth mechanistic study on the formation of acrylamide and other vinylogous compounds by the Maillard reaction, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52, 5550-5558.
- Sumner, S.C.J., MacNeela, J.P., Fennell, T.R., 1992, Characterization and quantitation of urinary metabolites of 1,2,3-C-13 acrylamide in rats and mice using C-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy, *Chemical Research in Toxicology*, 5, 81-89.

- Sun, Y. and Muthukumarappan, K., 2002, Changes in functionality of soy-based extrudates during single-screw extrusion processing, *International Journal of Food Properties*, 5(2), 379-389.
- Surh, Y.J., Liem, A., Miller, J.A., Tannenbaum, S.R., 1994, 5-Sulfooxymethylfurfural as a possible ultimate mutagenic and carcinogenic metabolite of the Maillard reaction product, 5-hydroxymethylfurfural, *Carcinogenesis*, 15, 2375-2377.
- Svendsen, C., Husøy, T., Glatt, H., Paulsen, J.E., Alexander, J., 2009, 5-Hydroxymethyl-furfural and 5-sulfooxymethylfurfural increase adenoma and flat ACF number in the intestine of Min/+ mice, *Anticancer Research*, 29(6), 1921-1926.
- Swedish National Food Administration, 2002, Information about acrylamide in food, 24 April 2002, [www.slv.se](http://www.slv.se) (accessed March 2012).
- Tosi, E., Ciappini, M., Ré, E., Lucero, H., 2002, Honey thermal treatment effects on hydroxymethylfurfural content, *Food Chemistry*, 77(1), 71-74.
- Tressl, R. and Rewicki D., 1999, Heat generated flavors and precursors, in *Flavor Chemistry: Thirty Years of Progress*. Teranishi, R., Wick, E.L., and Hornstein, I. (eds.), Kluwer/Plenum, New York, pp.305-325.
- Ulbricht, R.J., Northup, S.J., Thomas, J.A., 1984, A review of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) in parenteral solutions, *Fundamental and Applied Toxicology*, 4, 843-853.
- US EPA, 1992, *Initial submission: Acute oral LD50 study with 5-hydroxymethylfurfural in rats*, Cover letter dated 073192, EPA/OTS. Doc. #88- 920005429, Chicago, Illinois, USA.
- Van Boekel, M.A.J.S., 1998, Effect of heating on Maillard reactions in milk, *Food Chemistry*, 62(4), 403-414.
- Villamiel, M., del Castillo, M.D., Corzo, N., 2006, *Browning Reactions*. Edited by Hui, Y.H., *Food Biochemistry and Food Processing*, Blackwell Publishing, Oxford, UK, pp.71-100.
- Wang, H.W., Zhou, J.G., Lin, B.J., 2001. Effect of processing variables of twin-screw extrusion on texturization of compound soybean protein, *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 16(2), 54-58.
- Weisshaar, R. and Gutsche, B., 2002, Formation of acrylamide in heated potato products-model experiments pointing to asparagine as precursor. *Deutsche Lebensmittel-Randschau*, 98, 397-400.
- WHO, 2005, Summary report of the sixty-fourth meeting of the Joint FAO/WHO expert committee on food additive (JECFA). Rome, Italy: The ILSI Press International Life Sciences Institute. Washington, DC, pp.1-47.

- Xu, H., Templeton, A.C., Reed, R.A., 2003, Quantification of 5- HMF and dextrose in commercial aqueous dextrose solutions, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2(3), 451-459.
- Yasuhara, A., Tanaka, Y., Hengel, M., Shibamoto, T., 2003, Gas chromatographic investigation on acrylamide formation in browning model systems. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, 3999-4003.
- Yaylayan, V. and Stadler, R., 2005, Acrylamide formation in food: a mechanistic perspective, *Journal of AOAC International* 88, 262-267.
- Yaylayan, V.A., Wnorowski, A., Perez-Locas, C., 2003, Why asparagine needs carbohydrates to generate acrylamide, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, 1753-1757.
- Zhang, X.M., Chan, C.C., Stamp, D., Minkin, S., Archer, M.C., Bruce, W.R., 1993, Initiation and promotion of colonic aberrant crypt foci in rats by 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde in thermolyzed sucrose, *Carcinogenesis*, 14, 773-775.
- Zyzak, D.V., Sanders, R.A., Stojanovic, M., Tallmadge, D.H., Eberhardt, B.L., Ewald, D.K., et al., 2003, Acrylamide formation mechanism in heated foods, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, 4782-4787.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Mustafa Tuğrul MASATCIOĞLU

Doğum Yeri : Ankara

Doğum Yılı : 1977

Medeni Hali : Bekar

Eğitim ve Akademik Durumu:

Lise 1991-1994 Ankara Cumhuriyet Lisesi

Lisans 1995-2000 Ankara Üniversitesi, Süt Teknolojisi Bölümü

Yüksek Lisans 2000-2004 Mustafa Kemal Üniversitesi,  
Gıda Mühendisliği Bölümü

Yabancı Dil: İngilizce

İş Tecrübesi:

2000-2005 Mustafa Kemal Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü  
Araştırma Görevlisi

2005- Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü  
Araştırma Görevlisi