

T.C.
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

FARKLI REÇETELERLE ÜRETİLEN BİSKÜVİLERDE AROMA VE AKRİLAMİD
OLUŞUMU

Tülin YAKICI

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: PROF. DR. MUHAMMET ARICI

TEKİRDAĞ-2012

Her hakkı saklıdır

TEŞEKKÜR

Lisans eğitimin, Yüksek Lisans ve Doktora çalışmalarım sırasında bana her türlü bilgi ve yardımı sağlayan değerli bölüm hocalarıma, Saygıdeğer Bölüm Başkanım Prof. Dr. Mehmet DEMİRCİ'ye, çalışmalarımda sürekli desteğini ve yardımını sağlayan, değerli tecrübe ve bilgilerinden faydalandığım tez danışmanım Prof. Dr. Muhammet ARICI'ya, tez izleme komitesinde bulunan ve tezimi şekillendirmede değerli eleştiri ve önerilerinden faydalandığım Sayın Hocalarım Prof. Dr. Orhan DAĞLIOĞLU, Prof. Dr. Burhan ARSLAN, Doç. Dr. Murat TAŞAN ve Yrd. Doç Dr. Barış TUNCEL'e, akrilamid analizi ve renk analizlerinin yapılması ve yorumlanmasında değerli tecrübe ve bilgilerinden yararlandığım Prof. Dr. Vural GÖKMEN'e, renk ve akrilamid analizlerinin yapımında yardımlarını esirgemeyen Araş. Gör. Burçe ATAC MOGOL'a ve Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölümüne, aroma analizlerinin yapımında yardımlarını ve desteğini esirgemeyen Jacques MURAT ve Firmenich SA analitik laboratuvarı çalışanlarına, tez konusunu belirleme ve çalışma sürecinde bana her türlü desteği veren sevgili müdürlerim Umit ÇİLİNGİROĞLU ve Christian SOBOLTA'ya, aroma analizlerinin yorumlanmasında tüm bilgi, tecrübe ve çalışmalarını paylaşarak yardım eden Imad FARHAT ve Christoph CERNY'e, su aktivitesi analizlerinin yapılmasında cihazlarının kullanımına imkan veren Palancı Gıda Tek. Arge Tic. laboratuvarlarına, örneklerin hazırlanmasında her türlü ekipman, ingre diyen ve laboratuvarlarının kullanımına izin veren Firmenich Dış. Tic. Ltd. Şti'ne, duyu sal analizlere panelist olarak katılan tüm Firmenich Dış. Tic. Ltd. Şti. çalışanlarına, çalışma süresince her türlü yardım ve desteğini esirgemeyen sevgili dostum, meslektaşım Ruşen YILDIRIM'a, bana her konuda destek veren, beni bu günlere getiren sevgili annem ve babam Perihan ve Mehmet YAKICI'ya, gönülden desteklerini esirgemeyen sevgili kardeşlerim Aylin PEKER, Gökmen YAKICI ve Tuğba SÖYLER'e tüm içtenlikle saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tülin YAKICI

Prof. Dr. Muhammet ARICI danışmanlığında, Tülin YAKICI tarafından hazırlanan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından. Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Juri Başkanı : Prof. Dr. Muhammet ARICI

İmza :

Üye : Prof. Dr. Orhan DAĞLIOĞLU

İmza :

Üye : Prof. Dr. Burhan ARSLAN

İmza :

Üye : Doç. Dr. Murat TAŞAN

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. N. Barış TUNCEL

İmza :

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Doç. Dr. Fatih KONUKCU
Enstitü Müdürü

ÖZET

Doktora Tezi

FARKLI REÇETELERLE ÜRETİLEN BİSKÜVİLERDE AROMA VE AKRİLAMİD OLUŞUMU

Tülin YAKICI

Namık Kemal Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Muhammet Arıcı

Maillard reaksiyonu, gıdalarda aroma ve renk gibi arzu edilen özelliklerin oluşumunu sağlamanın yanı sıra, akrilamid gibi kanserojen maddelerin oluşumuna da neden olmaktadır. Unlu mamullerde aroma gelişimine katkıda bulunmak için hazırlanan aroma karışımını ve bu karışımı oluşturan karamel aroması ve ksilozun, aroma ve akrilamid oluşumuna etkisini incelemek için 9 farklı reçete oluşturulmuştur. Farklı şeker, yağ oranları ve protein kaynaklarının (yağsız süt tozu, bütün yumurta tozu (BYT) ve peynir altı suyu tozu (PST)) kullanıldığı ve ayrıca akrilamid oluşumunu düşürmeye yönelik farklı amino asitleri (glisin ve lisin) içeren ve asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçeteler hazırlanmıştır. Tüm reçetelere ait bisküvi örnekleri, 190 ± 10 °C de 5 dakika süre ile aynı koşullarda pişirilmiştir.

Dokuz farklı bisküvi reçetesinde uygulanan kontrol, ksiloz, aroma karışımı ve karamel aroması örneklerinde, aroma moleküllerinin belirlenmesi, akrilamid analizi, L^*a^*b renk analizi, duyu analizi, hamur ve bisküvide su aktivitesi analizi ve hamurda pH analizleri yapılmıştır. Yapılan tüm analizlerde farklı reçetelerin ve/veya her reçetede uygulananların analiz sonuçlarına etkisi varyans analizi ile incelenmiştir. GC-MS analizi ve SPME ekstraksiyonu ile belirlenen aroma molekülleri faktör analizi kullanılarak istatistik olarak değerlendirilmiş, aroma molekülleri gruplandırılarak varyansdaki değişime etkisi incelenmiştir. L^*a^*b renk değerleri ve renk değişimini ifade eden ΔE değerleri ile akrilamid konsantrasyonu arasındaki ilişki incelenmiştir.

Su aktivitesi değerleri 0,04-0,23 aralığında, hamur su aktivitesi değerleri 0,57-0,64 aralığında ve hamur pH değerleri 7,62-8,14 aralığındaki belirlenen bisküvi örneklerinde yapılan analizler sonucunda tespit edilen aroma moleküllerinden, varyansdaki değişimin büyük bir kısmını pirazinler, Strecker aldehidleri ve Maillard reaksiyonu sonucu oluşan diğer aroma molekülleri oluşturmuştur. Maillard reaksiyonu ve lipid oksidasyonu sonucu oluşan diğer önemli aroma molekülleri aldehidler, ketonlar, furanların da varyansdaki değişime katkısı önemli bulunmuştur. Aroma karışımı ve ksiloz uygulanan örneklerin aroma oluşumuna etkisi, tüm bisküvi reçetelerinde yapılan aroma analizleri ve duyu analizlerin her ikisinde de açıkça belirlenmiştir. Akrilamid analizleri sonuçlarına göre ise aroma karışımı ve ksiloz tüm reçetelerde akrilamid miktarını arttırmıştır. Şekerin %50 ve %100 azaltıldığı reçetelerde indirgen şeker miktarının azalmasıyla ve yağı %50 azaltılmış reçetede yağla birlikte lipid oksidasyonunun azalmasıyla akrilamid miktarı azalmış; BYT, PST kullanılan reçetelerde akrilamid miktarı yağsız süt tozu kullanılan (standart bisküvi reçetesi) reçeteden daha düşük miktarda belirlenmiş; glisin ve lisin kullanılan reçetelerde bu amino asitlerin akrilamidin ana öncüsü olan asparajin ile rekabetinden dolayı akrilamid miktarı azalmış ve asparajinaz enzimi ilavesiyle de asparajin parçalanarak akrilamid miktarı %93 oranında azaltılmıştır.

Sonuç olarak bu çalışmada, şeker ve yağ azaltılmasının akrilamid miktarı yanı sıra aroma oluşumunu da azalttığı; BYT, PST ve yağsız süt tozu kullanılan reçetelerde en iyi sonucun BYT kullanılan reçetede elde edildiği; akrilamid oluşumunu azaltmak için hazırlanan glisin, lisin ve asparajinaz enzimi içeren reçeteler arasında ise en iyi sonuç veren reçetenin asparajinaz enzimi içeren bisküvi reçetesinin olduğu saptanmıştır. Ksiloz ve aroma karışımı uygulamaları ise tüm reçetelerde aroma ve akrilamid oluşumunu Maillard reaksiyonu yoluyla arttırmıştır.

Anahtar kelimeler: Bisküvi, Ksiloz, Akrilamid, Aroma, Maillard reaksiyonu

2012, 220 sayfa

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

FLAVOUR and ACRYLAMIDE FORMATION in DIFFERENT BISCUIT RECIPIES

Tülin YAKICI

Department of Food Engineering
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Namık Kemal University

Supervisor : Prof. Dr. Muhammet Arıcı

Maillard reaction provides the desired flavour and colour in food in addition to causing the formation of carcinogenic substances like acrylamide. Nine different biscuit recipes were prepared in order to investigate the effects of flavour blend, xylose and caramel flavour on flavour and acrylamide formation, which are the components of flavour blend that is generated especially for flavour formation in bakery. Recipes were prepared by considering the different sugar and fat contents, different protein resources (skimmed milk powder, whole egg powder, whey powder) and also additional amino acids (glycine and lysine) and asparaginase enzyme in order to decrease the acrylamide formation. All biscuit recipes were baked at 190 ± 10 °C at 5 minutes in same conditions.

Analyses of flavour volatiles, acrylamide, $L^*a^*b^*$ colour, sensory, water activity in dough and in biscuits, pH analyses in dough were carried out with the biscuit samples of control, xylose, flavour blend and caramel flavour which were applied in each 9 biscuit recipes. The effects of each recipes and/ or each application (control, xylose, flavour blend and caramel flavour) on each of all analytical results were studied with variance analyses. Flavour volatiles identified in GC-MS analyses and SPME extraction were studied by factor analyse by grouping the volatiles in depending on their effects on variance. Correlation between the acrylamide concentration and L^*a^*b colour values as well as correlation between the acrylamide concentration and ΔE value representing the colour change in biscuits were studied.

Water activity of biscuits were identified between a_w 0.04-0.23 and a_w 0.57-0.64 for dough samples. pH range of the dough samples before baking was identified as 7.62-8.14. Factor analyses done with flavour analytical results showed that the pyrazines, Strecker aldehydes and other main flavour volatiles formed via Maillard reaction explained the biggest part of the variance between recipes and the applications. Aldehydes, ketones, alcohols, furans that is formed via Maillard reaction and lipid oxidation were also found to be important effect on variance. The effect of flavour blend and xylose on flavour formation was obviously identified by both flavour and sensory analyses in each recipe. Acrylamide analyses results showed that flavour blend and xylose were increased the acrylamide concentration in each recipe. %50 and %100 sugar reduced recipe decreased the acrylamide due to decreasing reduced sugar amount, %50 fat reduced recipe decreased the acrylamide due to reduced lipid oxidation and using BYT, PST showed less acrylamide than skimmed milk powder, addition of glycine and lysine reduced the acrylamide due to the competition with asparagine the main precursor of acrylamide and addition of asparaginase enzyme showed the biggest acrylamide reduction up to %93 since it destroys the asparaginase.

As a result of this study, decreasing sugar and fat amount decreased the formation of flavours and acrylamide; whole egg powder containing recipe showed the best results as increased flavour formation and decreased acrylamide formation within the whey powder and skimmed milk powder used recipes and finally the asparaginase containing recipe has the highest acrylamide reduction and same flavour volatile levels but better sensory analyses results than standard biscuit recipe. Flavour blend and xylose increased the acrylamide and flavour formation in all recipes by increasing the Maillard reaction rate.

Keywords : Biscuit, Xylose, Acrylamide, Flavour, Maillard Reaction

2012, 220 pages

İÇİNDEKİLER	Sayfa No.
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÇİZELGE DİZİNİ.....	v
ŞEKİL DİZİNİ.....	vii
RESİM DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	6
2.1.Aroma Çalışmaları ile ilgili Kaynak Özetleri.....	6
2.2.Akrilamid Çalışmaları ile ilgili Kaynak özetleri.....	17
2.3. Renk Çalışmaları İle İlgili Kaynak Özetleri.....	35
2.4. pH Çalışmaları İle İlgili Kaynak Özetleri.....	40
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	41
3.1. Materyal.....	41
3.2. Yöntem.....	41
3.2.1. Bisküvi Örneklerinin Hazırlanması.....	41
3.2.2. Un Analizleri ve Yumurta Tozu Analizi.....	48
3.2.2.1. Nem tayini.....	48
3.2.2.2. Kül tayini.....	48
3.2.2.3. Protein tayini.....	48
3.2.2.4. Sedimentasyonve Gecikmeli Sedimentasyon Tayini.....	48
3.2.2.5. Düşme Sayısı (FallingNumber) Tayini.....	48
3.2.2.6. Yaş Gluten (Öz) Tayini.....	49
3.2.3. Hamur ve Bisküvi Örneklerinde Yapılan Analizler.....	49
3.2.3.1. Hamur Örneklerinde Yapılan Analizler.....	49
3.2.3.1.1. pH analizi.....	49
3.2.3.1.2. Su Aktivitesi analizi.....	49
3.2.4. Bisküvi Örnekleri Analizleri.....	49
3.2.4.1. Akrilamid Analizi.....	49
3.2.4.2. Aroma Analizi.....	51
3.2.4.3. Renk Analizi.....	52
3.2.4.4. Duyusal Analiz.....	52
3.2.4.5. Su Aktivitesi Analizi.....	53

3.2.5. İstatistik Analiz Yöntemleri.....	53
3.2.5.1. Aroma İstatistik Analizi.....	53
3.2.5.2. Akrilamid İstatistik Analizi.....	54
3.2.5.3. Bisküvi ve Hamur Su Aktivitesi, Hamur pH İstatistik analizi.....	54
3.2.5.4. Renk İstatistik Analizi.....	54
3.2.5.5. Duyusal Değerlendirme İstatistik Analizi.....	55
4.ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	56
4.1. Aroma Analiz Sonuçları ve Tartışma.....	56
4.1.1. Aroma Analiz Sonuçları.....	56
4.1.2. Aroma Analiz Sonuçları ile İlgili Tartışma.....	93
4.2. Akrilamid Analizleri Araştırma Bulguları Ve Tartışma.....	112
4.2.1. Akrilamid Analizi Araştırma Bulguları.....	112
4.2.2. Akrilamid Analizleri ile İlgili Tartışma.....	120
4.3. Renk Analizleri Araştırma Bulguları ve Tartışma.....	132
4.3.1. Renk Analizleri Araştırma Bulguları.....	132
4.3.1.1. L^* , a^* , b^* ve ΔE Renk Değişimi Değerleri İle Akrilamid Miktarları Arasındaki İlişkinin Belirlenmesi.....	141
4.3.2. Renk Analizleri ile İlgili Tartışma.....	143
4.4. pH ve Su aktivitesi (a_w) Analizleri Araştırma Bulguları Ve Tartışma.....	148
4.4.1. Hamur Örneklerinde pH Analizleri Araştırma Bulguları.....	148
4.4.2. Hamur Örneklerinde Su Aktivitesi (a_w) Analizleri Araştırma Bulguları.....	152
4.4.3. Bisküvi Örneklerinde Su Aktivitesi (a_w) Analizleri Araştırma Bulguları.....	155
4.4.4. pH ve Su Aktivitesi Analizleri ile İlgili Tartışma.....	158
4.5. Duyusal Analiz Sonuçlarına Ait Araştırma Bulguları ve Tartışma.....	162
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	177
6.KAYNAKLAR.....	181
EKLER	
EK 1.....	190
EK 2.....	212
EK 3.....	219
EK 4.....	220
ÖZGEÇMİŞ	

Çizelge 3.1. Buğday ununun kimyasal özellikleri.....	41
Çizelge 3.2. Araştırmada hazırlanan bisküvi örnekleri.....	42
Çizelge 3.3. Araştırmada her bir reçetede uygulanan denemeler.....	42
Çizelge 3.4. Araştırmada hazırlanan bisküvi örneklerine ait reçeteler.....	44
Çizelge 4.1. Aroma moleküllerinin standart bisküvi reçetesine ait pik alan değerleri.....	57
Çizelge 4.2. Aroma moleküllerinin şekeri %50 azaltılmış bisküvi reçetesine ait pik alan değerleri.....	58
Çizelge 4.3. Aroma moleküllerinin şekeri %100 azaltılmış bisküvi reçetesine ait pik alan değerleri.....	59
Çizelge 4.4. Aroma moleküllerinin yağı %50 azaltılmış bisküvi reçetesine ait pik alan değerleri.....	60
Çizelge 4.5. Aroma moleküllerinin BYT içeren bisküvi reçetesine ait pik alan değerleri.....	61
Çizelge 4.6. Aroma moleküllerinin PST içeren bisküvi reçetesine ait pik alan değerleri.....	62
Çizelge 4.7. Aroma moleküllerinin glisin içeren bisküvi reçetesine ait pik alan değerleri.....	63
Çizelge 4.8. Aroma moleküllerinin lisin içeren bisküvi reçetesine ait pik alan değerleri.....	64
Çizelge 4.9. Aroma moleküllerinin Asparajinaz enzimi içeren bisküvi reçetesine ait pik alan değerleri.....	65
Çizelge 4.10. Çalışmada belirlenen bazı pirazinlere ait organoleptik özellikler.....	95
Çizelge 4.11. Strecker degradasyonu ile amino asitlerden ortaya çıkan aldehidler.....	100
Çizelge 4.12. Protein kaynaklarına ait amino asit bileşimi.....	101
Çizelge 4.13. Bazı aldehidlerin duyuşsal karakterleri.....	105
Çizelge 4.14. Bisküvi örneklerine ait akrilamid miktarları ortalama değerleri.....	114
Çizelge 4.15. Reçetelerde uygulanan değişkenlere ait akrilamid değerleri genel ortalamaları.....	116
Çizelge 4.16. Bisküvi örneklerine ait L^*a^*b renk analiz değerleri.....	133
Çizelge 4.17. Reçetelerde uygulanan L^* değişkenine ait genel ortalamalar.....	136
Çizelge 4.18. Reçetelerde uygulanan a^* değişkenine ait genel ortalamalar.....	137

Çizelge 4.19. Reçetelerde uygulanan b^* değişkenine ait genel ortalamalar.....	138
Çizelge 4.20 Reçetelere ait ΔE renk değişim değerleri.....	139
Çizelge 4.21. ΔE değerlerine ait ANOVA ortalama tablosu.....	140
Çizelge 4.22. Uygulama grupları akrilamid konsantrasyonu arasındaki Pearson korelasyon katsayıları	141
Çizelge 4.23. Hamur örneklerine ait pH değerleri ortalama değerleri.....	148
Çizelge 4.24. Reçetelerde uygulanan değişkenlere ait pH genel ortalamaları.....	150
Çizelge 4.25. Bisküvi örneklerine ait su aktivitesi (a_w) ortalama değerleri.....	152
Çizelge 4.26. Reçetelerde uygulanan değişkenlere ait hamur örnekleri su aktivitesi genel ortalamaları.....	154
Çizelge 4.27. Bisküvi örneklerine ait ortalama su aktivitesi (a_w) değerleri.....	156
Çizelge 4.28. Reçetelerde uygulanan değişkenlere ait bisküvi örnekleri su aktivitesi genel ortalamalar.....	157
Çizelge 4.29.(1) Reçetelere ait duyuşal analiz değerlendirmeleri	163
Çizelge 4.29. (2) Reçetelere ait duyuşal analiz değerlendirmeleri.....	164
Çizelge 4.30Duyuşal analizde reçetelerde uygulanan değişkenlere ait genel ortalamalar.....	174

Şekil 4.1. F1 faktör grubuna ait aroma molekülleri alan değerlerinin farklı reçete ve uygulamalara göre dağılımı.....	72
Şekil 4.2. F2 faktör grubuna ait aroma molekülleri alan değerlerinin farklı reçete ve uygulamalara göre dağılımı.....	74
Şekil 4.3. F3 faktör grubuna ait aroma molekülleri alan değerlerinin farklı reçete ve uygulamalara göre dağılımı.....	78
Şekil 4.4. F4 faktör grubuna ait aroma molekülleri alan değerlerinin farklı reçete ve uygulamalara göre dağılımı.....	81
Şekil 4.5. F5 faktör grubuna ait aroma molekülleri alan değerlerinin farklı reçete ve uygulamalara göre dağılımı.....	84
Şekil 4.6. F6 faktör grubuna ait aroma molekülleri alan değerlerinin farklı reçete ve uygulamalara göre dağılımı.....	86
Şekil 4.7. F7 faktör grubuna ait aroma molekülleri alan değerlerinin farklı reçete ve uygulamalara göre dağılımı.....	88
Şekil 4.8. F8 faktör grubuna ait aroma molekülleri alan değerlerinin farklı reçete ve uygulamalara göre dağılımı.....	91
Şekil 4.9. F9 faktör grubuna ait aroma molekülleri alan değerlerinin farklı reçete ve uygulamalara göre dağılımı.....	92
Şekil 4.10. Bisküvi reçetelerine ait akrilamid analiz sonuçları.....	115
Şekil 4.11. L^* değerleri grafiği.....	134
Şekil 4.12. a^* değerleri grafiği.....	135
Şekil 4.13. b^* değerleri grafiği.....	136
Şekil 4.14. Reçetelere ait ΔE renk değişim değerleri	140
Şekil 4.15. CIE Lab renk uzayı.....	143
Şekil 4.16. Hamur pH değerleri.....	149
Şekil 4.17. Hamur örneklerine su aktivitesi değerleri grafiği.....	153
Şekil 4.18. Bisküvi örneklerine su aktivitesi değerleri grafiği.....	156
Şekil 4.19. Standart Bisküvi Reçetesine ait Duyusal Analiz Örümcek Grafiği.....	162
Şekil 4.20. Şekerli %50 Azaltılmış Bisküvi Reçetesine ait Duyusal Analiz Örümcek Grafiği	165

Şekil 4.21.Şekeri %100 Azaltılmış Bisküvi Reçetesine ait Duyusal Analiz Örümcek Grafiği	166
Şekil 4.22.Yağı %50 Azaltılmış Bisküvi Reçetesine ait Duyusal Analiz Örümcek Grafiği	167
Şekil 4.23. BYT içeren Bisküvi Reçetesine ait Duyusal Analiz Örümcek Grafiği	168
Şekil 4.24.PST içeren Bisküvi Reçetesine ait Duyusal Analiz Örümcek Grafiği	168
Şekil 4.25. Glisin içeren Bisküvi Reçetesine ait Duyusal Analiz Örümcek Grafiği	169
Şekil 4.26. Lisin içeren Bisküvi Reçetesine ait Duyusal Analiz Örümcek Grafiği	170
Şekil 4.27. Asprajinaz enzimi içeren Bisküvi Reçetesine ait Duyusal Analiz Örümcek Grafiği	170
Şekil 4.28.Kontrol uygulamasına ait duyusal analiz değerlendirmesi	171
Şekil 4.29.Ksiloz uygulamasına ait duyusal analiz değerlendirmesi	172
Şekil 4.30. Aroma karışımı uygulamasına ait duyusal analiz değerlendirmesi	172
Şekil 4.31. Karamel aroması uygulamasına ait duyusal analiz değerlendirmesi	173

RESİM DİZİNİ

Sayfa No.

Resim 3.1. Reçete 1, Standart Bisküvi.....	45
Resim 3.2. Reçete 2, Şekeri %50 azaltılmış bisküvi.....	45
Resim 3.3. Reçete 3, Şekeri %100 azaltılmış bisküvi.....	45
Resim 3.4. Reçete 4, Yağı % 50 azaltılmış bisküvi.....	46
Resim 3.5. Reçete 5, Protein kaynağı olarak bütün yumurta tozu içeren bisküvi.....	46
Resim 3.6. Reçete 6, Protein kaynağı olarak peynir altı suyu tozu içeren bisküvi.....	46
Resim 3.7. Reçete 7, Protein kaynağı olarak glisin içeren bisküvi.....	47
Resim 3.8. Reçete 8, Protein kaynağı olarak lisin içeren bisküvi.....	47
Resim 3.9. Reçete 9, Asparajinaz enzimi içeren bisküvi.....	47
Resim 3.10. LC- MS sistemi.....	50
Resim 3.11. GC-MS Sistemi.....	51

1. GİRİŞ

Yapılan istatistikler tüm unlu mamullerde Türkiye'nin dünyada en önemli tüketicilerden olduğunu ortaya koymaktadır. Mevcut unlu mamullerin üretimi Türkiye'de 2007 yılında %9 oranında artış göstermiştir (Anonim 2007). Dolayısıyla ülkemizde unlu mamullere yapılan yatırım ve geliştirme çalışmaları da tüketime paralel olarak artmaktadır. Maillard reaksiyonu gıdalarının ısı işleme maruz kalması sonucu indirgen şekerler ile amino asitlerin serbest amino grupları arasında meydana gelen enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonudur. Bu nedenle unlu mamullerin gerek karakteristik aromasının gerekse de arzu edilen renginin oluşmasında önemli etkisi vardır. Maillard reaksiyonu bir çok gıdada ısı işlem sonucu o gıdaya has karakteristik aromayı oluşturmaktadır ki bu özelliğinden dolayı aroma sanayiinde de proses aromalarının elde edilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır.

Bir indirgen şekerle bir amino asit birlikte ısıtıldıkları zaman birçok kademeli reaksiyon meydana gelmekte, esmerleşme ve çeşitli aroma maddelerinin oluşumu ile sonuçlanmaktadır. Bu enzimatik olmayan esmerleşme olgusu ilk olarak Fransız kimyager Maillard (1878-1936) tarafından glikoz ve glisin arasında meydana gelen reaksiyon olarak tanımlanarak Maillard reaksiyonu adını almıştır (Cerny 2010, Weenen ve Rooij 1998).

Maillard reaksiyonu ürünlerde renk ve aroma oluşumunu sağlayan en önemli reaksiyonlardan biridir. Sıcaklık ve kuru ortamlar reaksiyonu hızlandırmaktadır. Yüksek sıcaklıklarda serbest amino asitler veya küçük peptidlerle birlikte indirgen şekerlerin varlığı aroma oluşumuna öncülük etmektedir. Maillard reaksiyon ürünleri aldehidler, asitler, sülfür bileşikleri (hidrojen sülfid, metanetiol vs.), nitrojen bileşikleri ve furanlar, pirazinler, piroller, piridinler, imidazoller, oksazoller, tiazoller, tiofenler, di- ve tritiofanlar, furantioller ve bunlar gibi heterosiklik bileşiklerdir. Yüksek sıcaklıklar kavrulmuş, kızartılmış, fındığımsı veya karamelimsi tatların kaynağı olan daha fazla heterosiklik bileşiklerin oluşmasına neden olmuştur. Yüksek sıcaklık ve düşük nem içeriğinde bu bileşikler daha verimlidir (Heiniö 2006, Sun-Pan ve ark. 2007).

Maillard reaksiyonları, ekmeğın, kurabiyelerin, keklerin, etin, biranın, çikolatanın, patlamış mısırın, pilavın lezzetinden (kısmen) sorumludur. Birçok olayda (kahve gibi) lezzet, Maillard reaksiyonları ve karamelizasyonun bir kombinasyonudur. Bununla birlikte, karamelizasyon

sadece 120-150°C'nin üzerinde oluşurken, Maillard reaksiyonları oda sıcaklığında da meydana gelir (Anonim 2011).

Daha büyük şekerlerin amino asitlerle reaksiyonu daha yavaştır. Pentoz şekerler (riboz gibi 5 karbon atomlu şekerler) heksoz şekerlerden (glukoz, fruktoz) ve disakkaritlerden (sakkaroz, laktoz) daha hızlı reaksiyona girerler. Amino asitlerden lizin, iki amino grubuyla, daha hızlı reaksiyona girer ve koyu rengin oluşmasına neden olur. Sistein, sülfür grubu ile, spesifik lezzetlere neden olur, fakat daha az renk oluşur. Şeker alkollerini (polioller; sorbitol, ksilitol) maillard reaksiyonlarına katılmazlar. Bunun anlamı, fırın ürünleri sorbitolle tatlandırıldığında, fırınlama esnasında renk değişmez, ya da çok az değişir (Anonim 2011).

Maillard reaksiyon aşamaları boyunca, lezzet bileşenleri ve kahverengi, yüksek molekül ağırlıklı pigmentleri, melanoidin içeren çok kompleks karışımlar oluşur. Melanoidinler kahve, ekmek ve bira gibi birçok gıdada bulunur. Bununla birlikte, şimdiye kadar, gıda bileşenlerinin bu grubunun, yapısal, fonksiyonel ve fizyolojik özelliklerine ait bilgiler oldukça sınırlıdır (Anonim 2011).

Maillard reaksiyonu ürünleri gıdanın renk ve lezzetini değiştirir ve çoğu zaman bu değişiklikler insanlar tarafından beğenilir. Buna ek olarak melanoidinler, yararlı anti-oksidan özelliklere sahiptir (Anonim 2011).

Gıda yapılarında ısı işlem sonucu oluşan bu aromalar proses aromaları veya reaksiyon aromaları olarak adlandırılır, çünkü orijinal gıda maddesinin kendisinde bulunmaz. Bu aromalar termal reaksiyon/proses ile meydana gelen aromalardır. EC (European Commission) ve IOFI (The International Organisation of the Flavour Industry) direktiflerine göre indirgen şekerler ve nitrojen kaynağının ısı işlem uygulaması sonucu elde edilen aromalar proses aromaları olarak adlandırılır (Weenen ve Rooij 1998).

Maillard reaksiyonlarının ve böylece son renk ve aromanın oluşmasında birçok farklı faktör rol oynar; pH (asitlik), amino asitlerin ve şekerlerin çeşitleri, sıcaklık, zaman, oksijenin bulunması, su, su aktivitesi (a_w) ve diğer bütün gıda bileşenleri önemlidir (Anonim 2011).

Maillard reaksiyonunun aroma oluşumu üzerine etkisinin incelendiği bir çok model sistem çalışmasında indirgen şeker veya şeker degradasyon ürünleri ile tek bir amino asidin

reaksiyona girmesi üzerine çalışılmış ve birçok çalışmada reaksiyonlar sıvı solüsyonda gerçekleştirilmiştir. Düşük sıcaklıklarda depolanan amino asit ve şeker karışımlarında depolama sırasında Maillard reaksiyonu esmerleşme belirtileri görülebilmektedir, ancak artan reaksiyon sıcaklığı ile birlikte arzu edilen renk ve aroma oluşumu da elde edilmektedir. Maillard reaksiyonunun düşük nem içeriğinde gerçekleşmeye daha yatkın olduğu bilinmektedir. Dehidrasyon olduğu bilinen kavrulmuş ve fırınlanmış gıdaların dış yüzeyinde oluşan esmer renk ve karakteristik aromalar, Maillard reaksiyonunda düşük nem içeriğinin önemini göstermektedir. Optimum Maillard reaksiyonunun 0,65-0,75 su aktivitesi aralığında gerçekleştiği bildirilmektedir. Leahy ve Reineccius (1989)'un pirazin oluşumunu inceledikleri su aktivitesi 0,32-0,84 arası olan yağsız süt tozunda, maksimum pirazin oluşumunun 0,75 su aktivitesinde oluştuğunu belirtmişlerdir. Ancak farklı çalışmalarda diğer bazı uçucu bileşenlerin oluşumları için gerekli su ihtiyaçlarına göre su aktivitesinin etkisindeki değişimler artmış veya azalmıştır (Mottram 1994).

Maillard renk oluşumunun pH 7'nin üzerinde çok iyi olduğu bilinmektedir. Bu durum amino gruplarının Maillard aracılı ile reaksiyonu sonucu meydana gelen melanoidinlerin oluşumu ile açıklanabilir, pH düşmesiyle melanoidin oluşumu da azalmaktadır. Benzer olarak artan pH ile model sistemlerde pirazin oluşumunun da arttığı belirtilmiş ve reaksiyon pH'sı 5'den düşük sistemlerde pirazin oluşumu gözlenememiştir (Mottram 1994).

pH'nın pirazin oluşumu üzerine etkisi sıcaklıkla ilişkilidir. Yüksek sıcaklıkta (180°C) pirazin oluşumu pH'dan kısmen etkilenir. Daha düşük sıcaklıklarda ise (140°C ve 100°C) pirazin miktarı alkali reaksiyon sisteminde (pH 8,5) nötr sistemden daha yüksek belirlenmiştir. Ancak reaksiyon sıcaklığı ve pH iki farklı amin grubunun (α veya ϵ) pirazin oluşumu için katılımına hiçbir zaman etki etmemektedir (Hwang ve ark. 1994).

Cremer ve Eicher (2000) glikoz ve lösinin Maillard reaksiyonu sırasında pH'ın 3-metilbutanal oluşumu üzerine etkisini incelemişler ve aldehidin oluşum oranının pH 7'de pH 3 ve pH 5'e göre daha yüksek olduğunu göstermişlerdir (alınmıştır: Taylor ve Linforth 2010).

Cerny ve Briffod (2007) pH'nın 4,0-7,0 aralığında [¹³C5] Ksiloz, sistein ve tiamin model sisteminde Maillard reaksiyonu ile sülfür oluşumunu inceledikleri çalışmada genel olarak pH'nın hangi uçucu molekölün, hangi miktarda oluşacağını belirleyen faktör olduğunu belirtmişlerdir.

Maillard reaksiyonu sonucu gıdalarda olması arzu edilen, esmerleşme, aroma maddelerinin oluşumu, antioksidan maddelerin oluşumu gibi olumlu özelliklerin yanısıra, aynı zamanda, Maillard reaksiyonları, ürünün besin değerini azaltabilir, amino asitler ve karbonhidratlar kaybolabilir. Bazen bu lezzet beğenilmez, sterilize sütteki “pişmiş lezzet” buna örnek verilebilir (Anonim 2011).

Pişirme, kavurma ve kızartma işlemleri gibi ısı uygulamalarıyla gıdalarda renk, tekstür ve aroma gibi duyu özelliklerinin belirlenmesi kaçınılmazdır. Bu yararların yanı sıra ısı uygulamaları gıdalarda sağlık için yararlı olabilecek antioksidanlar ve antimikrobiyallerin oluşumuna da sebep olmaktadır. Ancak gıdalarda potansiyel zararlı bileşikler de gıda güvenliği açısından ısı uygulamaları sonucu oluşan önemli bir sonuçtur (Gökmen ve Palazoğlu 2007). Maillard reaksiyonunun bazı son ürünleri toksik ve karsinogenik olabilir. Bu Maillard reaksiyonu ürünlerinden biri olan akrilamid yüksek sıcaklıklarda oluşan potansiyel toksik bileşiktir, özellikle fırınlanmış ya da kızartılmış ürünlerde (French fries) oluşur (Anonim 2011).

Karbonhidrat içeriği zengin gıdalarda belirgin seviyelerde bulunan, nörotoksik ve olası kanserojen etkiye sahip olduğu tespit edilen akrilamidin, asparajin amino asidi ve indirgen şekerler arasında meydana gelen Maillard reaksiyonu ile Maillard reaksiyonu veya lipid oksidasyonu sonucu ortaya çıkan karbonilik bileşiklerden meydana geldiği belirtilmektedir. Son yıllarda akrilamidin sağlık üzerindeki zararlı etkilerinden dolayı gıdalarda oluşumu üzerine büyük ilgi gösterilmiş ve akrilamid oluşumunu azaltma araştırmalarının yanında oluşum yollarını da içeren önemli boyutta araştırmalar yapılmıştır. Kabartma maddeleri, proteinler veya pH değiştiren ajanlar da dahil olmak üzere diğer gıda bileşenleri ile etkileşimi ve sinerjistik etkilerinin akrilamid oluşumu üzerine etkisi olduğu gösterilmiştir. Amino asit ilavesinin cipsler, pide ve ekmek kabuğunda akrilamid oranında azaltma etkisi olduğu öne sürülmektedir. Amino asitlerden glisin Maillard reaksiyonunda mevcut ara ürünlerle reaksiyon sonucu rekabete girerek veya akrilamidin kendisi ile Michael katılması tipi reaksiyon sonucu akrilamid oluşum oranını azalttığı belirtilmektedir (Koutsidis ve ark. 2009).

Yukarıda da açıklandığı üzere, Maillard reaksiyonu gıdalarda renk oluşumu, aroma oluşumu gibi arzu edilen özelliklerinin yanısıra, akrilamid oluşumu gibi kanserojen maddelerin oluşumuna da öncülük etmektedir. Bu araştırmada, unlu mamullerde pişirme sırasında Maillard reaksiyonu ile karakteristik aromasının oluşmasına katkıda bulunmak için hazırlanan

aroma karışımı ve bu aroma karışımının içeriğini oluşturan ksiloz ve karamel aromasının, farklı şeker, yağ oranı ve protein kaynağı içeren 9 farklı bisküvi reçetesinde, aroma oluşumuna etkilerinin yanısıra akrilamid oluşumu üzerine etkileri incelenmiştir. Reçetelerin oluşturulmasında farklı içeriğe sahip unlu mamuller dikkate alınmış ve ayrıca akrilamid oluşumunu düşürmeye yönelik farklı amino asit ve asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçeteler hazırlanmıştır.

Bu çalışmanın amacı, Maillard reaksiyonunun arzu edilen özellikleri aroma ve renk oluşumu sağlanırken, kanserojen madde akrilamid oluşumunu en aza indirecek en verimli reçetenin belirlenerek ileride yapılacak konu ile ilgili çalışmalara ışık tutmaktır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Aroma Çalışmaları ile İlgili Kaynak Özetleri

Alkil yan zincirleri olan pirazinler findıksı, kavrulmuş, toprağımsı ve yeşil aroma tatlarına sahiptir. Asetilpirazin ise patlamış mısır ve findıksı tatlara sahiptir. Pirazinler kabuklu yemişlerin ana aroma maddelerindendir ve özellikle yüksek sıcaklıkta ısıtılma işlemi gören kahve, çikolata, tahıllar ve ette aroma oluşumunda önemli rol oynarlar. Pirazinler ayrıca patates aroması oluşumuna da önemli ölçüde katkı sağlarlar. Mono, di, tri ve tetra etil pirazinlerin koku eşik değeri oldukça yüksektir (>1 ppm) ve bu nedenle bu pirazinlerin gıda aromalarında oldukça düşük etkileri vardır. Ancak bazı durumlarda 1 veya daha fazla etil grubunun metil grubu ile yer değiştirmesi ile oluşan bazı etillenmiş pirazinler pişmiş gıdalarda önemli ölçüde kavruk tada etki eden düşük eşik değerli pirazinlerdir. Pirazinlerin gıdalarda ve model sistemlerde ısıtılma işlemi sırasında oluşumu, Amadori reaksiyonu veya Strecker degradasyonu sonucu ortaya çıkan iki α -amino karbonil bileşiğinin reaksiyonu sonucu oluşmaktadır. Eğer iki α -amino karbonil diasetilden geliyorsa oluşan ana ürün pirazindir. Eğer α -amino karbonilin biri diasetilden diğeri 2,3-pentadiondan geliyorsa oluşan ürün metilpirazindir. Eğer her iki α -amino asit pentadiondan geliyorsa oluşan ürün dimetil pirazindir (Mottram 1994, Scarpello ve Soukup 1993).

Isıtılma işlemi görmüş gıdalarda Maillard reaksiyonunun yanı sıra, lipidleri kapsayan diğeri önemli bir aroma oluşum reaksiyonu mevcuttur. Bu durum termal degradasyon ile büyük miktarda uçucu maddelerin, özellikle aldehidler, alkoller, furanlar ve yağ asitlerinin alkil zincirinin oksidasyonu ile meydana gelen ketonların oluşmasını sağlar (Ho ve Chen 1994).

Pirazinler nitrojen içeren heterosiklik bileşiklerdir ve birçok pişirilmiş, kavrulmuş ve kızartılmış gıdaların en önemli kavrulmuş aromalarından biridir. Pirazinlerin direkt oluşumu, Strecker degradasyonu vasıtasıyla aminler ile α -dikarbonillerin interaksiyonu ile gerçekleşir. Kabaca aminler amino asitlerin α -amino gruplarından gelirken, şekerler de α -dikarbonillerin ana kaynağıdır. Glutamin, asparajin ve lisin gibi yan zincirlerinde nitrojen atomu içeren amino asitlerin pirazin oluşumuna katılmaları önemlidir. Çünkü birçok amino asidin α -amino grupları kullanılabilir değildir ve gıda sistemlerinde peptid bağlarını oluştururlar (Hwang ve ark. 1994).

Lisin amino asidinin α - ve ϵ - amino gruplarının her ikisi de pirazin oluşumuna katılabilirler. Gıda proteinlerinde en çok kullanılabilir durumda olan serbest amino grupları lisinin ϵ - amino grubudur. Lisinin ϵ - amino grubu bu şekilde reaksiyona katıldığında esansiyel amino asit artık kullanılabilir durumda değildir. Bu da ısıl işlem sonucu gıdada besin kaybına neden olmaktadır. Glikoz ve lisin $-\alpha$ -amin- ^{15}N in Maillard reaksiyonu sonucu pirazin oluşumu incelendiği bir çalışmada, kuru reaksiyon sistemindeki pirazin miktarının sulu sistemden 10-400 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir. Pirazin oluşumu orta derecelerdeki su seviyesinde artmıştır. Reaksiyon sisteminde en yüksek pirazin oluşumu yer değiştirmemiş pirazin, metilpirazin, ve 2,6-dimetilpirazin olarak belirlenmiştir (Hwang ve ark. 1994).

Hwang ve ark. (1994) glikoz ve lisinin Maillard reaksiyonu sonucu pirazin oluşumunu inceledikleri çalışmada, reaksiyon karışım sıcaklığının pirazin oluşumu üzerine etkili olduğu belirlenmiştir. Reaksiyon sıcaklığı düştüğünde oluşan pirazin miktarında da belirgin bir değişim gözlenmiştir. 100°C civarındaki reaksiyon sıcaklığında sadece pirazin, metilpirazin, 2,6-dimetil pirazin belirlenmiştir. Yapılan diğer çalışmalarda pirazinlerin 100°C üzerindeki sıcaklıklarda da oluştuğu belirtilmiştir. Bu nedenle uzun zincirli alkillenmiş pirazinlerin daha yüksek aktivasyon enerjisi vardır ve oluşumları için 140°C gibi yüksek sıcaklık gerekmektedir.

Sülfür içeren amino asitler S-heterosikliklerin oluşmasında önemli kaynaklardır. Bu S-heterosiklikler de birçok gıdanın karakteristik aromasına katkıda bulunur (Mottram 1994).

Bredie ve ark. (1998) mısır ununda ekstruzyon süresince oluşan aromaları incelemek üzere yaptıkları çalışmada, farklı sıcaklık (120 , 150 ve 180°C), farklı nem seviyesi (%14, %18 ve %20) ve farklı geçiş süresince (35 ve 60 sn) ekstrude edilen mısır unu ürünlerindeki uçucu moleküller gaz kromatografisi/ kütle spektrofotometresi (GC/MS) ve GC olfaktometre (GCO) ile değerlendirilerek belirlenmiştir. Ürün sıcaklığının artırılması, nem seviyesinin düşürülmesi veya ekstruzyon süresinin uzatılması, pirazinler, piroller, furanlar ve sülfür içeren heterosiklikler gibi Maillard reaksiyon ürünü olan bileşiklerin sayısı ve miktarını arttırmıştır. Düşük sıcaklık (120°C) ve yüksek nem (%22) içeriğindeki ekstruzyonda temel uçucu maddelerin lipid degradasyonu ürünü, diğer birkaç uçucu maddenin ise Maillard reaksiyonu ürünü olduğu şeklinde açıklanmıştır. Sıcaklığı yükselterek nem içeriğinin %18'e düşürülmesi pirazin ve tiofenonların oluşumunu arttırmıştır. 2-furfural, 2-furanmetanol ve alkilpirazin miktarında belirgin artış 180°C sıcaklık ve %14 nem içeriğindeki ekstruzyon ürünlerinde

belirlenmiştir. Bu koşullar altında diğer nitrojen- ve sülfür- içeren bileşiklerin oluştuğu da belirtilmiştir. GCO değerlendirmesinin 2-asetil-1-prolin ve 2-asetiltiazol bileşiklerinin ekstrude ürünlerde tahıl benzeri kokuyu sağladığı belirtilmiştir. Diğer bazı sülfür içeren bileşiklerin 180°C'de %14 nem içeriğindeki ekstrude ürünlerin aromasına katıldığı düşünülmüştür.

Hwang ve ark. (1995) yaptıkları çalışmada asparajin varlığının lizin ve fenilalanin varlığından daha fazla pirazin oluşumuna neden olduğunu belirtmişlerdir.

Hwang ve ark. (1995) birden fazla aminoasit içeren reaksiyon ortamında söz konusu aminoasitlerin aroma maddeleri oluşumdaki etkilerini ve reaksiyon içindeki rekabetlerini incelemişlerdir. ¹⁵N izotopu işaretlenmiş glisin referans olarak kabul edilerek glutamin, glutamik asit, asparajin, aspartik asit, lizin, arginin, fenilalanin veya izolösin ilave edilmiştir. Çalışma sonucu amino asit farklılıkları etki etmeden tüm örneklerde pirazinlerin varlığı belirlenmiştir. Ancak bazı yüksek molekül ağırlıklı pirazinlerin bazı aminoasitlerin varlığında oluştuğu belirlenmiştir. 2-(2-feniletıl)-5(6)-metil pirazin ve 2-(2-feniletıl)-3,5(6)-dimetil (her ikisi de fenil kalıntılarına sahiptir) pirazin oluşumunun fenilalanine, 10 pirazinin ise izolösine özgü olduğu belirlenmiştir. İzolösünün Strecker aldehidi olan 2-metilbutanal pirazin oluşumuna katıldığı belirlenmiştir. Çalışmadaki 10 pirazinin tümü de izolösün kaynaklı 2-metilbutanal grubunun pirazin halkalarına bağlanmıştır. Bu çalışmadaki tüm reaksiyon karışımları arasında sadece izolösün içeren reaksiyon karışımlarının kakao benzeri aroma içerdiği belirlenmiştir. Çalışmada belirlenen 2-metilbutanal içeren pirazinlerin kavrulmuş kakao tadına özgü olduğu tespit edilmiştir. Glisin, glutamin ve glutamik asit varlığı pirazin oluşumuna katkısı en az olan aminoasitler olarak belirlenirken, asparajin çalışmada kullanılan tüm amino asitler (glutamin, glutamik asit, asparajin, aspartik asit, lizin, arginin, fenilalanin ve izolösün) arasında pirazin oluşumuna en yüksek katkısı olan amino asit olarak belirlenmiştir. Çalışmada sadece glisin içeren reaksiyon karışımları ve glisin ile birlikte kullanılan diğer aminoasitlerin olduğu reaksiyon karışımları karşılaştırılmıştır. Glisin ve lizin içeren reaksiyon karışımında en yüksek pirazin oluşumu belirlenirken, en düşük pirazin oluşumu arginin + glisin reaksiyon karışımında belirlenmiştir. Arginin reaktif olmayan güçlü δ-guanidino grubu içerdiği için arginin içeren reaksiyon karışımında bu beklenen bir sonuçtur. Diğer yandan lizin ise Maillard reaksiyonunda en aktif amino asit olarak bilinmektedir. Lisinin güçlü nükleofil özellikle iyonize olmamış amino grubu, hızla şekerin parçalanmasını katalize eder ve Strecker degradasyonuna da katılır. Diğer aminoasitlerle birlikte kullanıldığında (bu çalışmada glisin)

pirazin oluşumunda lisinin sinerjistik etkisi olduğu belirlenmiştir. Arginin ise inhibitör benzeri etkisiyle diğer amino asitlerin pirazin oluşumuna etkisini baskılamıştır. Bu çalışmada genel olarak pirazin çeşitliliği ve miktarının reaktivite ve kullanılan amino asit tipine bağlı olduğu belirlenmiştir. Asparajin ve glutamin içeren reaksiyon karışımlarında pirazin oluşumu beklendiği kadar yüksek belirlenmemiştir. Asparajin reaksiyon sisteminde glutamin reaksiyon sisteminden daha fazla miktarda pirazin oluştuğu tespit edilmiştir. Bu da asparajinin glutaminden daha hızlı deaminasyona uğramasıyla açıklanmıştır. Asparajinden sonra en yüksek ikinci pirazin oluşumu fenilalanin içeren reaksiyon karışımında belirlenmiştir. Bu durum, buğday ununda toplam amino asit içeriğinin düşük olmasına rağmen fenilalaninin öncüsü olduğu, fenilasetaldehidin fırın ekmeklerinde neden önemli bir aroma bileşeni olduğunu açıklamaktadır.

Pirazinler alkilpirazinler, bisiklik pirazinler ve asetilpirazinler olmak üzere üç grupta toplanırken, alkil pirazinlerin ısıtılmış gıdalarda aroma oluşumuna büyük etkisi olduğu bilinmektedir. Hwang ve ark. (1995)'nin yaptığı bir çalışmada 28 alkil pirazin belirlenmiştir. Genel olarak mono-ikameli pirazinler ve ikameleşmiş metilpirazinler fındıksı ve/veya kavrulmuş tatlara sahipken, alkil-ikameli pirazinler yağlı veya balmumu tatlarına eşlik etmektedirler. Ancak tümü yeşil, ot kokusu verme eğilimindedirler. Trimetil pirazin ise doğasına çok yakın kavrulmuş karakterden fındıksı ve çikolata tatlarını vermektedir (Belitz ve ark. 2004).

Kim ve ark. (2000)'nin kavurma sıcaklıklarının Perilla çekirdeği yağındaki uçucu bileşenleri oluşumu üzerine etkisini inceledikleri çalışmada; 2- butanonu ketonların içinde en verimli oluşum gösteren uçucu bileşenler arasında belirlemiş ve lipid degradasyonundan daha ziyade şekerlerin ısıl degradasyonu ile oluştuğunu belirtmişlerdir.

Nicolau ve ark. (2000) yaptıkları çalışmada, şarap içindeki R-dikarbonil bileşikleri (diasetil, pentan-2,3-dion, glioksal ve metilglioksal) veya iki R-hidroksiketonlar (asetoin ve asetol) ve amino asitler arasındaki reaksiyonları açıklamışlardır. Sonuçlar sulu bir ortam olan şarapta Maillard ve Strecker reaksiyonu sonucu düşük sıcaklık ve düşük pH'da (~pH 3,5) oluşan hoş kokulu veya güçlü koku etkisi olan bileşiklerin meydana geldiğini göstermiştir. Sistein gibi sülfür içeren amino asitlerin varlığında pirazinler, metilpirazinler, metiltiazoller, asetiltiazoller, asetiltiazolinler, asetiltiazolidinler, trimetiloksazol ve dimetiloksazoller gibi

heterosiklik ürünlerin meydana geldiği belirtilmiştir. Sülfür, mısır benzeri, keskin, yemiş tadında, patlamış mısır, kavrulmuş fındık, kızartılmış, kavrulmuş ve olgun meyve gibi çeşitli koku ve tatları temsil eden bileşikler tespit edilmiştir.

Negrone ve ark. (2001) bazı önemli yemeklik yağları (ekstra sızma zeytin yağı, kanola yağı ve ayçiçeği yağı) sulu glikoz-lisin veya ksiloz-lisin model sistemlerine ilave ederek Maillard reaksiyonu yoluyla uçucu maddelerin oluşumuna etkilerini incelemişlerdir. Uçucu maddeler Likens-Nickerson cihazı ile ekstrakte edilerek miktarı belirlenmiştir. Gıda aromalarına önemli katkısı olan Maillard reaksiyonu sonucu oluşan pirazinlerin, her iki glikoz-lisin ve ksiloz-lisin model sistemleri içinde yağların varlığına duyarlı oldukları belirlenmiştir. Yer değiştirmemiş pirazin en fazla zeytin yağı varlığında oluşurken, bunu kanola yağı ve ayçiçeği yağı izlemiştir. 2-metilpirazin, 2,5-metilpirazin ve 2,3-dimetil pirazin ise tam tersi şekilde en fazla ayçiçeği yağı varlığında oluşurken, bunu kanola yağı ve zeytinyağı izlemiştir. Yağların oksidatif durumları ve yağ asitleri içerikleri incelendiğinde, pirazinlerin nisbi miktarlarının, yağın doymamışlık derecesine karşı hassas olduğu sonucuna varılmıştır.

Isıl işlem görmüş yağların olfaktometrik analizlerinde hekzenal, heptanal, oktanal, nonanal ve 2-dekanal, doymuş ve doymamış yağ asitlerinin kendine özgü kötü kokuları olarak belirlenir (Akoh ve Min 2002).

Hekzenal, linoleik asit veya diğer -6 karbonlu yağ asitli yağları içeren gıdalarda oksidasyon sırasında meydana gelen en önemli ikincil ürünlerdendir ve lipid oksidasyonunun takibinde kullanılmaktadır (Akoh ve Min 2002),

Uçucu olan ikincil oksidasyon ürünleri, yağların ve kızartılmış gıdaların koku ve tadına önemli katkıda bulunurlar. İkincil oksidasyon ürünleri 2,4-dekadienal, 2,4-nonadienal, 2,4-oktadienal, 2-heptanal veya 2-oktenal gibi çoklu doymamış aldehydler ise, kötü aromalar olarak değil, yağlarda karakteristik kızarmış aroma tadını oluşturan arzu edilen aroma molekülleridir. Ancak hekzenal, heptanal, oktanal, nonanal ve 2-dekanal gibi doymuş ve doymamış aldehydlerin, ısıl işlem görmüş yağlarda olfaktometri analizlerinde belirgin kötü kokulara sahip oldukları belirlenmiştir. Yüksek oleik asit içeren ısıl işlem görmüş yağlarda baskın olan meyvemsi ve plastik kokular, öncelikli olarak heptanal, oktanal, nonanal ve 2-dekanal ile ilişkilendirilir (Akoh ve Min 2002).

2-heptanon, doymuş açıl lipidlerin dekarboksilasyon reaksiyonunu takiben termal β -oksidasyon sonucu oluşan metil keton sınıfından aroma bileşenidir (Belitz ve ark. 2004).

2-oktenal yağ asitlerinin degradasyonu sonucu oluşabilen aldehitlerdendir. Linoleik asit ilk oksidasyon ürünü olan 2,4-dekadiyal'ın nem içerikli çeşitli reaksiyonları üzerinden 2-oktenal ve diğer oksidasyon ürünleri aldehitler oluşur (Ho ve Shahidi 2004, Reineccius 2006). Yağ asitleri degradasyonu sonucu oluşan aldehitlerden olan 2-oktenal yağlı, balmumu yönünde kötü tatlardan sorumludur (Ho ve Shahidi 2004).

2,5-dimetil pirazin ağırlıkla yer fıstıklarında bulunan ve yerfıstığı aromasının kavrulmuş, yanık tadını oluşturan pirazinlerdir (Ehling ve Shibamoto 2005).

Ehling ve Shibamoto (2005) pirazinler ve akrilamid oluşumu arasındaki olabilecek ilişkiyi araştırdıkları çalışmada; pirazin, 2-metil pirazin, 2,5-dimetilpirazin, 2,6-dimetilpirazin, 2,3-dimetilpirazin, 2-etil-5-metilpirazin, 2-etil-6-metil pirazin ve trimetilpirazin belirlemişlerdir. Artan sıcaklık ve ısıtma süresi ile birlikte pirazin oluşumu da artmıştır.

Aldehid uçucu bileşenleri alkoksi radikallerinin parçalanması sonucu oluşan en önemli aroma bileşenlerindedir. Aldehidler lipid moleküllerinin her iki radikal tarafının ayrılmasıyla oluşabilir. Ayrılma reaksiyonu ile oluşan ürünler yağ asitleri, oluşan hidroksiperoksit izomerleri ve dekompozisyon ürünlerinin stabilitesine bağlıdır. Sıcaklık, ısıtma süresi ve otooksidasyon derecesi değişkenleri termal oksidasyonu etkilemektedir Aldehidlerin aroma profili genellikle yeşilimsi, boyalı gibi, metalik, bakla tadında ve ransid olarak tarif edilir. Sıvı ve katı yağlarda istenmeyen aromalardan sorumludurlar. Hekzanal uzun süredir gıdalarda oksidatif bozulma belirtisi olarak kullanılmaktadır. Bazı aldehidler özellikle doymamış aldehidler çok güçlü aroma bileşenleridir. Doymamış yağ asitlerinin otooksidasyon yolu ile hidroperoksitler oluşur ve çok kararsızdırlar, uçucu ve uçucu olmayan çok geniş sayıda aroma bileşiğine parçalanırlar. Doymamış yağ asitlerinin otooksidasyonu sonucu aldehidler, ketonlar, furanlar, alkoller ve alkan, alken, alkil gibi uçucu bileşikler meydana gelir. Dekanal aroma molekülü ise oleat yağ asidi oksidasyonu sonucu oluşmaktadır ve tamamlayıcı, tatlı, balmumu gibi, boyalı gibi tatlarla ürün aroma profiline destekte bulunur (Ho ve Shahidi 2005).

2,4-dekadienal da hekzanal gibi linoleik asidin temel oksidasyon ürünlerindedir. Linoleik asitin otooksidasyonu sonucu 9 ve 13-hidroperoksitleri oluşur. 9-hidroperoksidin ayrılması 2,4-dekadienal oluşumuna, 13-hidroksiperoksidin ayrılması hekzanal oluşumuna neden olmaktadır. Nem aracılığıyla 2,4-dekadienal sonraki aşamada retro-aldol reaksiyonu ile 2-oktenal, hekzanal ve asetaldehidi oluşturmaktadır. 2,4-dekadienal derin kızartılmış gıdaların aromasına katılan en önemli aroma bileşiklerinden biri olarak bilinir. Bu aroma bileşiği linoleik asidin termal degradasyonu sonucu meydana geldiği için, kızartmalarda linoleik asit içeriği yüksek yağların kullanımı daha iyi aroma elde edilmesini sağlamaktadır. Ancak yağ uzun süre ısı ile maruz kalırsa bu uçucu bileşik kötü aromalar üretir (Belitz ve ark., 2004). 2,4-dekadienal ileri oksidasyona uğrayarak trans-epoksi-trans-dekanal meydana getirir. Bu bileşik de karanlıkta depolanmış soya fasulyesi yağının en güçlü koku maddelerinden biri olarak belirtilmektedir. Dekanal ve oktenal oleik asidin, hekzanal linoleik asit veya araşidonik asidin, 2,4-dekadienal ise yine linoleik veya araşidonik asidin otooksidasyonu sonucu elde edilmektedir. Lipidlerin otooksidasyonu sonucu oluşan alifatik ketonlar yağların ve gıdaların aromalarına katkıda bulunurlar. Guth ve Grosch (1990) geri dönüşümü yapılmış soya fasulyesi yağında aktif koku bileşiklerinden biri olan 1-okten-3-on belirlemişlerdir ve bu bileşik metalik, mantar benzeri tat olarak tanımlanmıştır. 1-okten-3-on oluşumu reaksiyon yolu linoleatın 10-hidrokdiperoksinin ayrılması üzerinden gerçekleşmektedir. Lipidlerin otooksidasyonu sonucu oluşan diğer aroma bileşikleri de furanlardır. Birçok katı ve sıvı yağda 2-pentilfuran belirlenmiştir. 2-pentilfuran linoleatın çok iyi bilinen otooksidasyon ürünü olup soya fasulyesi yağının geri dönüşümünden sorumlu bileşiklerden biridir (Ho ve Shahidi 2005).

Lipid oksidasyonuna etki eden faktörler sıcaklık, su aktivitesi, metal iyonları ve ışıktır. Birçok lipid oksidasyon reaksiyonları su aktivitesi düştükçe ($a_w < 0,2$) artmaktadır. Randsite özellikle kurutulmuş gıdalarda ana sorunlardandır. Sıcaklık arttıkça da oksidasyon oranı artar. Enzimler tarafından katalize edilen oksidasyon reaksiyonu 30-45°C'de en yüksek oranına ulaşmaktadır (Anonim 2010c, Reineccius 2006).

Koehler ve Odell (1970) 100°C'nin altında hiçbir pirazin oluşmadığını belirtirken, Shibamoto ve Bernhard (1977) ve ayrıca Leahy (1985) 70°C kadar düşük sıcaklıkta da pirazin oluştuğunu belirtmişlerdir. Tüm çalışmalarda pirazin oluşumu sıcaklık artışıyla hızlanmıştır (Reineccius 2006).

Yüksek aktivasyon enerjisi çok yüksek sıcaklıklara bağımlı olduğunu göstermektedir, bu da birçok pirazinin (kavrulmuş, fındıksı ve kızartılmış tatlar) neden depolama sıcaklıklarında değil de sadece yüksek sıcaklıklarda oluştuğunu açıklamaktadır (Reineccius, 2006). Leahy ve ark. (1989) pH 5-9 aralığında bir çalışma yaparken, Huang ve ark. (1989) pH 10 aralığını kullanmışlardır. pH'nın Maillard reaksiyonunda pirazin oluşum oranındaki büyük etkisi bilinmektedir (alınmıştır: Reineccius 2006).

Leahy (1985) a_w ve pH'ın pirazin oluşu üzerine etkisini araştırmış ve a_w 'nin 0,75'e kadar çıkmasıyla pirazin oluşumunun doğrusal olarak arttığını ve 0,84 civarında da pirazin çeşidine bağlı olarak azaldığı veya değişmediğini tespit etmiştir. a_w 0,75 civarındaki maksimum reaksiyon oranının Maillard esmerleşmesi ile tutarlı olduğu belirlenmiştir. Leahy (1985) pirazin oluşumunun her 0,1 birimlik a_w artışında 1,37 kat arttığını belirtmiştir. Benzer olarak pH 5-9 aralığında pirazin oranı ile 2-metilpirazin oluşumu arasında doğrusal bir ilişki olduğu tespit edilmiştir (alınmıştır: Reineccius 2006).

Blank ve ark. (2006) kavurma koşulları altında metilfuran ve furan oluşumunu inceledikleri çalışmada askorbik asidin furan oluşturmada en yüksek potansiyeli gösterdiği, bunu gliseril trilinolenatın izlediğini belirtmişlerdir. Linolenik asit yağ asidi bileşenine sahip lipidler de treonin ve alanin içeren Maillard sistemlerinin dahil olduğu bazı reaksiyon örneklerinde metilfuran oluşumuna neden olmuşlardır. Oksijen içermeyen atmosfer sistemi (30%) veya indirgen ajanların (örnek sülfid %60) varlığında askorbik asit içeren sistemlerde furan oluşumunda önemli düşme belirlenmiştir. Bu durum oksidasyon basamaklarının furan oluşumundaki etkisini göstermektedir. Askorbik asit ve amino asitler veya şeker ve lipidlerin ikili karışımlarında furan oluşumu %50-95 oranında azalmıştır. Bu bilgiler kompleks reaksiyon sistemlerinin, tek reaksiyon öncülleri ile karşılaştırıldığında daha düşük furan oluşumu ile sonuçlandığı ve bu durumun büyük ihtimalle reaksiyon yolları arasında meydana gelen rekabetten kaynaklandığı belirtilmiştir.

Maillard reaksiyonu sonucu oluşan önemli aroma bileşiklerinden olan pirazinlerin; glioksal ve glisin mekanizmasının, hidroksiasetaldehid ve glisinin enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonu ile farklı pH koşullarında, Fonsiyonel Yoğunluk Teorisi (Density Functional Theory) hesaplamaları kullanılarak oluşum performansları incelenmiştir. Sonuç olarak pirazin oluşumunu temel koşulların sağlamanın yanı sıra, sıvı solüsyonların gaz halindeki solüsyonlardan daha olumlu neticeler verdiği tespit edilmiştir. Glisinin izoelektrik

noktasındaki reaksiyonlar ve nötral koşullar pirazin oluşumunda, sırasıyla ikinci ve üçüncü olarak en iyi sonuçları veren sistemler olmuştur. Asidik koşullar altındaki reaksiyonlar pirazin oluşumu için en az uygun olan reaksiyonlar olarak belirlenmiştir. Amino asetaldehid, pirazin zinciri oluşumu için reaksiyonda önemli öncü maddelerden biri olarak belirtilmiştir. Hava veya oksijen varlığı 3,6-dihidropirazinden 2,3,5,6-tetrahidropirazin oluşumu için gerekli olduğu tespit edilmiştir. Suyun glioksal ve glisin ile birlikte pirazin oluşumu için gerekli olduğu ve ayrıca pirazin oluşumu sırasında yan ürün olarak da oluştuğu belirtilmiştir (Jalbot ve Shipar 2007).

Koutsidis ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada; farklı amino asitlerin ilavesiyle etkilenen akrilamid ve pirazin oluşumunu düşük nem içerikli asparajin-glikoz kapalı model sisteminde incelemişlerdir. Asparajin ile eşit konsantrasyonda glisin ve sistein ilavesi akrilamid oluşum oranını arttırmıştır. Yer değiştirmemiş pirazinler ile akrilamid arasında özellikle glioksal gibi Maillard reaksiyonu ara ürünleri oluşumunu öne süren güçlü bir korelasyon belirlenmiştir. Akrilamid oluşum oranı valin, alanin, fenilalanin, triptofan, glutamin ve lösin kullanımında artarken, 160°C'de 60 dk süreyle ısıl işlem sonucu oluşan akrilamid oranında diğer amino asitler pirolin, triptofan, glisin ve sistein içeren karışımlarda önemli bir azalma belirlenmiştir. Amino asit miktarı arttırıldıkça ters etki saptanmıştır. İkincil amin grubu içeren amino asitler prolin ve triptofan 60 dk'lık ısıl işlem sonucu akrilamid oluşumunda en derin azalma gösteren amino asitler olmuştur.

Maillard ara ürünlerinden glioksal, Strecker amininin (3-aminopropanamid) oluşumunu ve böylece ileriki aşamalarda akrilamid oluşumunu da desteklerken buna karşılık metilglioksal ise Strecker aldehidi ve 2,5-dimetilpirazin oluşumunu desteklemektedir. Ayrıca asparajin – glioksal model sisteminin 160°C'de 20 dk'ya kadar ısıtılması sonucunda akrilamid oluşumu ile pirazin oluşumu arasında korelasyon belirlenmiştir (Koutsidis ve ark. 2009).

Valin ve lösin (her iki amino asit ilavesiyle kısmen daha yüksek akrilamid ve pirazin oluşumu belirlenmiştir) dışındaki aminoasitlerde amino asit çeşidine bağlı olmadan akrilamid ile yer değiştirmemiş pirazin arasında güçlü bir korelasyon bulunmuştur. Ancak diğer etillenmiş ve metilleşmiş pirazinlerde bir korelasyon gözlenmemiştir. Sistein ve glisin, asparajin ile eşit konsantrasyonlarda kullanıldığında akrilamid oluşumunda sırasıyla yaklaşık olarak % 40 ve %20 oranında azalma belirlenen tek aminoasitlerdir. Model sisteme aspartik asit ilavesiyle akrilamid oluşumun azalması pH ile ilişkilendirilmiştir. Çünkü diğer çalışmalarda pH 5,9-6,2

aralığındayken bu çalışmada pH 5,5 olarak belirlenmiştir. Aynı çalışmada glisinin akrilamid miktarının azalması ve pirazin oluşumuna etkisi de incelenmiştir. Glisinin akrilamid üzerine etkisi, gıdalardaki aynı seviyelerde akrilamid içeren mısır nişastasında vakslanmış model sistemlerde incelenmiştir. 160°C de glisin (5, 10, 25 ve 50 mmol/kg) varlığında akrilamid azalması 60 dk'lık ısıtma sonrasında sırasıyla %10, %25, %43 ve %60 şeklinde belirlenmiştir. Ancak glisin miktarının 25'den 50 mmol/kg'a çıkarılması akrilamid oranında sadece %17'lik ilave azalma sağlamıştır. Gıdalarda hazırlanan model sistemlerde asparajinin diğer aminoasitlere oranı akrilamid oranını etkileyen faktörler arasındadır. Ayrıca akrilamid miktarındaki genel kayıplar, akrilamid konsantrasyonu arttıkça ortaya çıktığı öne sürülen konsantrasyona bağlı bir reaksiyon ile de ilişkilendirilmektedir. Patates keklerinde yapılan çalışmada, glisinin aroma oluşumuna katkısı ve akrilamid oluşumunu engelleyici fonksiyonu dikkate alınarak Maillard reaksiyonuna katılmıştır. Glisin miktarının 3 katına çıkarılmasıyla akrilamid seviyesinde 2 kat azalma tespit edilmiştir. Ayrıca farklı amino asitlerden Strecker aldehitlerinin meydana gelmesi oranın da azalmıştır. Bu durum glisinin karbonil ara ürünleriyle rekabetini belirgin bir şekilde ortaya koyarken, ortalama toplam pirazin miktarında artma belirlenmiş ancak tek başına pirazinlerin oluşum oranlarında farklı sonuçlar tespit edilmiştir (Koutsidis ve ark. 2009).

Maillard reaksiyonu ve lipid oksidasyon reaksiyonları birbirleri ile yakından ilgili olup her bir reaksiyon ürününün birbirini etkilediği belirtilmektedir. Mevcut bilgiler Maillard reaksiyonu ve lipid peroksidasyonunun çok yakından ilişkili olduğunu ve reaksiyon mekanizması kinetiğinin, gıdalarda ve proses aromalarında bulunan karbonhidrat, lipid ve protein kompleks karışımındaki ürünlerin reaksiyonları ile eş zamanlı değerlendirmesi gerektiğini öngörmektedir. Bu tip sistemlerde lipidler ve karbonhidratlar amino bileşenlerinin kimyasal modifikasyonu için rekabete girmektedirler (Taylor ve Linforth 2010).

Matsakidou ve ark. (2010)'nın margarini ekstra sızma zeytin yağı ile ikame ederek hazırlanan keklerin aroma ve fiziksel karakteristiklerini inceledikleri çalışmada, 1-heptanol'un aldehidlerin azaltılması üzerine oluşabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Kavrulmuş kahvede gaz kromatografisi-olfaktometrisi (GC-O) ile aroma bileşiklerinin belirlendiği çalışmada, bu uçucu maddelerin sadece küçük bir bölümünün (%5) kavrulmuş kahve aromasına katkıda bulunduğu belirtilirken, sülfür ve karbonil bileşikleri gibi kimyasal sınıfların aromada daha fazla etkisi olduğu, daha fazla kokuca aktif türlerden oluştuğu ve

hidrokarbon gibi türlerin ise aroma üzerinde hiçbir etkisi olmadığı saptanmıştır. Kısmen düşük koku eşiğine sahip 2,3,5-trimetilpirazin, 3-etil-2,5-dimetilpirazin veya 2-etenil-3,5-dimetilpirazin gibi alkil pirazinlerin ise; kahve, kakao, ekmek, kavrulmuş yemişler, patates kızartması ve biftek aromasına katkıda buldukları belirtilmiştir (Cerny 2010).

Matsakidou ve ark. (2010) Maderia keklerinde kullanılan margarinin ekstra sızma zeytin yağı ile yer değiştirmesinin keklerde aroma ve fiziksel karakteristikleri üzerine etkilerini incelemişlerdir. Uçucu maddeler GC/MS analizi ve SPME ekstraksiyonu ile belirlenmiştir. Bu uçucu bileşenlerin çoğunluğu pişirme sırasında ısıl indirgenme reaksiyonu sonucunda meydana gelmiş olup, aldehidler, ketonlar, hidrokarbonlar, pirazinler, esterler gibi kimyasal gruplara ayrılmaktadırlar. Aldehidlerden 2-hekzenal ve 2-dekanal sadece ekstra sızma zeytin yağı içeren keklerde, 4-heptenal sadece kontrol örneklerinde ve dekanal ise margarin ve margarin-ekstra Virgin zeytinyağı karışımı içeren keklerde belirlenmiştir. 2-hekzenal virjin zeytin yağının önemli aroma uçucu maddelerinden biridir. 2-hekzenal, linoleik asidin lipoksigenaz enzimi yoluyla enzimatik degradasyonu ile meydana gelir ve zeytin yağında oksidasyon derecesini ifade eder, zeytin yağının yeşil-meyvemsi aromasından sorumludur. 2-dekanal ise yağimsı tatlardan sorumludur ve oleik asit hidroperoksitlerinin dekompozisyonu ile oluşur. 4-heptenalın ise üretim sırasında margarinin hidrojenerasyonu ile oluşan çoklu doymamış yağ asidi izomerlerinin ısıl parçalanması sonucu olduğu öngörülmektedir. Strecker degradasyon aldehidleri 2- ve 3-metilbutanal, kek dış kabuğunda iç kısmından daha fazla olmak üzere tüm kek örneklerinde tespit edilmiştir. Diğer bir Strecker degradasyon ürünü olan fenilasetaldehid de tüm kek örneklerinde çoğunlukla dış kabuk örneklerinde mevcut olduğu belirtilmiştir. Ayrıca kontrol kek örneklerinin dış kabuklarının yüksek miktarda hekzenal ve heptanal içerdiği bildirilmiştir. Pozo-Bayon ve ark. (2007)'na göre hekzenal pandispanya keklerinin karakteristik tadını veren floral, meyvemsi ve otsu notları açıklamaktadır. Nonanal, oktanal, 2,4-dekadienal gibi aldehidlerin sızma zeytin yağının oksidatif durumu ile büyük ölçüde ilişkili olduğu saptanmıştır. 2-heptanal, 2-oktenal, 2-nonenal ve 2,4-dekadienal özellikle linoleik asid olmak üzere yağ asidi oksidasyon ürünleri olarak belirtilirken, oktanal ve nonenal'in oleik asit oksidasyonu ile olduğu belirtilmiştir. Tüm örneklerde saptanan benzaldehidin ise keklerin karakteristik tadına özgü olan acı badem notu ile ilgili olduğu belirtilmiştir. Keton grubundaki aroma moleküllerinde butan-2,3-dion (diasetil) pandispanya keklerinde daha önce yapılan çalışmalarda da belirlenmiş, 2,3-pentadion, 2-oktanon ve 3-okten-2-on ise daha çok ekmek dış kabuğu aromasıyla ilgili olduğu belirtilmiştir. Alkol sınıfındaki aroma moleküllerinden on beş aroma molekülü belirlenmiştir.

2-pentenol, 3-hekzenol, 2-hekzenol, feniletanol, ve nerolidol sadece ekstra sızma zeytin yağı kullanılan keklerde tespit edilirken, 1-penten-3-ol sadece kontrol kek örneklerinde tespit edilmiştir. Hekzenal sızma zeytin yağının önemli bir yapısı olmakla birlikte yeşil tip notları ifade etmektedir. 1-pentanol ve 1-hekzanol her ikisi de tüm keklerin dış kabuğunda belirlenmiştir. Pozo-Bayon ve ark. (2007) örneklerde belirlenen seviyelerde etkili olsa da olmasa da pandispanya keklerinde hoş olmayan tatlarla bağdaştırılmıştır. Point ve ark. (2008) ise 1-hekzanol ve 1-pentanolu ekmeklerde lipoksigenaz enzimi ve aldehid oksidoreduktaz aktivitesi göstergesi olarak belirtirken, 1-heptanolu aldehidin indirgenmesi ile de ilişkilendirilebileceğini ifade etmişlerdir. 1-okten -3-ol ise pandispanya keklerinde mantar benzeri tatlarla bağdaştırılmıştır. Pirazinlerin çoğu Maillard reaksiyonu sonucu olarak daha çok ekmek dış kabuğunda tespit edilmiştir. 2,6-dimetilpirazin, trimetilpirazin, vinilpirazin ve 6-metil-2-vinilpirazin pandispanya kekine karakteristik kavrulmuş tadını veren aroma molekülleridir. Ayrıca 2-etil-3,5-dimetilpirazin ve 2-etil-3,6-dimetilpirazin çavdar ekmeği dış kabuğunda önemli alkil pirazinler olarak belirtilmiştir. Furan türevleri içinde ise 4-hidroksi-, 2,5-dimetil-3(2H)-furanon, 2(5H)-furanon ve furfural keklerin dış kabuğunda belirlenmiştir. Bunlar dışında büyük miktarda 2-pentilfuran (>kat) ve 2-furanmetanol kontrol kek örneklerinin iç ve dış kısmında belirlenmiştir. Poinot ve ark. (2008) ekmeklerde 2-pentilfuran kaynağını Maillard reaksiyonu ve lipid oksidasyonu olarak belirtmişlerdir. 2-pentilfuran yemeklik yağlarda linoleik asit oksidasyonu ürünü olarak saptanmıştır.

2.2. Akrilamid çalışmaları ile ilgili kaynak özetleri

Lisin ve sistein ilavesinin akrilamid oluşumunu düşürdüğü ve alaninin akrilamid oluşumuna nötr etkisi belirlenirken; glutamin, kapalı model sistemlerde akrilamid oluşumunu arttırmıştır (Claeys ve ark. 2005).

Sukroz yerine invert şekerin kullanıldığı zencefilli kekler, bisküviler ve krakerlere amonyum hidrojen karbonat eklenmesi akrilamid miktarını önemli ölçüde arttırmıştır. Tüm ürünlerde amonyum hidrojen bikarbonat yerine sodyum hidrojen bikarbonat kullanılması akrilamid miktarını %70 oranında azaltılmıştır. Glikoz-asparajin sistemlerinde ise sodyum hidrojen bikarbonatın kullanılması çok az akrilamid artışına neden olduğu saptanmıştır ki bu durum kısmen daha yüksek pH ile açıklanabilir. Sodyum hidroksi bikarbonatın sitrik asitle birlikte kullanıldığında azalan pH, zencefilli keklerde akrilamidin düşme sebebinin de açıklamaktadır (Amrein ve ark. 2004).

Bu nedenle Amrein ve ark. (2004)'na göre zencefilli kek gibi tatlı unlu mamullerde amonyum hidrojen bikarbonat kullanımından kaçınılmalıdır. Yerine kullanılacak sodyum hidrojen bikarbonatın ürüne getireceği alkali karakter tüketici tarafından tercih edilmese de sitrik asit ilavesi ile kısmen maskelenebilir.

Unlu mamullerde pişirme sırasında akrilamid miktarı ilk 20 dk'da düzenli artış göstermekte, kızartılmış patates ürünlerinde ise bunun tersine genellikle akrilamid oluşumu kızartmanın son aşamalarında gerçekleşmektedir. Amrein ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada akrilamid miktarı 200°C'de pişirilen ürünlerde 180°C'de pişirilen ürünlerden biraz daha yüksek belirlenmiştir. 180°C'de pişirilen ürünlerde *L* değeri ile akrilamid miktarı arasında korelasyon tespit edilmiştir. Ürün rengi koyulaştıkça akrilamid konsantrasyonu artmıştır. Bu nedenle az miktarda akrilamid içeren ürünler için uzatılan pişirme süresi ve koyu renkli ürün oluşturulmasından kaçınılmalıdır. Düşük sıcaklıkta uzun süreli pişirme işlemi ile aynı esmerleşme oranı elde edildiğinde akrilamid içeriğinde azalma tespit edilmemiştir. Hatta genellikle düşük sıcaklıkta uzun süreli pişirme işleminin daha yüksek akrilamid miktarı ile sonuçlandığı belirtilmiştir. 200°C'de 10 dk pişirilen zencefilli kekler ile aynı renkte olan 160°C'de 20 dk pişirilen keklerdeki akrilamid miktarı sırasıyla 440 ve 910 µg/kg olarak belirlenmiştir. Bu nedenle yüksek sıcaklıkta kısa süreli pişirme işlemi, zencefilli keklerde daha düşük akrilamid miktarı elde edilmesini sağlamıştır.

Amrein ve ark. (2004)'nın zencefilli keklerde yaptıkları çalışmada, L-glutamin, L-lisin veya L-glisin ilavesi (2000 mg/kg hamur) akrilamid miktarını düşürmemiş ancak esmerleşmeyi arttırmıştır. Bu da yüksek miktarda α-amino grubunun reaksiyona girerek Maillard reaksiyonu ile melanoidinleri oluşturması ile açıklanmıştır. Ancak glisin miktarının artırılması (10000 mg/kg hamur) akrilamid miktarını üçte birine düşürmüştür. Ayrıca, serbest asparajin miktarının akrilamid oluşumunda sınırlayıcı olduğunu, ancak indirgen şekerlerin sukroz ile ikame edilmesi veya organik asit ilavesinin de akrilamid miktarını düşürmede etkili olduğunu belirtilmiştir. Akrilamid miktarını büyük ölçüde azaltmak için en etkili yolun kabartma ajanı olarak sodyum hidrojen karbonat kullanılması, serbest asparajin miktarının en aza indirgenmesi ve uzatılan pişirme sürelerinden kaçınılması olduğu ileri sürülmüştür.

Fiselier ve ark. (2004) patates püresi ve patates tozu kullanarak hazırladıkları patates köftelerini süt tozu veya yumurta kullanarak yağda kızartmışlar veya fırında pişirmişlerdir.

Kullanılan ingrediyanlerin akrilamid oluşumu üzerine etkisini patates püresi ile başlayan model sistemlerde incelemişlerdir. Patates püresindeki potansiyel akrilamid miktarı 310 µg/kg olarak belirlenmiştir. %8,2 oranında yağı alınmış süt tozu ilavesi (genelde %2 ve %5 arasında ilave edilir) akrilamid miktarını 1210 µg/kg'a çıkarmıştır. Süt tozu potansiyel akrilamid oluşumunu azaltma eğiliminde olan proteinleri ve ayrıca indirgen bir disakkarit olan yaklaşık %50 laktoz içerir. Süt tozu yerine %3,9 laktoz kullanılması hemen hemen aynı miktarda akrilamid oluşumu ile sonuçlanmıştır. %37,5 süt yaklaşık %1,8 laktoz sağladığı belirtilmiştir. Yumurta sarısının belirgin bir etkisi olmazken, yumurta beyazı akrilamid miktarında çok az bir artışa neden olmuştur.

Kita ve ark. (2004)'nın yaptıkları çalışmada, düşük sıcaklıkta kısa süreli kızartma işlemini takiben kabul edilebilir nem düzeyine kadar kurutulan patates cipslerinde akrilamid oluşumunda büyük ölçüde azalma belirlenmiştir.

Brathen ve ark. (2005) tahıl ve patates ürünlerinde glisin ilavesiyle akrilamidi düşürmek için yaptıkları çalışmada, glisinin hamurun hazırlanması sırasında ilave edilmesinin pide ve ekmek kabuğunda akrilamid miktarını büyük ölçüde düşürdüğü saptanmıştır. Ekmek kabuğunda akrilamid azalması pişirme koşullarına bağlı olarak %50 ile %90 arasında değişirken, pidelerde azalma %60 ile >% 95 arasında değişmiştir. Düşük miktarda glisin ilavesinin (81 mmol/kg un) dahi akrilamid miktarını ekmek kabuğu ve pidelerde sırasıyla %73 ve %96 azalttığı belirtilmiştir. Ekmeklerde artan sıcaklık ve pişirme süresi ile akrilamid artarken, pidelerde maksimum 200°C'de uzun süreli pişirme sonucu akrilamid miktarında azalma belirlenmiştir.

Glisin dışında diğer sülfür içeren amino asitlerin unlu mamullere ilavesi de akrilamid miktarını azaltmada başarılı olmuştur. Levine ve Smith (2005)'in yaptıkları çalışmada krakerlere veya patates hamuruna sistein ve metiyonin ilavesinin akrilamid miktarını %50 azalttığını, söz konusu azaltmada amino asitlerin asparajin ile rekabetinin etkili olduğunu belirtmişlerdir. Claus ve ark. (2005) fermentaston öncesi ekmek hamuruna ilave ettikleri sistein akrilamid miktarını %50 düşürürken, ekmek yüzeyine uygulanan sistein solüsyonu, hiçbir etki göstermemiştir ki bu da muhtemelen sert ekmek kabuğunda sistein geçişinin sınırlanmasıyla açıklanır.

Ehling ve Shibamoto (2005)'nin asparajin-D-glikoz Maillard model sisteminde farklı sıcaklıklarda, akrilamid, renk, aroma ve antioksidan oluşumunu inceledikleri çalışmada, en yüksek akrilamid miktarı 170°C'de 30 dk süreyle ısıtılan asparajin /glikoz (3:1) model sisteminde 2629 µg/kg olarak belirlenmiştir. Sıcaklık ve ısıtma süresi, renk yoğunluğu arttıkça artmıştır. Pirazin oluşumu sıcaklık 140°C'den 170°C'ye çıktıkça ve süre 15 dk'dan 60 dk'ya uzadıkça pirazin oluşumu da düzenli olarak artmıştır. Artan asparajin/glikoz oranı akrilamid seviyesini, toplam pirazin oluşumunu, kahverengi renk oluşumunu azaltırken, antioksidan seviyesini arttırmaktadır. Antioksidan aktivitesi farklı numunelerde ısıl işlem koşullarına göre değişkenlik göstermiştir. Akrilamid ile esmerleşme arasında yüksek bir korelasyon belirlenmiştir. Akrilamid oluşumu Maillard reaksiyonun ilk aşamalarında toplam pirazin oluşumu ile de doğrusal korelasyon göstermiştir. Akrilamid ile antioksidan oluşumu arasında ise belirgin bir korelasyon belirlenmemiştir. Ancak aşırı miktardaki asparajin antioksidan miktarını arttırırken, aşırı miktardaki glikoz antioksidan miktarını azalttığı belirtilmiştir. Genellikle sıcaklık yükseldikçe, akrilamid parçalanması başlamaktadır. Rydberg ve ark. (2003)'nin belirttiğine göre akrilamid eliminasyonu genellikle 160°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda meydana gelmektedir. Ancak akrilamid eliminasyonu pratikte çok önemli değildir, çünkü yüksek sıcaklıkta pişirilen veya pişirme süresi uzatılmış ürünlerin rengi kabul edilemeyecek kadar koyu ve kuru olmaktadır.

O'Brien ve ark. (1989) yaptıkları çalışmada aşırı miktarda indirgen şeker içeriğinin, kahverengi rengin artmasında amino asit miktarından daha çok etkili olduğunu belirtmişlerdir (alınmıştır: Ehling ve Shibamoto 2005).

Khanbari ve Thompson (1993) yaptıkları çalışmada kızartmadan önce amino asit solüsyonu içinde bekletilen patateslerde, glutamini kızartılmış renk oluşumunda ana amino asit olarak belirtirken, asparajini parlaklık ve renk kalitesini sağlayan amino asitten sorumlu olarak tespit etmişlerdir.

Isıl işlem görmüş gıdalarda akrilamid oluşumunu azaltmak veya ortadan kaldırmak olması gereken bir yaklaşım olmasına rağmen, bu durum ancak gıdanın aroması ve renk oluşumu gibi arzu edilen özelliklerinden fedakârlık edilerek mümkün olabileceği belirtilmektedir (Ehling ve Shibamoto 2005).

Claeys ve ark. (2005)'nin asparajin dışındaki diğer aminoasitlerin, 140-200°C'de ısıtılmış asparajin-glikoz model sistemlerinde (0,01 M, pH 6) akrilamid oluşumu ve eliminasyonu üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada sistein ve lisin ilavesinin akrilamid oluşumunu büyük ölçüde düşürdüğünü, glutamin ilavesinin akrilamid oluşumunu güçlü bir şekilde tetiklediğini ve alanin ilavesinin ise akrilamid oluşumu üzerine neredeyse nötr etkisi olduğunu saptamışlardır. Lisinin akrilamid oluşumunu düşürme etkisi Maillard reaksiyonu sırasında şeker için asparajin ile rekabeti ile ilişkilendirilmiş, sisteinin ise akrilamid ile bağlanma-oluşumuna girerek akrilamid miktarını azalttığı belirtilmiştir.

Lambert ve Kokini (2001) yaptıkları çalışmada, sülfür içeren amino asitlerin ve sülfhidril bileşiklerinin ısıtılmış gıdalarda genel olarak akrilamid oluşumunu azaltabileceğini belirtmişlerdir. Ancak bu amino asit veya bileşiklerin ilavesi gıdalarda istenmeyen kötü tat/kokulara neden olduğu için kullanımı sınırlandırılmıştır. Sistein buğday ununa eklenerek, gluten proteinlerinin tiol/disülfid ile karşılıklı değişimi ile hamurun yumuşaması ve ekmeğin iyileştirilmesini sağlamaktadır.

Graf ve ark. (2005) yarı mamul bisküvilerin endüstriyel bazda akrilamid içeriğini düşürmek için yaptıkları çalışmada, kabartıcı ajanlar, indirgen şekerler ve organik asitlerin tatlı unlu mamullerde akrilamid oluşumunu en çok etkileyen ingrediyanlar olduğunu tespit etmişlerdir. Yaptıkları çalışmada amonyum hidrojen bikarbonat yerine sodyum hidrojen bikarbonat kullanılması akrilamid içeriğini yaklaşık %70 düşürmüştür. İnvert şeker şurubu yerine sükroz solüsyonu kullanılması da benzer etkiyi göstermiştir. Bir miktar tartarik asit ilavesi ise akrilamid içeriğini 1/3 oranında azaltmıştır. Sonuçlar kabartıcı ajanlar, indirgen şekerler ve organik asit kullanımının optimizasyonu ile yüksek kalite standartlarına da uygun olacak şekilde endüstriyel bazda akrilamid azaltılmasının sağlanabileceği belirtilmiştir.

Amonyak ilave edilmiş reaksiyonlarda da akrilamid oluşumunda artış belirlenmiştir. Amonyak ilavesi, şekerin parçalanması ve reaktif karbonilik ara ürünlerin meydana gelmesini hızlandırarak akrilamid oluşumu da hızlandırmaktadır (Amrein ve ark. 2006).

Patates keklerinde yapılan çalışmada hamur ağırlığına %0,39 ve %1,39 oranında glisin ilavesi akrilamid oluşumunu sırasıyla %30 ve %70 oranında azaltmıştır (Low ve ark. 2006).

Benzer sonuçlar glisin solüsyonunun ısıtma işlemi öncesi mayalanmış ekmeklerin üzerine püskürtülmesi sonucu ve ayrıca hamur içine ilave edilmesi sonucu belirlenmiştir (Fink ve ark. 2006; Sadd ve ark. 2008)

Gökmen ve Şenyuva (2006) glikoz-asparajin model sistemde katyonların akrilamid oluşumu üzerine etkisini incelemişler ve katyonların varlığında akrilamid oluşumu azalırken, hidroksimetilfurfural ve furfural oluşumunun arttığını belirtmişlerdir. Katyonların akrilamid oluşumu için ana ara ürün olan Schiff bazı oluşumunu engellediği ve esasen reaksiyon yolunu hidroksimetilfurfural ve furfural oluşumuna öncülük eden glikoz dehidrasyonuna çevirdiğini kanıtlamışlardır.

Summa ve ark. (2006) model bisküvilerin akrilamid içeriği ve antioksidan aktivitesi arasındaki korelasyonu araştırdıkları çalışmada, pişirme süresi arttıkça bisküvilerin akrilamid içeriği de artmıştır, 30 dk'lık pişirme sonunda akrilamid miktarı 15 dk'lık pişirmede oluşan akrilamidin 8 katına çıkmıştır. Pişirme sırasında sıcaklık 180°C'de sabit tutulmuştur. %22 sukroz içeren reçetede en yüksek akrilamid konsantrasyonu 20 dk'lık pişirme sonunda 63 ng/g olarak belirlenirken, aynı süre sonunda diğer reçetelerde %23 sukroz içeren reçetede 37 ng/g ve %16 sukroz içeren reçetede 406 ng/g akrilamid belirlenmiştir. Nem içerikleri %22 ve %23 sukroz içeren reçetede birbirine çok yakinken, %16 sukroz içeren reçetenin nem içeriği $\frac{3}{4}$ oranında daha az olarak belirlenmiştir. Farklı şeker çeşitlerinin etkisi incelendiğinde fruktoz kullanılan reçetede akrilamid oluşumu pişirme süresi ile doğrusal olarak artış gösterirken, sukroz kullanılan reçetede gittikçe artan akrilamid içeriği belirlenmiştir. İndirgen bir şeker olan fruktoz asparajin ile hemen reaksiyona girerek akrilamid oluşumunu pişirmenin başlangıç aşamalarında oluşturmaktadır. Sukrozun asparajinle reaksiyona girebilmesi için iki indirgen şeker olan glikoz ve fruktoza parçalanması gerekir, böylece pişirmenin ileri aşamalarında artan indirgen şeker miktarı ile akrilamid miktarı da gittikçe artış göstermiştir. Şeker miktarının akrilamid konsantrasyonuna etkisi incelendiğinde şeker ilave edilmeyen reçete en yüksek akrilamid miktarına sahip olduğu 30 dk'lık pişirme sonunda akrilamid miktarının daha da arttığı belirtilmiştir. Yüksek akrilamid miktarının nedeni şeker içermeyen reçetede protein oranı, özellikle asparajin oranının yüksek olması ile açıklanmıştır.

Gökmen ve ark. (2006b) patates kızartmalarında kızartma süresi ve sıcaklığının, yüzeyde ve merkez alanlarında akrilamid oluşumuna etkilerini incelemişlerdir. Patates dilimlerinde 150°C, 170°C ve 190°C'de kızartma süresince yüzey ve merkez sıcaklıkları ölçülmüştür.

Kızartma süresince kızartma sıcaklığından bağımsız olarak merkez sıcaklığı 103-104°C'nin üzerine çıkmamış, ancak yüzey sıcaklığı çok daha yüksek belirlenmiştir. Sonuçlar yüzeydeki ve merkezdeki akrilamid miktarı arasında çok büyük farklılık olduğunu göstermiştir. Yüzeydeki akrilamid miktarı 150°C, 170°C ve 190°C'de 9 dakikalık kızartmadan sonra sırasıyla 72, 2747 ve 6476 ng/g olarak belirlenmiştir. Merkezde ise 9 dakikalık kızartmadan sonra 150°C ve 170°C'de akrilamid belirlenmezken, 190°C'de ise sadece 376 ng/kg akrilamid belirlenmiştir. 150°C'de kızartma sırasında yüzey sıcaklığı 120°C'nin üzerine çıkmamış olmasına rağmen, bu sıcaklıktaki akrilamid oluşumu için sıcaklığın 120°C'nin üzerinde olması gerektiğini göstermiştir.

Gökmen ve ark. (2006a) kurabiye model sitemlerinde, hamur formülü ve pişirme sıcaklıklarının akrilamid ve hidroksimetilfurfural (HMF) oluşumu üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada 205°C'de 11 dakika pişirme süresince şeker konsantrasyonu arttıkça akrilamid oluşumunun da arttığını belirtmişlerdir. Şekerin akrilamid üzerine etkisi sukrozdan daha çok glikozda göze çarpmıştır. Sukroz içeren hamur formülüne sitrik asit ilave edilmesi akrilamid oluşumunu artırırken, glikoz içeren hamur formülüne ilave edilen sitrik asit akrilamid oluşumunu azaltmıştır. Bu durum da sukrozun aşırı hidrolizi ile reaktif şeker konsantrasyonunun artması ile ilişkilendirilmiştir. Hamur formülünde pH değerinin azalması, yüzeyin kahverengileşme ve HMF oluşumu eğilimini arttırmıştır. Pişirme sıcaklığı ve süresinin etkisini incelemek için hazırlanan hamurlar başlangıçta akrilamid içermemektedir. Sukroz içeren hamurda 10 dakikalık pişirme sonrasında akrilamid miktarı yavaşça artmıştır. Tüm sıcaklıklarda ilk 10 dakikalık pişirmeden sonra ölçülen su aktivitesi değeri 0,4 veya daha fazla olarak belirlenmiştir. Evaporatif soğutucu kullanıldığı için sukrozun daha fazla glikoz ve fruktoza hidrolizi ve böylece akrilamid oluşumu da sınırlandırılmıştır. Kurabiyelerin akrilamid konsantrasyonu 180°C'de 15 dk pişirme sonunda artarak sabitlenmiştir. Bu değerlerin glikoz kullanılan reçetede sukroz kullanılan reçeteden daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlar, kabul edilebilir düzeyde tekstür ve renge sahip, 150 ng/g'dan daha az akrilamid içeren kurabiyelerin, pişirme sıcaklığı düşürülerek ve reçetede indirgen şeker kullanımından kaçınılarak üretilerile bilineceğini göstermiştir.

Sıcaklık dışında ürün yüzeyine uygulanan ısı transferi de akrilamid oluşumunu etkileyen önemli faktörler arasındadır. Haase ve ark. (2003) ile Claus ve ark. (2007) katlı ve konveksiyonlu fırın kullanarak yaptıkları çalışmada, beyaz ekmeği sırasıyla 220°C ve 260°C'de 60 dk pişirerek akrilamid oluşumu üzerindeki farklılığı incelemişlerdir. 220°C'de

akrilamid seviyesi konveksiyon fırınlarda çok katlı fırınlardan 109,6 µg/kg'dan 173,9 µg/kg'a çıkarak %60 artmıştır, ancak 260°C'de bu artış sadece %35 olarak belirlenmiştir. Konveksiyon fırınlardaki yüksek akrilamid miktarı hava sirkülasyonu ile ekmek kabuğunda daha hızlı ve yoğun kurumadan kaynaklanır. Yüksek nem içeriği Maillard reaksiyonu boyunca akrilamid oluşumunu hızlandırdığı için, unlu mamullerde akrilamid seviyesini düşürmek için katlı fırınlar daha avantajlıdır (Claus ve ark. 2007).

Fırın tipine bağlı olarak kahvaltılık tahıl ürünleri üretiminde kullanılan ekstruzyon prosesinin akrilamid oluşumuna önemli etkisi vardır. Ekstruzyon pişirme işlemi nişastayı jelatinize etmesinin yanı sıra, ekstruzyonun sonunda tahıldaki suyu uzaklaştırarak, kızarma meydana gelmeden veya çok az kızarma ile Maillard reaksiyon ürünlerinin güçlükle gelişmesine neden olmaktadır. Diğer birçok proseste renk, aroma gelişimi için belirgin bir kızarma aşaması vardır, bu nedenle akrilamid oluşum eğilimi 100 µg/kg'a kadar çıkmaktadır (Claus ve ark. 2007).

Sıcaklık ve kullanılan makinelerin yanı sıra tahıl ürünlerinde proses kullanımı da akrilamid oluşumunda önemli rol oynar. Yapılan çalışmalarda fermantasyon süresinin akrilamid seviyesine büyük etkisi olduğu tespit edilmiş, fermantasyon mayasının büyük miktarda serbest asparajini tükettiği belirtilmiştir. Bu nedenle fermantasyonun 1 saat uzatılması endüstriyel ekmeklerde akrilamid miktarını büyük ölçüde düşürmede etkili olmuştur, ancak Yapılan çalışmalarda 3 saati aşan fermantasyon süresinin, gluten ağını bozduğu ve sonraki aşamalarda ekmek ve pidelerde düzleşmeye neden olduğu için uygun olmadığı belirtilmiştir (Claus ve ark. 2007).

Formulasyon, proses teknolojisi ve yönetimi ile ilgili değişiklikler her zaman duyuşal özelliklerde de değişikliğe neden olacağından tüketici onayını etkilemekte ve dolayısıyla her zaman risk oluşturmaktadır. Bu nedenle de düşük moleküllü tüketilebilen asitler, amino asit ve katyon ilavelerine yönelmişlerdir. Fırınlanmış mısır cipslerine ilave edilen sitrik asit, akrilamid miktarını doğrusal olarak düşürmüştür ki bunun da düşük pH'dan kaynaklandığı öngörülmektedir. Benzer etkiler bisküvi ve kraker modellerinde laktik, tartarik, sitrik, hidroklorik asit ilavesinde de belirlenmiştir. Tüm çalışmalarda artan asit miktarı dolayısıyla %30 pH düşmesi, akrilamid azalmasına neden olmuştur. Azalan pH değeri orta seviyede Maillard reaksiyonu geliştirirken akrilamid oluşumunu düşürmektedir. Ancak Maillard reaksiyonunun daha da azalması, kahverengileşme ve aroma oluşumunun da azalması ile

sonuçlanmaktadır, dolayısıyla asit ilavesi her ürün için ayrıca değerlendirilmelidir (Claus ve ark. 2007).

Asparajinaz enzimi ilavesi de akrilamid düşürülmesi için uygulanan diğer bir yöntemdir. Asit varlığında olduğu gibi asparajinaz enzimi ilavesiyle asparajin aspartik aside hidrolize olmakta, böylece Maillard reaksiyonu ile akrilamid oluşumunu inhibe etmektedir. Vass ve ark (2004) Buğday krakeri üretimine enzim preparatı ilavesi ile ürün rengi ve aromasında hiçbir değişiklik olmadan akrilamid miktarını %70 oranında düşürmüşlerdir (Claus ve ark. 2007).

Farklı amino asitlerin akrilamid oluşumu üzerine etkisinin incelendiği çalışmalarda Brathen ve ark. (2005) genel üretim şartlarında fermantasyondan önce ekmek hamuruna glisin ilave ederek akrilamid miktarını pidelerde %80 azaltmış, ekmeklerde ise akrilamid miktarını 202 µg/kg'dan <25 µg/kg'e indirerek %90 azalma sağlamışlardır. Ancak bu çalışmada ilave edilen glisin miktarı çok yüksektir. Un ağırlığı başına %1,5 ve %3 glisin ilavesi sonucu akrilamid miktarının düşmesi, bu amino asitlerin Maillard reaksiyonunda asparajinle rekabete girmesiyle ilişkilendirilir. Fink ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada %10 glisin solüsyonunu, pişirmeden önce hamur yüzeyine sprey şeklinde uygulamışlardır. Tek uygulamada akrilamid oluşumu üzerine etkisi belirlenemezken, sekiz kez tekrarlanan spreyleme ile akrilamid miktarı %16 düşürülmüştür. Yapılan diğer bir çalışmada patates keklerini glisin solüsyonuna daldırarak akrilamid miktarını %60 azaltılmış ve bu durum glisinin indirgen şekerlerle reaksiyona girmek için asparajin ile rekabeti ile açıklanmıştır. Ayrıca asparajinin Michael katılmasıyla glisinin nükleofilik amino grubu ile de reaksiyona girebileceği belirtilmiştir (Claus ve ark. 2007).

Claus ve ark. (2007) amilaz, amiloglikozidaz ve proteaz gibi ekmeklerde sıklıkla kullanılan enzim preparatları ile yaptıkları çalışmada artan amilaz aktivitesi ile indirgen şekerler varlığında asparajin miktarının değişmediği belirlenmiştir. Sonuç olarak enzim içeren unlu mamul iyileştirici karışımların kullanımı akrilamid miktarını değiştirmemiştir.

Farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalarda beslenmeyle tüketilen akrilamid miktarları yayınlanmıştır. Beslenme ile tüketilen ortalama akrilamid miktarları yetişkinler için günlük 0,3-0,6 µg/kg vücut ağırlığı iken, çocuklar ve gençlerin beslenme alışkanlıklarına bağlı olarak vücut ağırlığı başına daha fazla akrilamid tükettikleri belirlenmiştir (0,4-0,6 µg/kg) (Claus ve ark. 2007).

Tahıllarda kötü hava koşulları sonucu buğdayın filizlenmesi, tahıl ürünleri üretiminde bazı problemlere neden olur. Tahıl ürünlerinde asparajin akrilamid oluşumu için sınırlayıcı faktördür ve bu tip buğday ürünlerinden üretilen ekmeklerde akrilamid miktarının önemli miktarda arttığı belirlenmiştir. Bu nedenle bu tip buğdaydan üretilen unların diğer un çeşitleri ile karıştırılsalar dahi ekmek yapımında kullanılmamaları önerilmektedir (Claus ve ark. 2007).

Claus ve ark (2006) 9 buğday, 2 *Triticum sativum* spelta buğdayı, 2 çavdar çeşidi ile farklı tahıl çeşitlerinin akrilamid miktarı üzerine yaptıkları çalışmada bitki çeşidinin akrilamid oluşumu üzerine önemli etkisi olduğunu belirlemişlerdir. Buğdaydaki asparajin 8,7-24,9 mg/kg aralığında değişmiştir. Bu nedenle akrilamid de 14-74 µg/ kg arasında değişkenlik göstermiştir. Genel olarak yüksek protein kalitesindeki çeşitler yüksek akrilamid içeriği ile sonuçlanmıştır.

Unlu mamullerde asparajin akrilamid oluşumunda sınırlayıcı faktör olsa dahi şekerin de akrilamid oluşumunda önemli rolü vardır. Vass ve ark. (2004)'nın yaptığı çalışmada invert şekerin sukroz ile yer değiştirmesi buğday krakerlerinde akrilamid miktarını %60 azaltmıştır. Bu sonuç Maillard reaksiyonunda önemli etkisi olan fruktoz ve glikoz gibi reaktif karbonillerin eksikliği ile açıklanabilir. Bu nedenle Maillard reaksiyonundaki azalma ile bu ürünlerin kahverengi oluşumunda da ciddi azalmalar meydana geldiği belirtilmiştir (Claus ve ark. 2007).

Kolek ve ark. (2006) model sistemlerde yaptıkları çalışmada NaCl kullanımının akrilamid oluşumu üzerine önemli etkisi olduğunu tespit etmişlerdir. %1 NaCl kullanılan model sistemlerde akrilamid miktarı %40 azalırken, artan NaCl kullanımı akrilamid miktarını kısmen daha da düşürmüştür. Gökmen ve Şenyuva (2007) yaptıkları çalışmada NaCl eklenmesinin asparajin ve indirgen şekerler arasında meydana gelen Schiff bazı reaksiyonunu engellemesi ile açıklamaktadır. Voelker (2005)'in yaptığı çalışmada artan NaCl kullanımı akrilamid miktarını azaltsa da tuz ilavesinin maya gelişimine engel olduğunu belirtmişlerdir.

Weisshaar (2004) yaptığı çalışmada unlu mamullerde badem, fındık, susam ve haşhaş tohumu kullanımının akrilamid oluşumu üzerine etkisini incelemiş ve yüzeye yakınlık oranına bağlı olarak fındık dışındaki tüm bu ingrediyenlerin akrilamid miktarını arttırdığını belirtmiştir. Bu

tür ingrediyenlerin tatlı unlu mamullerde özellikler direkt olarak yüzeye uygulanması akrilamid miktarını büyük ölçüde arttırdığı belirtilmektedir.

Tahıl ürünlerinde ısı düzen ve son nem içeriği akrilamid oluşumunda çok önemli faktörlerdir. Surdyk ve ark. (2004) ve Claus ve ark. (2005) akrilamidin ağırlıklı olarak ekmek kabuğunda oluştuğunu, %99'dan fazlası ekmek dış kabuğunda, ekmek içinde ise eser miktarda bulunduğunu belirtmişlerdir. Bu durum unlu mamullerin iç kısımlarının 100°C gibi daha düşük sıcaklığa eriştiği ile açıklanmaktadır. Surdyk ve ark. (2004) ekmek içinde bulunan akrilamidin ekmek kabuğundan geçiş yaptığını belirtmişlerdir. Taeymans ve ark. (2004) 220°C sıcaklıktaki fırında pişirilen bisküvilerin sıcaklık-süre ilişkisinin akrilamid oluşumu üzerine etkisini inceledikleri çalışmada, suyun buharlaşma etkisiyle yüzey sıcaklığını düşük (120°C) belirlerken, iç sıcaklığı da 80°C'yi aşmamıştır. Yüzeyde belirlenen akrilamid miktarı 270 µg/kg iken iç kısımda belirlenen akrilamid miktarı 128 µg/kg'dır. Bu çalışmada belirtilmemiş olsa da, iç kısımda belirlenen akrilamidin dış yüzeyden geçiş yaptığı ön görülmektedir. Akrilamid oluşumu sıcaklık-süre dengesiyle direkt ilişkilidir. Kuru tahıl ürünlerinde akrilamid miktarı 180-200°C'lerde maksimum seviyeye ulaşırken, daha yüksek sıcaklıklarda hızlı degradasyonu sonucu akrilamid miktarında azalmalar belirlenmiştir. Ayrıca kuru ve sert ekmek kabukları akrilamidin hareket kabiliyetini ve dolayısıyla ileri reaksiyonları engellemektedir. Bu çalışmada süre ve sıcaklığın ekmeklerin özellikleri üzerine etkisi de test edilmiştir. 200°C/70 dk pişirilen ekmekler ve 240°C/50 dk pişirilen ekmekler aroma, renk ve koku açısından neredeyse aynı olmalarına rağmen akrilamid miktarının ikinci denemede (240°C/50 dk) oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar düşük sıcaklıklarda pişirme süresinin uzatılmasının akrilamid miktarını minimize etmek için uygun olduğunu göstermektedir. Surdyk ve ark. (2004), Taeymans ve ark. (2004), Haase ve ark. (2003) yaptıkları çalışmalarda, çavdar ekmeklerinin düşük sıcaklıkta uzun süreli pişirilmesi sonucu akrilamid miktarının %30'a kadar düşürüldüğünü belirtmişlerdir. Ancak renk ve aroma oluşumu karmaşık bir şekilde Maillard reaksiyonuna bağlı olduğu için sıcaklık-süre değişimi yetersiz kahverengileşme ile sonuçlanan ürünlere neden olur ve aroma gelişimi için ilave ingrediyenler gerektirebilir (Claus ve ark. 2007).

Amrein ve ark (2006) ısı işlem sonucu şekerin parçalanması ile oluşan glioksalın fruktoz varlığından 250 kat daha fazla akrilamid oluşturduğunu tespit etmişlerdir.

Hedegaard ve ark. (2007) farklı glikoz ve asparajin oranlarını içeren gliserol-su karışımlarında akrilamid oluşumunu incelemişlerdir. Akrilamid oluşumunun, azalan su aktivitesi ($0,33 \leq a_w \leq 0,71$) ve artan sıcaklık ($120^\circ\text{C} \leq t \leq 160^\circ\text{C}$) ile arttığı belirtilmiştir. Akrilamidin başlangıç miktarının asparajin konsantrasyonu artışı ile doğru orantılı olduğu ancak glikoz miktarına daha az bağımlı olduğu belirlenmiştir.

Robert ve ark. (2006) indirgen şekerler arasında fruktozun karbonil kaynağı olarak glikozdan daha etkili olduğunu belirtmişlerdir. Fruktoz ve glikozun erime noktası sırasıyla 126°C ve 157°C 'dir. Bu durum, fruktozun ısıl işlem sırasında akrilamid oluşurken glikozdan daha reaktif olmasının sebebini açıklamaktadır. Suyun uzaklaştırılmasıyla nem içeriği düşer, suda çözülmüş olan şeker doymuş hale gelerek kristalleşmeye başlar. Kristalizasyondan sonra kimyasal olarak reaktif olabilmeleri için durumlarının sıvıya dönmesi gerekir. Bu durumda erime noktaları düşük olan indirgen şekerlerin ısıtma sırasında daha erken akrilamid oluşumuna katılması beklenir.

Ahrne ve ark. (2007) beyaz ekmeğin pişmesi sırasında ekmek kabuğu sıcaklığı ve su içeriğinin akrilamid oluşumu üzerine etkisini incelemişlerdir. Aşırı pişirmenin etkisini değerlendirebilmek için her sıcaklıkta pişirme süresi 5 ve 10 dakika arttırılarak bütün faktöriyel deney planı kullanılmıştır. Ayrıca sıcaklık düşürülmesi ve buharlı pişirme ile de ilave çalışmalar yapılmıştır. Pişmenin hemen sonrasında ekmek kabuğu iç ve dış kabuk fraksiyonlarına ayrılarak her bir fraksiyonun akrilamid konsantrasyonu ve su içeriği ölçülmüştür. Ekmek dış kabuğunda iç kabuktan daha yüksek miktarda akrilamid konsantrasyonu ve daha düşük miktarda su içeriği belirlenmiştir. Ekmek kabuğu sıcaklığı, su içeriği kombinasyonu ile birlikte akrilamid oluşumuna büyük ölçüde etki etmiştir, sıcaklık arttıkça akrilamid konsantrasyonu da artmıştır. Çok yüksek sıcaklıkta ve düşük su içeriğinde, ekmek kabuğu rengi tüketim için kabul edilemeyecek düzeyde olmasına rağmen, akrilamid konsantrasyonunun azaldığı tespit edilmiştir. Diğer yandan, buharlı pişirme ve düşük sıcaklıkta pişirme, ekmek kabuğunda kabul edilebilir rengi oluştururken akrilamid miktarının da azaldığı belirtilmiştir. En düşük akrilamid miktarı ve kabul edilebilir renk oluşumu buharlı pişirme ile elde edilmiştir.

Levine ve Smith (2005), kraker modellerde yaptıkları denemelerde kazein kullanıldığında akrilamid miktarında yaklaşık %50 azalma belirlemişlerdir. Claus ve ark. (2006) belirttiğine göre düşük lisin ve sistein içerikli protein ve peptidler prolitik yolla akrilamid oluşturabilir,

böylece ısıtılma işlemi gören gıdalarda akrilamid seviyesini yükseltebilirler. Ayrıca hayvan kaynaklı proteinlerin kullanımı, bu ürünlerin vejetaryenler tarafından kabul görmesini engeller ve proteinler alerjik reaksiyonlara sebep olabilir.

Ca^{2+} ve Mg^{2+} gibi divalent katyonların hamura pişirmeden önce ilavesi de ürünlerin akrilamid içeriğinde dikkate değer azalmaya neden olmuştur (Claus ve ark. 2007). Elder ve ark. (2004) bu iyonların uygulanmasıyla akrilamid miktarında %20 azalma ve biraz daha asidik koşullarda (pH 5,5) akrilamid miktarında %50'ye kadar azalma belirlemişlerdir. Elder (2005) krakerlere Ca^{2+} ilave ederek akrilamid miktarını %30 düşürmüştür. Gökmen ve Şenyuva (2007) patateslerde bivalent iyonlarının akrilamid oluşumu üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada akrilamid oluşumu ile ilave edilen Ca^{2+} konsantrasyonu arasında negatif korelasyon olduğunu belirtmişlerdir.

Pedreschi ve ark. (2008) kızarmış patateslerde akrilamid oluşumunu ve son kızartmadan önce, ağartma ve asparajinaz muamelesi arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. 0,8x0,8x5 cm boyutundaki dilimler 75°C'de 10 dakika süreyle ağartılmış, ağartılmamış dilimler ise kontrol olarak kullanılmıştır. Kontrol veya ağartılmış dilimler 85°C'de 10 dakika kurutulduktan hemen sonra 175°C'de 1 dakika süreyle kısmen kızartılmışlardır. Son olarak kızartılmış patates elde etmek için ön-kızartma işlemi uygulanmış patatesler 175°C'de 3 dakika kızartılmışlardır. Ham veya ağartılmış patates dilimlerinin ön kurutulması beklendiği gibi akrilamid oluşumuna etki etmemiştir. Kısmen kızartılmış ön kurutulmuş kontrol patates dilimlerinde 370 µg/kg akrilamid ve son kızartma işleminden sonra ise 2075 µg/kg akrilamid belirlenmiştir. Kontrol patates dilimlerine 40°C'de 20 dakika süreyle 10000 (asparaginase units) ASNU/l asparajinaz enzimi uygulandığında, kızartılmış patateslerdeki akrilamid miktarı %30 azalmıştır. Ağartılmış patates dilimlerine aynı yöntem uygulandığında, akrilamid miktarı enzim uygulanmayan ağartılmış kızartılmış patateslerden %60 daha az olduğu saptanmıştır. Ağartılmış patates dilimlerinin (75°C'de 10 dk), 10000 ASNU/l asparajinaz enzimi solüsyonuna 40°C'de 20 dakika daldırılması, akrilamidin en önemli öncüllerinden olan asparajini azaltarak, kızartma sonrasında oluşan akrilamid miktarının düşürülmesinde etkili bir yöntem olduğu belirtilmiştir.

Capuano ve ark. (2008) ekmek gevreklerinde Maillard reaksiyonunun karakterizasyonu ile ilgili yaptıkları çalışmada, 160°C'de kavurma sırasında, akrilamid 26. dk'dan oluşmaya başlamış ve kavurma işlemi sonunda son akrilamid miktarı 161,3 µg/kg olarak belirlenmiştir.

180°C’de ise akrilamid kavurmanın ilk aşamalarından beri oluşmaya başlamış, 25 dk’lık kavurma işlemi sonunda akrilamid miktarı 262,3 µg/kg olarak belirlenmiştir. Ayrıca akrilamid miktarı ile esmerleşme oranı arasında, aynı hamur formülasyonu farklı koşullarda pişirildiğinde, önemli bir ilişki olduğu tespit edilmiştir. Ancak farklı hamur formülleri farklı üretim ve pişirme koşullarında değerlendirildiğinde esmerleşme seviyesinin her zaman akrilamid konsantrasyonu ile paralel olması gerekmediği de belirtilmektedir. Aynı çalışmada temel reçete içine asparajinaz enzimi (2000 U/kg un) ve glisin (5 g/kg un) ilave edilerek hazırlanan örneklerin her ikisinde de büyük ölçüde akrilamid miktarının azaltıldığı, asparajinaz enziminin akrilamid oluşumunu azaltmada, glisin amino asidinden daha etkili olduğu belirtilmiştir. Asparajinaz enzimi ilave edilen örnekler arasında, 25 dk kavruan örneklerde %80, 22 dk kavruan örneklerde %67 akrilamid azalması belirlenmiştir. Asparajinaz enzimi hamura ilave edildikten sonra, akrilamid sonradan oluşmaya başlayıp 18. dk’dan sonra tespit edilememiştir. Glisin akrilamid oluşumunu azaltmada, asparajinaz enziminden daha az etkili bulunmuş, ancak akrilamid miktarı %60’a kadar azaltılabilmektedir.

Koutsidis ve ark. (2009) amino asitlerin akrilamid ve pirazin oluşumu üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada, 10 amino asidin (aspartik asit, sistein, alanin, glutamin, valin, lösin, triptofan, prolin, glisin ve fenilalanin) 160°C’de 60 dk ısı işlem görmesi sonucu akrilamid oluşumuna etkisini incelemişlerdir. Glisin, sistein ve aspartik asit dışındaki amino asitler, asparajin ile aynı seviyede ilave edildiğinde, akrilamid miktarında referans sisteme (eşit miktarda asparajin-glikoz içeren sistem) göre artış olduğu tespit edilmiştir. Bu artış reaksiyonun ilk 5 dakikasında valin, lösin ve glutamin ilaveli karışımlar için akrilamid miktarının iki katına çıkması şeklinde iken, prolin, fenilalanin ve alanin ilaveli karışımlarda artış %30 olarak belirlenmiştir.

Lorenzo ve ark. (2009) bisküvi sistemlerinde zeytinyağı fenolik bileşiklerinin ve termo-okside olmuş yağın akrilamid oluşumu üzerine etkisini incelemişlerdir. 190°C’de farklı sürelerde (8-16 dk) pişirilen temel bisküvi reçetesinde farklı yağlar kullanılmıştır. Yüksek hidroksi/monohidroksi oranı olan sızma tipi zeytinyağının akrilamidin azaltılmasında daha etkili olduğu bildirilmiş ve akrilamid miktarı %20 kadar azaltılmıştır. Farklı yağların kullanılması, renk ve antioksidan aktivitede önemli bir fark oluşturmazken, termo-okside yağın kullanıldığı örneklerde, akrilamid miktarı artan kahverengileşme ve HMF ile paralel olarak önemli ölçüde artmıştır. Sonuç olarak lipid oksidasyon ürünleri, ısı işlem görmüş yağ içeriği zengin gıdalarda akrilamid oluşumunda önemli bir faktör olarak belirtilmiştir.

Ehling ve ark. (2005) model sistemlerde asparajin varlığında yağların ısıtılması sonucu akrilamid oluştuğunu göstermiş ve çoklu doymamış yağların, oksidasyonu kolay olmayan yağlara göre daha yüksek miktarda akrilamid oluşturduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca son zamanlarda yapılan çalışmalarda lipid oksidasyon ürünleri, özellikle 2.4-dekadienal akrilamid oluşumunu desteklemektedir. Akrilamid oluşumunu destekleyen lipid oksidasyon ürünleri lipidler ve şeker/amino asit model sistemlerinin her ikisinde de ispat edilmiştir.

Akrilamid oluşumunda, asparajin ile karbonil bileşiği Schiff bazını oluşturarak, Strecker tipi reaksiyonda dekarboksilasyonu ile stabil olmayan ara ürünler oluşturur. Dekarboksile olmuş Schiff bazının hidrolizi, amonyak eliminasyonu ile oluşan 3-APA da akrilamidi oluşturur. Karboksil bileşiklerinin aktivitesinin reaksiyon oranını belirlediği; model sistemlerde en yüksek akrilamid oluşumunun şekerlerle kıyaslandığında hidroksikarbonillerden elde edildiği belirtilmiştir. Sonuç olarak termo-okside yağlarda yüksek orandaki karbonil ürünleri bisküvilerdeki akrilamid artışından sorumlu olduğunu belirtilmiştir (Lorenzo ve ark. 2009).

Hendriksen ve ark. (2009) yarı oranda şeker içeren bisküvilerde (hamur sıcaklığı 40°C, hamur pH'ı 8,75, nisbi nemi %86) yaptıkları çalışmada 525 ASNU/kg un ağırlığı kadar asparajinaz enzimi kullanarak 15 dakika hamurun dinlenme süresi sonucunda akrilamid miktarını 130 µg/kg olarak belirlemişlerdir. Bu oran kontrol örnekleri ile karşılaştırıldığında %65 akrilamid azalması olarak saptanmıştır. Hamur dinlenme süresi aynı tutulup enzim miktarı iki katına çıkarıldığında, akrilamid miktarı 58 µg/kg olarak belirlenerek, kontrol örneklerine göre %84 azalmıştır. Asparajinaz enzimi artırılarak yapılan tüm örneklerde, hamur 15 ve 30 dakika dinlendirilerek ikişer örnek hazırlanmıştır. Enzim miktarı arttıkça akrilamid miktarı azalırken, tüm örneklerde dinlenme süresinin uzaması da akrilamid miktarını azaltmıştır. Aynı çalışmada düşük hamur sıcaklığında enzim aktivitesini değerlendirmek için hazırlanan ekmek gevreklerinde, farklı sıcaklıklarda ve iki farklı dinlenme süresinde enzim dozu sabit tutulmuştur (2100 ASNU/kg un ağırlığında). Artan sıcaklıkta enzim aktivitesinin de düştüğü saptanmıştır. 37°C'deki enzim aktivitesi ~ 10°C'deki enzim aktivitesinin sadece %30'u kadar olduğu, bu durumda 37°C'deki gevrek ekmek hamurunda 3 kat daha fazla enzim miktarına kullanılması gerekebileceği ileri sürülmüştür. Ayrıca sıcaklığın yanı sıra, gevrek ekmeklerde yüksek su aktivitesi ve düşük pH'dan dolayı asparajinaz enzim aktivitesinin yarım şekerli bisküvilerden daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Asparajinaz enziminin aktivitesi, farklı su içeriğindeki hamur yapısında olan zencefilli keklerde değerlendirilmiştir. 1000 ASNU/kg un

ağırlığında asparajinaz enzimi ilave edilen örneklerde, akrilamid miktarı kontrol örneklerinde sabit iken, farklı su içeriklerinde 530-640 µg/kg arasında değişmiştir. Su içeriği %15 olan standart kek hamuru reçetelerindeki akrilamid miktarı kontrol örnekleri ile karşılaştırıldığında %34 azalma tespit edilmiştir. Biraz daha düşük, %13 su içeriğinde, akrilamid miktarı %19 azalmış ancak su miktarının %11'e düşmesi ile akrilamid miktarındaki azalma önemsiz düzeyde belirlenmiştir. Daha yüksek, %19 su içeriğinde, aynı miktardaki asparajinaz enzimi ile akrilamid miktarı %90 azalmıştır. Bunun nedeni, düşük su içeriğinden dolayı hamurdaki sınırlı difüzyon ile enzim-substrat etkileşiminin de sınırlandırılması olarak açıklanmıştır.

Capuano ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada, farklı un tiplerinin (buğday, tam tahıl ve çavdar unu) ve proses koşullarının un, su ve mayadan yapılan ekmek gevrekleri model sistemlerinde Maillard reaksiyonu ve akrilamid oluşumu üzerine etkilerini incelemişlerdir. Ekmekler farklı sıcaklık ve sürelerde kızartılmıştır. İkinci set olarak hazırlanan örneklerde HMF ve akrilamid gibi zararlı Maillard reaksiyonu ürünlerinin oluşumunda etkilerini belirlemek için glisin (unda % 0,1), asparajinaz 2000 U/kg un ve yeşil çaydan ekstrakte edilen antioksidan, temel reçetenin üzerine ilave edilmiştir. Antioksidan aktivitenin yanı sıra, esmerleşme oluşumu ve su içeriği de gözlemlenmiştir. Çavdar model sistemi tüm sıcaklıklarda HMF ve akrilamid oluşturmuş, ancak tam tahıl sistemi, buğday unu sistemine göre daha az HMF ve daha fazla akrilamid oluşturmuştur. Glisin ilavesinin akrilamid miktarını düşürmede oldukça etkili olduğu belirlenirken (160°C'de %40-50 ve 180°C'de ise %30-60), esmerleşme oluşumunu, antioksidan aktiviteyi ve HMF oluşumunu arttırdığı belirtilmiştir. Asparajinaz ise akrilamid miktarını 160°C ve 180°C'de %70-88 aralığında azaltırken, esmerleşme ve antioksidan aktivite üzerine hiçbir etkisi olmamıştır. Yeşil çaydan elde edilen dış kaynaklı antioksidan ilavesinin akrilamid oluşumu üzerinde belirgin bir etkisi olmadığı için, düşük yağ içerikli unlu mamullerde akrilamid azaltılması için uygun bir yöntem olmadığı belirtilmiştir.

Capuano ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada lipid oksidasyon seviyesinin farklı formüle edilmiş yağca zengin model sistemlerde akrilamid oluşumu üzerine etkilerini incelemişlerdir. Sonuçlar lipid oksidasyonun akrilamid oluşumunu pozitif yönde etkilediğini göstermiştir. Bu etki lipidlerin temel karbonil kaynağı olduğu şeker içermeyen sistemlerde belirgin bir şekilde tespit edilmiştir. Kateşinlerin akrilamid oluşumunu düşürmesi ise karbonhidratları yakalayarak ve/veya lipid oksidasyonunu önleyerek olduğu öne sürülmüştür. Ayçiçek yağı içeren model sistemlerde, oksidasyonuna daha az duyarlı olan palm yağı içeren model sistemlerden daha fazla akrilamid oluştuğu belirtilmiştir. Yüksek miktarda su içeren model

sistemlerde akrilamid oluşumu evaporatif soğutma nedeniyle gecikmiştir. Bu sistemlerde kateşinlerin etkisi daha belirgin hale gelirken, lipid oksidasyonunun etkisi ancak uzatılmış reaksiyonlarda saptanabilir duruma gelmiştir. Sonuç olarak, lipid oksidasyonu özellikle şeker içermeyen kuru sistemlerde akrilamid oluşumu için etkili bir faktör olarak belirtilmiştir.

Asparajinaz enziminin (Acrylaway®) temin edildiği Novozymes unlu mamullerinin AIB (American Institute of Baking)'de endüstriyel olarak yaptığı denemelerde asparajinaz enzimi kullanarak, yarı oranda tatlandırılmış bisküvilerde akrilamidi %90'a kadar düşürebilmiştir. Yapılan denemelerde asparajinaz enzimi sadece asparajin amino asidine etki ederek ortadan kalkmasını sağlarken, diğer amino asitlere etki etmediği bu nedenle de ürün aromasının değişmediği belirtilmiştir. 570 ppm asparajinaz enzimi kullanılan zencefilli bisküvilerde akrilamid miktarı %45 azalırken, 1430 ppm asparajinaz kullanıldığında akrilamid miktarının %50 azaldığı saptanmıştır. Sert yarı şekerli bisküvilerdeki endüstriyel denemelerde ise 180 ppm asparajinaz enzimi ilavesi ile akrilamid miktarının %90 oranında azaldığı belirtilmiştir. Aynı çalışmada artan asparajinaz enzim miktarı ve uygulama süresi ile akrilamid miktarının da azaldığı belirtilmiştir. 150 ppm asparajinaz enzimi ilavesi (15 dk uygulama süresi) akrilamidi %65 azaltırken, 300 ppm asparajinaz enzimi kullanımı (15 dk uygulama süresi) akrilamid miktarını %85 azaltmıştır. 30 dakika olarak arttırılan uygulama süresi ile akrilamid miktarının daha da düştüğü belirtilmiştir (Anonim 2010b).

Anese ve ark. (2011a) asparajinazın bisküvilerde akrilamid azaltılması üzerine etkisini incelemek üzere yaptıkları çalışmada, farklı miktardaki asparajinaz enzimini aynı reçetenin kullanıldığı bisküvi örneklerinde farklı inkübasyon süresi ve sıcaklıklarında uygulayarak, akrilamid ve renk oluşumunu incelemiştir. İnkübasyon sıcaklığı 20-54°C arasında değişirken, inkübasyon süresi ise 10-30 dakika arasında değişmiştir. 20°C'de 100 U/kg un ağırlığında ilave edilen asparajinaz enzimi ile hazırlanan bisküvi örneklerinde 10 dk inkübasyon süresi sonunda 142,1 ng/g_{dm} akrilamid belirlenirken bu miktar 30 dk'lık inkübasyon süresi sonunda 200 ng/g_{dm} olarak belirlenmiştir. 20°C'de 500 U/kg un ağırlığında ilave edilen asparajinaz enzimi ile hazırlanan örneklerde 20 dk inkübasyon süresi sonunda ise 90 ng/g_{dm} akrilamid tespit edilmiştir. Asparajinaz miktarının 900 U/kg un ağırlığına çıkması ile 20°C'de 10 ve 30 dk'lık inkübasyon süresi sonunda sırasıyla 111 ng/g_{dm} ve 203 ng/g_{dm} akrilamid miktarı belirlenmiştir. İnkübasyon süresi ve asparajinaz enzimi sabit tutularak, 500 U/kg un ağırlığında asparajinaz enzimi ile 20 dk'lık inkübasyon süresi ile 20, 37 ve 54°C'de inkübasyon sıcaklığında örnekler hazırlanmış ve sırasıyla 90, 141,3 ve 135,9 ng/g_{dm} akrilamid

tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmada tüm sonuçlar değerlendirildiğinde en düşük inkübasyon sıcaklığı ve süresinde 500 U/kg un ağırlığında ilave edilen asparajinaz enzimi ile son üründe renk olumsuz etkilenmeden bisküvilerde en düşük akrilamid miktarı saptanmıştır.

Anese ve ark. (2011b) bisküvilerde farklı formülasyonların akrilamid miktarını en aza düşürmek için L-asparajinaz kapasitesine etkisini incelemişlerdir. Su içeriği (%10 -20 toplam ağırlıkta), yağ içeriği (%0-15 toplam ağırlıkta), yağ çeşidi (margarin, palm yağı) ve lipid fazı dağılımı özellikleri dikkate alınarak farklı reçeteler çalışılmıştır. Daha sonraki aşamalarda palm yağı, monogiliserit-palm yağı-su jeli (hidrojel) ile ikame edilmiştir. Sonuçlar, yüksek su aktivitesinde öncüllerin hareketliliğinin artırılmasıyla, akrilamid oluşumu ve son üründe enzimin toksik molekülleri azaltma kapasitesi arttırmıştır. Bunun aksine, yağın varlığı, yağsız reçeteler ile karşılaştırıldığında akrilamid oluşumu ve enzim aktivitesini azaltmıştır. Yağın varlığı, öncüller ile sulu faz arasındaki interaksiyonu engelleyerek daha az akrilamid oluşumuna neden olduğu hipotezi öne sürülmüştür. Yağın hidrojel ile ikame edilmesi ile bisküviler yağsız özellik göstermiştir. Bu durumda, asparajinaz aktivitesinin artması ile birlikte yağsız bisküvilerde akrilamid oluşumu, yağ içeren bisküvilere oranla, azalmıştır.

2.3. Renk Çalışmaları İle İlgili Kaynak Özetleri

Eicher ve Karel (1972) model sistemlerde su aktivitesi ve su miktarının, şeker- amino asit esmerleşme reaksiyonu üzerine etkilerini değerlendirmek üzere, indirgen şekerler ile glisin arasında Maillard reaksiyonu sonucu meydana gelen enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonunu, farklı miktarlarda glisin, su ve hidrofilik polimerleri içeren sistemlerde incelemişlerdir. Düşük su içeriğinde reaktantların hareketliliğinin büyük ölçüde kısıtlandığı sistemler dışında, artan su oranıyla birlikte esmerleşme oranının azaldığını gözlemlemişlerdir. Suyun etkisi, diğer faktörlerin yanı sıra farklı su bağlayıcı ajanların varlığına bağlı olduğu belirtilmiştir. Yüksek su içeriğinin inhibitör etkisi, suyun esmerleşme reaksiyonunda bazı kondensasyon aşamaları ürünü olmasından kaynaklandığını belirtmişlerdir. Yapılan çalışmalarda maksimum esmerleşmenin, gıdalarda su aktivitesi (a_w) 0,3-0,7 aralığında olduğu belirtilmiştir. Maksimuma ulaşma durumu gıda çeşidine bağlıdır. Su aktivitesi gıdalarda spesifik polar grubuna bağlı bulunan suyu ifade eder. Kimyasal reaksiyon için su moleküllerinin kullanılabilirliğini sınırlayan diğer faktörlere rağmen, su aktivitesi optimum esmerleşme koşullarını öngörmeye kullanılamaz. Labuza ve ark. (1970) belirttiğine göre, suyun şeker-amino esmerleşme reaksiyonuna etkisi gıda sistemlerinde açık değildir. Yüksek

su aktivitesinde reaksiyon oranının azalması genellikle reaksiyon ortaklarına bağlıdır. Hareketli su miktarı düşmesiyle, düşen su aktivitesinde azalan reaksiyon oranı, reaksiyon ortaklarının hareket kabiliyetini düşüren, artan difüzyon rezistansı ile yorumlanmıştır.

Maillard reaksiyonu vasıtasıyla renk oluşumunun pH 7'nin üzerinde çok iyi olduğu bilinmektedir. Bu durum amino gruplarının Maillard öncülleri ile reaksiyonu sonucu melanoidinlerin oluşumu ile açıklanabilir, pH düşmesiyle melanoidin oluşumu da azalmaktadır. Benzer olarak artan pH ile model sistemlerde pirazin oluşumunun da arttığı belirtilmiş ve reaksiyon pH'sı 5'den düşük sistemlerde pirazin oluşumu gözlenmemiştir (Mottram 1994).

Hwang ve ark. (1995) de amino asitlerin Maillard reaksiyonundaki reaktivitelerini incelemek için renk yoğunluklarını karşılaştırmışlardır. Lisin, glisin, triptofan ve tirozin en yoğun kahverengiliği verirken, bunu pirolin, lösin, izolosin, alanin, hidrokspirolin, fenilalanin, metiyonin, valin ve amid içeren amino asitler glutamin ve asparajin izlemiştir. Sistein ise en düşük kahverengileşme oluşturan amino asit olarak belirtilmiştir.

Weenen ve Rooij (1998) potansiyel kahverengileşme öncüllerinin β - alanin ile reaksiyonunu incelemişlerdir. En iyi kahverengileşme öncüsü büyük farkla glikolaldehid ve gliseraldehid olarak tespit edilmiş bunu pruvaldehid izlemiştir. Ayrıca kahverengileşme ve karbonhidrat ayrılması, asidik koşullarla karşılaştırıldığında alkalın koşullarda büyük ölçüde arttığı gözlenmiş, ARP (Amadori Rearrangement Products) oluşumunun ise çok az arttığı belirlenmiştir. Karbonhidrat ayrılıminin kahverengileşmede çok önemli rolü olduğu belirtilmiştir. Karbonil bileşiklerinin 1 M sıvı solüsyonlarında β - alanin varlığında ksiloz, glikoz ve fruktoz ile 80-100°C'de 20 dk ısıtılması sonucu oluşan esmerleşme oranı sırasıyla 8,7; 1 ve 0,7 olarak tespit edilmiştir.

Ames ve ark. (1993) ksiloz ve glisinin pH 5'deki sıvı solüsyonunda oluşan düşük molekül ağırlıklı renkli ürünleri araştırmışlardır. Furfural ve 4-hidroksi-5-metil-(2H)-furan-3on (HMF)'nin kondensasyon ürünü olarak düşünülen dimerik ve trimerik ürünler izole edilmiş ve tanımlanmıştır. Benzer ürünler diğer çalışmalarda ksiloz ve diğer indirgen şekerlerle yapılan model sistemlerde de belirlenmiştir.

Amino asit ve şekerlerin aroma öncüsü olarak gıdalara ilave edilmesi, bu öncüllerin ingrediyan kitlesi içinde etkisinin azaldığı reaksiyon ortamı oluşturlar. Reaksiyon kademelerini düşürmeden, Maillard reaksiyonunun çok erken aşamalarına bağlayarak öncü türlerinin reaktivitesini arttırmak için yapılan çalışmalar, amino asit/şeker çiftine ait solüsyon serilerinin düşük sıcaklık koşullarında sprey kurutma ve hızlı kurutma yöntemini de içermektedir. Renksiz reaktant çiftleri yerine ise amino asit ve şekerlere bağlı geniş çapta renkli ürünler üretilmiştir (Mlotkiewicz 1998).

Mundt ve Wedzicha (2003) yaptıkları çalışmada, glisinin düşük konsantrasyonunda, fruktozun glikozdan daha hızlı esmerleştiğini ancak amino asit konsantrasyonu arttıkça durumun tersine döndüğünü tespit etmişlerdir. Bu nedenle glikoz-fruktoz-amino asit sistemlerinde glikoz ve fruktoz genel olarak renk oluşumuna katılırlar, ancak bu iki karbonhidrat glikoz ve fruktozdan hangisinin renk oluşumunda daha önemli olduğu reaksiyon ortamına bağlı olduğu belirtilmiştir.

Mundt ve Wedzicha (2005) maltoz-glisin reaksiyon sisteminde serbest bırakılan glikozun melanoidin oluşumuna katkısını, ¹⁴C glikozu maltoz-glisin karışımına ekleyerek incelemişlerdir. Glikozun bu reaksiyona katıldığını ve melanoidinlerin oluşumuna katkısı olduğunu ispat etmişlerdir. Melanoidine dönüşen toplam glikoz miktarının, maltoz ve glisinden oluşan melanoidinlerin toplam miktarı ile karşılaştırıldığında, serbest bırakılan glikozdan gelen melanoidin konsantrasyonunun, toplam melanoidin konsantrasyonundan kısmen daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle, paralel glikoz-glisin reaksiyonunun, maltoz - glisin melanoidinlerinin oluşumunda sadece küçük bir metabolik yol olduğu ileri sürülmüştür.

Surdyk ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada ekmek kabuğu renginin akrilamid içeriği ile yüksek oranda ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Patateslerde yüksek oranda indirgen şeker, yüksek oranda akrilamid ve koyu renk ile sonuçlanmıştır. Kahverengileşme ve akrilamid miktarı arasında ürünlerin küçük alanlarında güçlü bir korelasyon bulunurken, ürünlerin geniş alanında aynı şey belirlenmemiştir.

Ashoor ve ark. (1984) yaptıkları çalışmada amino asitlerin glikoz ile 121°C'de 10 dakika reaksiyonu sonucu, amino asitleri artan kahverengileşme özelliklerine göre üç gruba ayırmışlardır. En reaktif grup lisini içermektedir. Asparajin, glutamin ve alanin orta derecede

kahverengileşme sağlayan amino asitler arasında yer alırken, üçüncü en düşük kahverengileşme sağlayan amino asit grubunun içinde sistein bulunmaktadır.

Summa ve ark. (2006) model bisküvilerde akrilamid oluşumu üzerine yaptıkları çalışmada L^* değeri ile akrilamid içeriğinin korelasyon içinde olduğunu belirtmişlerdir. Eğer tüm kahverengileşme Maillard reaksiyonu sonucu oluştuğu ileri sürülürse, artan kahverengileşme oranına bağlı olarak akrilamid içeriğini tahmin etmenin çok zor olduğu belirtilmiştir.

Gökmen ve ark. (2007) kabartıcı ajanların ve şekerin, pişirme sırasında bisküvilerde hidroksimetilfurfural oluşumuna etkisini inceledikleri çalışmada bisküvilerin yüzey rengini de ölçmüşlerdir. Farklı sıcaklık (180, 200, 210 ve 220°C) ve farklı sürelerde (10, 15, 10 ve 25 dk) pişirilerek bisküvi bileşimindeki fiziksel ve kimyasal değişimler su aktivitesi, pH, yüzey esmerleşmesi, şeker parçalanması ve hidroksimetilfurfural (HMF) oluşumu gözlemlenmiştir. Bisküvinin yüzey renginin pişirme sırasında uygulanan termal enerjinin boyutu ile ilgili bir indikasyon olduğunun belirtildiği çalışmada, yüzey rengi uluslar arası renk ölçüm yöntemi ile L^* 'nin ışığı (beyazdan siyaha), a^* 'nin yeşilden kırmızıya ve b^* 'nin maviden sarıya renkleri belirttiği, $L^*a^*b^*$ birimleri kullanılmıştır. Bisküvilerdeki renk değişimi pişirme sırasında belirli renk geçişlerinin olduğu dinamik bir prosestir. Bisküvilerde bu renk değişimini daha iyi anlamak için zamana bağlı değişimi, ΔE (Euclidian distance) değeri ile aşağıdaki formülasyonu kullanarak belirtmişlerdir;

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L^*_o)^2 + (a^* - a^*_o)^2 + (b^* - b^*_o)^2}$$

L^*_o , a^*_o , b^*_o bisküvi hamurunun pişirmeden önceki renklerini ifade etmektedir. L^* , a^* ve b^* bisküvilerin pişirme süresince olan renk değerlerini temsil etmektedir. Yüzey rengi için, ΔE değeri 10 veya daha fazla olan bisküviler kabul edilebilir renkte iyi görünümlü bisküviler olarak, ΔE değeri 25 ve üzeri olanlar ise aşırı esmerleşmiş ürünler olarak değerlendirilmiştir. Yapılan bu çalışmada sodyum bikarbonat kullanılan reçeteler dışındaki reçetelerde ΔE değeri 25 ve üzeri olarak saptanmıştır. Sodyum bikarbonat kullanılan reçeteye ait bisküvi örneklerinin daha sarımsı kabuk yüzey rengine sahip olduğu ve hoş olmayan tat oluşturduğu belirtilmiştir (Gökmen ve ark. 2007).

Gökmen ve ark. (2008a) model bisküvilerde akrilamid miktarı ve esmerleşme oranı arasındaki korelasyonu araştırmak için yaptıkları çalışmada, bisküvilerde akrilamid miktarını belirlemek için bilgisayar tabanlı resim görüntü analizi algoritması geliştirmişlerdir. Çekilen bisküvi resimleri, kahverengi ve krem rengi alanların kırmızı, yeşil ve mavi değerleri ortalamalarını ifade eden, daha önceden belirlenmiş renk referanslarına bağlı olarak bölünmüştür. Esmerleşme oranı kahverengi piksellerin toplam piksellere oranı hesaplanarak belirlenmiş ve hesaplanırken bölünmüş bisküvi resimleri kullanılmıştır. Bisküviler dört farklı reçete ile 200 ve 220°C’de 25 dakikaya kadar farklı sürelerde pişirilmiştir. Akrilamid oluşumu ve esmerleşme oluşumu pişirme sırasında hemen hemen aynı kinetik oluşum şekli göstermiştir. Reçete formülleri ve pişirme koşulları da bu oranları aynı şekilde etkilemiştir. Bisküvilerin esmerleşme oranı ile akrilamid konsantrasyonu arasında önemli bir korelasyon belirlenmiştir ($r=0,946$, $p<0,01$). Bazı durumlarda CIE kırmızılık parametresinde renk oluşumunun bisküvilerde akrilamid oluşumuyla benzer olduğu saptanmıştır. Akrilamid ve renk oluşumu dört reçetede, reçete ve pişirme koşullarına bağlı olarak farklılık göstermekle birlikte, CIE kırmızılık parametresi ile akrilamid konsantrasyonu arasındaki korelasyon, esmerleşme oranından daha düşük olarak ($r=0,861$) tespit edilmiştir. Bu da kırmızılık parametresinin tek başına akrilamid konsantrasyonu ile ilgili güvenilir bir öngörü olmadığını gösterir. Esmerleşme oranının %8’den az olması akrilamid konsantrasyonunun LC-MS’de belirlenebilecek sınırların altında olduğunu göstermiştir. Algoritma başarısı 150 ng/g akrilamid eşik seviyesine bağlı sıralamada %100 başarı sağlanmıştır.

Capuano ve ark. (2008) ekmek gevreklerinde Maillard reaksiyonu karakterizasyonu ile ilgili yaptıkları çalışmada, farklı pişirme prosesleri ve formulasyonun Maillard reaksiyon ürünleri, HMF ve akrilamid oluşumu üzerine etkilerini incelemiştir. 180 °C’de 35 dk pişirilen ekmek gevrekleri esmerleşme oranı pişirme sıcaklığı yükseldikçe artmıştır. Esmerleşme (ΔL^* ve ΔE^*) ile HMF ve akrilamid oluşumu arasında doğrusal korelasyon olduğunu belirlemiştir. Glisin ilavesi akrilamid miktarını düşürürken, kızarmış ekmeklerin esmerleşmesi artmış, HMF oranının da her pişirme sıcaklığında biraz arttığı belirtilmiştir. Yaptıkları çalışmada renk ölçümü L^*a^*b birimi ile belirlenmiştir. L^* değeri artan sıcaklık ve kavurma süresiyle birlikte artış göstermiştir. a^* ve b^* değeri ise her bir sıcaklıkta kavurma sırasında çok az artış göstermiştir. Her sıcaklıkta ΔE^* değeri de kavurma süresince artmış, 180°C’deki kavurma sonucu elde edilen değerler, 140 ve 160°C’deki değerlerden çok daha yüksek bulunmuştur. ΔE^* değeri kalan nem içerisine göre değerlendirildiğinde, yüksek sıcaklıkta kavurma ile aynı son nem içeriğine sahip ürünlerde daha esmer renk elde edildiği

gözlemlenmiştir. Sonuçlar yüksek fırın sıcaklığının, kavrulmuş ekmek dilimlerinde yeterli esmerleşmenin oluşabilmesi için temel ihtiyaç olduğunu göstermiştir.

Lorenzo ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada, akrilamid içeriği ve kahverengileşme (E-değeri) arasındaki korelasyonu, farklı fenolik bileşiklere sahip zeytin yağı kullanılan reçete ve termo-okside yağ kullanılan reçetelerde değerlendirmişlerdir. Sonuçlar akrilamid ve renk oluşumu arasında doğrusal bir korelasyon olduğunu göstermiştir. Renk büyük ölçüde değişirken (E-değeri 74 ve 34 arasında değişen) akrilamid içeriği de büyük ölçüde 123 µg/kg'dan 848 µg/kg'a yükselmiştir. Kontrol örnekleri ile karşılaştırıldığında renk ve akrilamid içeriğinde daha az artış olduğu belirlenmiştir (E-değeri 76-51 arasında, akrilamid içeriği 43-535 µg/kg).

Anese ve ark. (2011a)'nın bisküvilerde asparajinaz enziminin akrilamid ve renk oluşumu üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada, renk değişiminin asparajinaz konsantrasyonu ve inkübasyon süresinden bağımsız olarak, inkübasyon sıcaklığı ile önemli ölçüde etkilendiği belirlenmiştir. Hamur inkübasyonu sırasında oluşan sıcaklık, enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonu gelişiminde etkili olabileceği ve inkübasyon sıcaklığı yükseldikçe kahverengi moleküllerin oluşumuna neden olan reaksiyon oranının arttığı belirtilmiştir.

2.4. pH Çalışmaları İle İlgili Kaynak Özetleri

Madruga ve Mottram (1998) yaptıkları çalışmada Inozin-5'-monofosfat (5'-IMP)'ın sistein içeren model sistemlerinde farklı pH'larda (3.0; 4.5; 6.0) ve 140°C'de ısıtma işlemi ile reaksiyonu sonucu oluşan uçucu maddeleri dinamik headspace analizi ile belirlemişlerdir. 90'in üzerinde oluşan uçucu madde ağırlıklı olarak sülfür içeren furanlar, tiofenler, tiazoller, furanlar, alkil sülfidler, bisiklik bileşikler ve siklik sülfidleri içeren heterosiklik bileşiklerdir. Bu çalışmada sülfürleşmiş furanlar, merkaptoketonlar ve alkilfuranlar daha çok asidik pH'da oluşurken, yüksek pH'ların pirazin oluşumunu inhibe ettiği belirtilmiştir. Çalışma sonuçları pH'nın Maillard tipi reaksiyonları sonucu oluşan uçucu maddelerin oluşumunda büyük etkisi olduğunu göstermiştir.

Gökmen ve ark. (2006a) kurabiyeler üzerinde yaptıkları çalışmada pH'nın akrilamid ve HMF oluşumu üzerine etkisini incelemişlerdir. Farklı miktarlarda sitrik asit içeren hamurlar 205°C'de 11 dakika süreyle pişirilmiştir. pH'nın 7,4'den 3,28'e düşürülmesi glikoz içeren reçetede akrilamid miktarını %67 düşürürken, sükröz içeren reçetede aynı pH değerleri

akrilamid miktarını 1,8 kat arttırmıştır. Bunun nedeni sitrik asit ilavesiyle aşırı sükröz hidrolizi nedeniyle indirgen şeker miktarının artmasıyla ilişkilendirilmiştir.

Yapılan çalışmalar pH'nın akrilamid oluşumunda önemli etkisinin olduğunu göstermiştir. Gıda sistemlerinde pH'nın düşürülmesinin akrilamid seviyesini etkili bir şekilde azaltabileceği belirtilmektedir. Cook ve Taylor (2005) yaptıkları çalışmada, sitrik asit ilavesiyle pH'sı 4,48 olan ürünlerde akrilamidi %23,5, pH'sı 3,93 olan ürünlerde %47 azaltmıştır. Akrilamid oluşumunun azalması ile pH'nın düşürülmesi arasındaki korelasyon üründen ürüne, ürünün başlangıç pH'sı veya diğer çoklu değişkenler nedeniyle değişkenlik gösterebilir. Kita ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada, patates dilimleri 60 dk süreyle 20°C'de asetik asit solüsyonuna daldırıldığı zaman, cipslerde akrilamid miktarındaki en yüksek azalmayı (%90) elde etmişlerdir. Asetik asit akrilamid içeriğini düşürmesine rağmen, asetik asitten oluşan uçucu maddeler nedeniyle asetik asidin gıdalarda duyuşsal olarak kabul edilebilir değerde olmadığı belirtilmektedir. Bu nedenle asetik asit kullanımı önerilmemektedir (Zhang ve ark. 2009).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Araştırma materyali bisküvi örneklerinin yapımında bisküvilik buğday unu kullanılmıştır. Çizelge 3.1.'de kullanılan bisküvilik unun bazı özellikleri verilmiştir.

Çizelge 3.1. Bisküvilik buğday ununun kimyasal ve reolojik özellikleri

Özellikler	Buğday Unu
Nem (%)	12,5
Kül (%)	0,66
Protein (%) (Nx5,7)	12,12
Yaş Gluten (%)	30
Düşme Sayısı (saniye)	376
Sedimentasyon (mL)	21
Gecikmeli Sedimentasyon (mL)	17

Araştırmada kullanılan diğer hammaddeler pudra şekeri, yağsız süttozu, peynir altı suyu tozu, yumurta tozu, şeker şurubu, tuz, su, amonyum bikarbonat ve sodyum bikarbonat özel bir aroma şirketi laboratuvarından temin edilmiştir. Diğer hammaddeler Nutriose ve maltitol Roquette Co. firmasından, margarin Besler Gıda Kimya ve San. Tic. AŞ.'den, lizin ve glisin amino asitleri Ajinomoto Europe SAS firmasından ve asparajinaz enzimi ise Novozymes AS firmasından temin edilmiştir

3.2. Yöntem

3.2.1. Bisküvi Örneklerinin Hazırlanması

Bu çalışmada Çizelge 3.4.'de Reçete 1'de belirtilen standart bisküvi reçetesinden yola çıkılarak 9 farklı bisküvi hamuru hazırlanmıştır. Örnekler, özel bir aroma firmasının laboratuvar ekipmanları ve hammaddeleri kullanılarak hazırlanmıştır. Çizelge 3.2'de çalışmada kullanılan bisküvi örnekleri verilmiştir.

Çizelge 3.2. Araştırmada hazırlanan bisküvi örnekleri

Reçete	Bisküvi uygulamaları
1	Standart Bisküvi
2	Şekeri %50 azaltılmış bisküvi
3	Şekeri %100 azaltılmış bisküvi
4	Yağı % 50 azaltılmış bisküvi
5	Protein kaynağı olarak bütün yumurta tozu (BYT) içeren bisküvi
6	Protein kaynağı olarak peynir altı suyu tozu (PST) içeren bisküvi
7	Protein kaynağı olarak glisin içeren bisküvi
8	Protein kaynağı olarak lizin içeren bisküvi
9	Asparajinaz enzimi içeren bisküvi

Bisküvi hamuru hazırlanırken önce pudra şekeri, süt tozu, şeker şurubu ve oda sıcaklığındaki margarin ilave edilmiş, krema kıvamına gelinceye kadar 3 dakika Hobert hamur mikseri (devir hızı 1) kullanılarak karıştırılmıştır. Un ve daha önce suda çözüldürülmüş amonyum bikarbonat, sodyum bikarbonat ve tuz krema kıvamındaki karışıma ilave edilmiştir. Suyun geri kalan kısmı da ilave edildikten sonra karışım homojen hamur kıvamına gelinceye kadar 3 dakika boyunca karıştırılmıştır.

Her bir reçetede hamur üzerine 4 ayrı deneme yapılmıştır (Çizelge 3.3). Dördüncü denemede uygulanan aroma karışımı, ksiloz ve karamel aroması denemelerinde uygulanan her birinin ayrı miktarları ile aynı oranda ksiloz ve karamel aroması içermektedir. Ksiloz miktarının etkisini değerlendirmek için, sadece standart bisküvi örneğinde miktar iki katına çıkartılarak tekrar uygulanmıştır.

Çizelge 3.3. Araştırmada her bir reçetede uygulanan denemeler

Deneme	Materyal	Kullanım Oranı (% hamur üzerinde)
1	Kontrol	-
2	Ksiloz	0,448
3	Karamel aroması	0,0084
4	Aroma karışımı*	0,50

*Aroma karışımı %1,67 karamel aroması ve %89,5 ksiloz içermektedir.

Her bir denemede sırasıyla kontrol, ksiloz, aroma karışımı ve karamel aroması uygulamalarına ait reçete için hazırlanan hamurlar Rondo Doge hamur açma makinesi kullanılarak, 2,5 mm kalınlığında hamur açılmış ve 2,5 cm çapında kesilerek, tepsilere dizilmiştir. Kesilmiş bisküvi hamurları tepsilere dizilirken fırın katlarında meydana gelebilecek varyasyonları engellemek için her bir denemeye ait bisküviler fırının 4 katında da bulunacak şekilde yerleştirilmiştir. Bisküviler Enkomak konveksiyonlu fırında $190\pm 10^{\circ}\text{C}$ de 5 dakika süre ile pişirilmiştir. Pişirilmiş bisküvi örneklerine ait resimlere Resim 3.1.- 3.9'da yer verilmiştir.

Pişirilen bisküviler soğuduktan hemen sonra oksijen ve ışık geçirmeyen alüminyum ambalajlarda paketlenerek muhafaza edilmiştir. Aroma, akrilamid ve su aktivitesi analizleri için homojen olarak karıştırılmış bisküvi örneklerinin bir kısmı öğütülmüş, aroma analizleri için örnekler -20°C de muhafaza edilmiştir.

Çizelge 3.4. Araştırmada hazırlanan bisküvi örneklerine ait reçeteler

Hammadde	Reçete 1	Reçete 2	Reçete 3	Reçete 4	Reçete 5	Reçete 6	Reçete 7	Reçete 8	Reçete 9
	%	%	%	%	%	%	%	%	%
Pudra Şekeri	17,72	8,86	-	17,72	17,72	17,72	17,720	17,72	17,72
Yağsız Süt Tozu	2,53	2,53	2,53	2,53	-	-	-	-	2,53
Bütün Yumurta Tozu	-	-	-	-	2,53	-	-	-	-
Peynir Altı Suyu Tozu	-	-	-	-	-	2,53	-	-	-
Glisin	-	-	-	-	-	-	0,026	-	-
Lisin	-	-	-	-	-	-	-	0,026	-
Asparajinaz Enzimi (Acrylaway)	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01
Margarin (%99 yağ)	14,18	14,18	14,18	7,09	14,18	14,18	14,180	14,18	14,18
Şeker şurubu (%65 kuru madde)	3,38	1,69	-	3,38	3,38	3,38	3,380	3,38	3,38
Maltitol	-	9,96	19,92	-	-	-	-	-	-
Buğday unu	50,62	50,62	50,62	50,62	50,62	50,62	53,124	53,124	50,61
Nutriose	-	-	-	7,09	-	-	-	-	-
Su	10,05	10,64	11,23	10,05	10,05	10,05	10,05	10,05	10,05
Tuz	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42
Amonyum Bikarbonat	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59
Sodyum Bikarbonat	0,51	0,51	0,51	0,51	0,51	0,51	0,51	0,51	0,51
Toplam	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00



Resim 3.1. Reçete 1, Standart Bisküvi



Resim 3.2. Reçete 2, Şekeri %50 azaltılmış bisküvi



Resim 3.3. Reçete 3, Şekeri %100 azaltılmış bisküvi



Resim 3.4. Reçete 4, Yağı % 50 azaltılmış bisküvi



Resim 3.5. Reçete 5, Protein kaynağı olarak bütün yumurta tozu içeren bisküvi



Resim 3.6. Reçete 6, Protein kaynağı olarak peynir altı suyu tozu içeren bisküvi



Resim 3.7. Reçete 7, Protein kaynağı olarak glisin içeren bisküvi



Resim 3.8. Reçete 8, Protein kaynağı olarak lizin içeren bisküvi



Resim 3.9. Reçete 9, Asparajinaz enzimi içeren bisküvi

3.2.2. Un Analizleri ve Yumurta Tozu Analizi

3.2.2.1. Nem tayini

Bisküvi üretiminde kullanılan un örneğinde % nem tayini International Association for Cereal Chemistry (ICC) standart no: 110-1'e göre yapılmıştır (Anonim 1976).

3.2.2.2. Kül tayini

Bisküvi üretiminde kullanılan un örneğinde % kül tayini International Association for Cereal Chemistry (ICC) standart no: 104'e göre yapılmıştır (Anonim 1960).

3.2.2.3. Protein tayini

Kjeldahl yöntemi ile protein tayininde prensip; materyali derişik sülfürik asit ile sıcakta tahrip etmek ve içerisinde bulunan azotu $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ halinde bağlandıktan sonra bunu derişik NaOH çözeltisi ile muamele ederek meydana gelen NH_4OH 'den azotlu maddeler miktarı hesaplanmaktadır. Bu çalışmada protein analizleri Kjeldatherm protein tahin cihazı kullanılarak International Association For Cereal Chemistry (ICC) standart no: 105-1'e göre yapılmıştır. Bu yöntemle belirtilen azot miktarı numuneye özgü faktör olan 5,7 sabit sayısı ile çarpılarak un örneğinin % protein miktarı hesaplanmıştır (Anonim 1980a).

3.2.2.4. Sedimentasyon ve gecikmeli sedimentasyon tayini

Bisküvi üretiminde kullanılan un örneğinde sedimentasyon ve gecikmeli sedimentasyon tayini International Association for Cereal Chemistry (ICC) standart no:116'ya göre yapılmıştır (Anonim 1972).

3.2.2.5. Düşme sayısı (falling number) tayini

Bisküvi üretiminde kullanılan un örneğinde düşme sayısı tayini International Association for Cereal Chemistry (ICC) standart no:107'ye göre yapılmıştır (Anonim 1968).

3.2.2.6. Yaş gluten (öz) tayini

Bisküvi üretiminde kullanılan un örneğinde yaş gluten tayini International Association for Cereal Chemistry (ICC) standart no:106-2'ye göre glutamik olarak yapılmış ve gluten miktarı % olarak hesaplanmıştır (Anonim 1984).

3.2.3. Hamur ve Bisküvi örneklerinde Yapılan Analizler

3.2.3.1. Hamur Örneklerinde Yapılan Analizler

3.2.3.1.1. pH analizi

Örneklere ait hamurlarda pH ölçümü Metler Toledo DL15 model titrator ile DG-115SC tip elektrot kullanılarak elektrotun direk hamura daldırılması yöntemiyle ölçülmüştür.

3.2.3.1.2. Su aktivitesi analizi

-20°C'de dondurulmuş bisküvi hamurları analizlerin yapılmadan önce çözündürülmüştür. Bir g hamur örneği numune kaplarına tartılmış ve Lab Master a_w , Novasina P/N: 119971 model su aktivitesi ölçüm cihazı ile su aktivitesi değerleri ölçülmüştür.

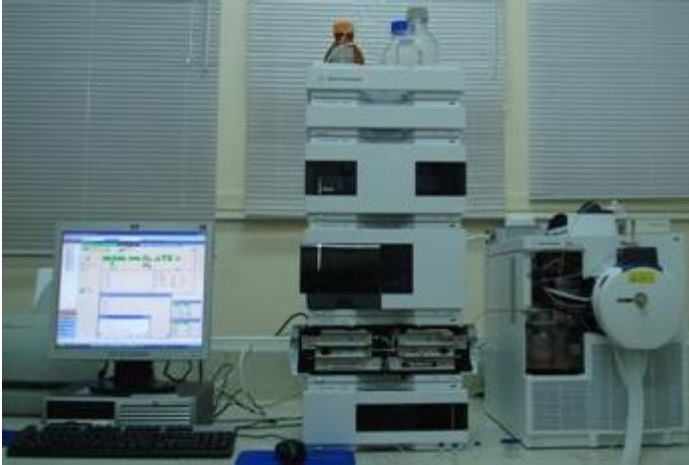
3.2.4. Bisküvi Örnekleri Analizleri

3.2.4.1. Akrilamid Analizi

Öğütülmüş örnekler (1 g) üç kademede ekstrakte edilmiştir. Bunun için 9 ml 10 mM formik asit, 0,5 ml Carez I ve 0,5 ml Carez II kullanılmıştır. Santrifüj sonrası üstte kalan kısım ayrılmış, kalan pelet üzerinde 5 ml 10 mM formik asit eklenerek ikinci kez ekstrakte edilmiştir. Elde edilen ekstrakt, ilk ekstraksiyondan elde edilen ekstrakt üzerine eklenmiştir. İkinci ekstraksiyon sonunda kalan pelet yine 5 ml 10 mM formik asit ile ekstrakte edilmiştir. Elde edilen üçüncü ekstrakt da diğer iki ekstrakt ile birleştirilmiştir. Ekstraktlar Oasis MCX SPE kartuşları kullanılarak tamamen temizlenmiştir. Son ekstrakt 0,45µm naylon filtreden süzülerek, iyonlaştırma yöntemi olarak APCI (Atmospheric Pressure Chemical Ionization) kullanılmıştır (LOD (Limit of Detection) = 5 ng/ml (ppb), LOQ (Limit of Quantitation) = 15 ng/ml (ppb)).

İkili pompa, bir otomatik örnekleyici ve bir sıcaklık kontrollü kolon fırınından oluşan, multimod interfaz ile donatılmış Agilent 6130 MS detektörü ile birleştirilmiş Agilent 1200 HPLC sistemi (Waldbronn, Almanya) kullanılmıştır.

İnterfaz parametreleri olarak şunlar uygulanmıştır; 5 L/ dk akış hızında kurutma gazı (N₂, 20 psig), nebulizer (atomizer) basıncı 20 psig, kurutma gazı sıcaklığı 350°C, kapiler voltajı 2000 V ve iyonlaşma için APCI iyonlaşmada korona 5 µA olarak ayarlanmıştır. Analitik ayırma Atlantis T₃ kolonunda (150x 4,6 mm, 3 µm) 25°C’de gerçekleştirilmiş ve mobil faz olarak 10 mM’lik formik asit (suda) izokratik olarak 0,3 mL/dk akış hızında kullanılmıştır. Akrilamid pikinin alıkonma süresi 13 dakika olduğundan akış tüm analiz boyunca MS’e yönlendirilmemiş, cihaza ait yazılım kullanılarak 10 ile 16 dakika arasındaki eluent MS’e yönlendirilmiştir. Örneklerdeki akrilamid miktarının belirlenebilmesi için 72 ve 55 m/z de iyonlar görüntülenmiştir. Örneklerdeki akrilamid miktarının saptanması için standartlara (0,01, 0,02, 0,05 ve 0,1 µg/mL) ait pik alanları standart konsantrasyonlarına karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon grafiği elde edilmiştir. Bu kalibrasyon grafiği yardımıyla örnekteki akrilamid pikine ait alandan miktar hesaplaması yapılmıştır. Tüm örnekler iki kez analiz edilerek, ortalama değerler ng/g olarak standart sapmaları ile bildirilmiştir (Gökmen ve ark. 2008c).



Resim 3.10. LC- MS sistem

3.2.4.2. Aroma Analiz

Öğütülmüş bisküvi örneklerinin içerdiği aroma uçucu bileşenlerinin analizi için statik headpace SPME – GC yöntemi kullanılmıştır (Pawliszyn 1999). Elde edilen sonuçlar kromatografik piklerin alanını ifade etmektedir.

Bu metotla elde edilen GC sonuçlarına göre ortaya çıkan tüm bileşenler örneklerin aromasına katkıda bulunmamaktadır, bununla birlikte aromaya ciddi ölçüde katkıda bulunan ancak GC analiz sonuçlarında ortaya çıkmamış olan bileşenler de mevcut olabilir. Ancak bu metot ile örnekler ait aromanın kendine has karakteri kromatografik olarak belirlenebilmektedir (Pawliszyn 1999).

Öğütülmüş örnekler (2,4 g) (çözündürülmüş örnekler <12 saat içinde analize alınmıştır) 8,3 g distile su ile 20 mL'lik sızdırmaz kapaklı ampuller içine yerleştirilmiştir. Dengeleme (60 dk) ve ayırma (100 dk) için, PDMS/ DVB/ Carboxen ile yapılmış 45°C de PAL (Combi Pal, CTC Analytics) içinde 2 cm'lik fiber kullanılmıştır. Fiber HP-1 60 m x 0,25 mm x 0,25 µm kolonlu (kutupsuz DB-1) GC-MS (Agilent 6890/5973) içinde 250°C'de ayrıştırılmıştır. GC fırın sıcaklığı 50°C-5 dk, 3°C- 7 dk, 120°C- 5 dk, 250°C – 30 dk şeklinde belirlenmiştir. Taşıyıcı gaz olarak helyum kullanılmıştır ve akış hızı 1,8 mL/dk'dır. 5 g distile su, kör örnek olarak, örneklerden önce aynı koşullarda analiz edilerek sudan gelebilecek kirlilik belirlenmiştir. Tespit edilen MS alanları mantıklı rakamlara dönüştürmek için analiz sonuçlarındaki en küçük alan değerine bölünmüştür. Tüm örnekler ikişer tekerrürlü analiz edilmiştir.



Resim 3.11. GC-MS Sistemi

3.2.4.3. Renk Analizi

Aynı ışık ortamında dijital fotoğrafı (Sony, DSC-W15) çekilen bisküvi örneklerinde renk analizi Matlab bilgisayar programı kullanılarak CIE (International Commission on Illumination) L^*a^*b birimi olarak belirlenmiştir. Renk farklılığı (ΔE) hamur örnekleri ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir (Gökmen ve Süğüt 2007).

3.2.4.4. Duyusal Analiz

Bisküvi örnekleri 11 panelist tarafından lezzet, koku, renk ve genel olarak objektif metotla değerlendirilmiştir. Tüm duyusal değerlendirme 1–5 skalası kullanılarak hazırlanmış tadım formları üzerinde yapılmıştır (Sertakan 2006). Aşağıda, duyusal değerlendirmeler tadım formunda yer alan kriterlere ilişkin tanımlar ve kaliteli bir bisküvide beklenen özellikler yer almaktadır.

a) Lezzet: Tatma sırasında algılanan, dokunma, ısı, acı ve hatta kasla ilgili etkilenebilen tada ve kokuya ilişkin duyguların karmaşık bir bileşenidir. Puanlama yapılırken lezzet yoğunluğuna göre puan verilmiştir.

5 Puan: Çok iyi

4 Puan: İyi

3 Puan: Kabul edilebilir

2 Puan: Yeterli değil

1 Puan: Kötü

b) Renk: Bisküvi yüzey renginin arzu edilen (standarda göre) renk durumunu ifade eder.

5 Puan: Çok iyi

4 Puan: İyi

3 Puan: Kabul edilebilir

2 Puan: Yeterli değil

1 Puan: Kötü

c) Koku: Bisküvide kullanılan aroma çeşidine göre (karamelimsi koku) koku yoğunluğunu ifade eder.

- 5 Puan: Çok iyi
4 Puan: İyi
3 Puan: Kabul edilebilir
2 Puan: Yeterli değil
1 Puan: Kötü

d) Genel: Bisküvinin genel olarak koku, renk ve lezzet olarak kabul edilebilirliğini ifade eder.

- 5 Puan: Çok iyi
4 Puan: İyi
3 Puan: Kabul edilebilir
2 Puan: Yeterli değil
1 Puan: Kötü

3.2.4.5. Su aktivitesi Analizi

Öğütülmüş bisküvi örneklerinden 1 g numune kaplarına tartılmış ve Lab Master aw, Novasina P/N: 119971 model su aktivitesi ölçüm cihazı ile su aktivitesi değerleri ölçülmüştür.

3.2.5. İstatistik Analiz Yöntemleri

3.2.5.1. Aroma İstatistik Analizi

9 bisküvi reçetesinde uygulanan 4 farklı deneme sonucunda elde edilen 36 örneğin aroma bileşenleri analizi sonucunda toplam 43 aroma molekülü tespit edilmiştir.

Birbirleriyle ilişkili bu aroma moleküllerini daha az sayıda veri yapılarına dönüştürmek, değişkenleri gruplayarak ortak faktörleri ortaya koymak için Faktör analizi yapılmıştır. Faktör analizi SPSS Output üzerinde yer alan korelasyon matrisi üzerinden yapılmıştır. Faktör analizinde yapılan grüplamanın temel bileşen analizi ile sağlaması yapıldığında aynı bileşenler elde edilmiştir, grup sayısı birbirini desteklemektedir. Temel bileşen sayısı, öz değerlerin birden büyük olanların sayısı ile belirlenmiştir. $\lambda > 1$ koşulunun sağlandığı 9 temel bileşen belirlenmiştir. İstatistik analizler için temel bileşen analizi Minitab 15.0 ve SPSS 15.0 paket programları kullanılarak yapılmıştır.

3.2.5.2. Akrilamid İstatistik Analizi

9 reçete ($g=9$) ve her bir reçete içinde de kontrol, ksiloz, karamel aroması ve aroma karışımı ($p=4$) değişkenleri belirlenmiştir. Bütün 9 reçetenin ortalama vektörleri arasında farklılık olup olmadığını belirlemek için MANOVA (Multivariate Analyses of Variance) testi kullanılmıştır. Bu istatistik analiz yöntemi ile reçeteler arasında farklılığın hangi uygulamadan kaynaklandığı belirlenmektedir.

Akrilamid analizinde MANOVA uygulaması sonucunda 9 reçeteye ait akrilamid analiz sonuçları arasındaki farklılık önemli bulunmuştur. Farklılığın hangi uygulamadan kaynaklandığını araştırmak için çoklu karşılaştırma testi olan Tukey uygulanmıştır.

3.2.5.3. Bisküvi ve Hamur Su Aktivitesi, Hamur pH İstatistik analizi

Toplam 9 reçete (grup sayısı, $g=9$) ve her bir reçete içinde de kontrol, ksiloz, aroma karışımı ve karamel aroması uygulamaları (değişken sayısı, $p=4$) kullanılmıştır. Reçetelerin (9 adet) ortalama vektörleri arasında farklılık olup olmadığını test etmek için MANOVA kullanılmıştır. MANOVA reçeteler arasında farklılık varsa da bu farklılığın hangi uygulamadan kaynaklandığını araştırmak için kullanılmaktadır.

Bisküvi ve hamur örneklerine ait su aktivitesi analizler ve hamur örneklerinde yapılan pH analizinde MANOVA uygulaması sonucunda 9 reçete arasında farklılık belirlenmiştir. Farklılığın hangi uygulamadan kaynaklandığını araştırmak için ise çoklu karşılaştırma testi olan Tukey uygulanmıştır.

3.2.5.4. Renk İstatistik Analizi

Renk analizlerinde veri sayısı az olduğu için 9 reçetede kontrol, ksiloz, aroma karışımı ve karamel aroması uygulamalarında belirlenen renk değerleri L^*a^*b değerlerinin her biri için ayrı ayrı ANOVA uygulanmıştır. ANOVA 9 reçetede ($g=9$) ortalamaları arasında fark olup olmadığı test etmek için tek değişkenli verilerde kullanılır.

L^* , a^* ve b^* değerlerinin her birinin istatistik değerlendirmelerinde ANOVA testi kullanılarak 9 reçete arasında fark olup olmadığı belirlenmiştir. Farklılığın hangi reçeteden kaynaklandığını belirlemek için ise çoklu karşılaştırma testi Tukey uygulanmıştır.

Belirlenen L^*a^*b değerlerinden yola çıkararak hesaplanan ΔE değeri, L^* , a^* ve b^* değerleri ile akrilamid miktarları arasındaki ilişkinin derecesini ve ynnu belirlemek amacıyla korelasyon analizi yapılmıştır.

3.2.5.5. Duyusal Değerlendirme İstatistik Analizi

Duyusal analizlerde 9 reçete (grup, $g=9$) ve her bir reçete içinde kontrol, ksiloz, aroma karışımı ve karamel aroması uygulamaları (değişken, $p=4$), duyusal özellikleri bakımından renk, koku, lezzet ve genel olarak (4 alt değişken) 11 panelist tarafından değerlendirilmiştir. İstatistik değerlendirmeler yapılırken 9 reçete arasında fark olup olmadığı, fark varsa bu farklılığın hangi duyusal değerlendirme kriterinden kaynaklandığını belirlemek amaçlanmıştır. Dokuz reçetenin ortalama vektörleri arasında farklılık olup olmadığını anlamak için MANOVA testi kullanılmıştır Farklılığın renk, koku, lezzet ve genel değişkenlerinin hangisinden kaynaklandığını belirlemek için çoklu karşılaştırma testi Tukey uygulanmıştır.

4. A A T I M A B U L G U L A R I ve T A T I M A

4 Aroma Analiz Sonu ları ve Tartışma

Aroma Analiz Sonu ları

Farklı bisküvi reçetesinde uygulanan 4 farklı deneme sonucunda elde edilen 36 bisküvi örneğinin aroma analizi sonucunda 43 aroma molekülü tespit edilmiştir. Her bir reçetenin aroma molekülleri kromatogramına ait pik alan değerleri Çizelge 4.1 - 4.9'da belirtilmiştir. Bu çizelgelerde belirtilen alan değerleri, tespit edilen MS alanlarının mantıklı rakamlara dönüştürmek için analiz sonuçlarındaki en küçük alan değerine bölünmesi ile elde edilmiştir.

Yapılan aroma analizleri sonucunda belirlenen aroma molekülleri, Maillard reaksiyonu sonucu ortaya çıktığı bilinen pirazinler ve furanlar, Stecker degradasyonu ve lipid oksidasyonu sonucu oluşan aldehydler ve yine lipid oksidasyonu sonucu oluşan ketonlar ve alkoller kapsamaktadır. Analiz sonuçlarına göre 8 pirazin molekülü, 4'ü Strecker aldehydleri olmak üzere 20 aldehyd, 3 furan, 7 keton ve 5 alkol aroma molekülü olarak tespit edilmiştir.

Karamel aroması içeriğinde yer alan aroma molekülleri (2,3-pentandion, anisaldehyd, benzaldehyd, 3-metilbutanal, furfural, heliotropin, 2-heptanon, 3-hidroksi-2-butanon ve 2-furfural) analiz sonuçlarında sadece aroma karışımı ve karamel aromalarında tespit edilmesinden dolayı, bu moleküllerin karamel aroması içeriğinden geldiği açıkça görülmektedir.

Analiz sonuçlarına göre tespit edilen değişkenler aroma molekülleri sayısı çok fazla olduğu için doğru yorumlama yapabilmek adına aroma moleküllerini temel bileşen analizleri ve faktör analizi yapılarak gruplandırılmıştır. Böylece tespit edilen aroma moleküllerinin tamamının bir bütün olarak varyansdaki değişime etkisi belirlenip değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.1. Aroma moleküllerinin standart bisküvi reçetesine ait pik alan değerleri

Gruplar	Aroma Molekülleri	Reçete n 1 Standart Bisküvi Reçetesi				
		Kont.	Kslz.	2Kslz.	Karamel Arm.	Arm. Kar.
Pirazinler	Pirazin	31,5	54,9	101,1	43,6	102,2
	Metil Pirazin	162,5	285	505	214	563
	2,5/2,6-Dimetilpirazin	79,9	103,7	140,0	100,2	179,5
	2-Etil Pirazin	-	-	-	-	-
	2-Etil-5-Metil Pirazin	-	-	-	-	-
	Trimetil Pirazin	-	-	-	7,9	5,2
	2-Etil-3,5-Dimetilpirazin	-	-	-	-	-
	2,5-Dietil Pirazin	-	-	-	-	-
Aldehidler	Asetaldehid	2,25	2,6	3,5	3,3	3,4
	Izobutanal	5,91	6,3	12,4	6,5	10,4
	3-Metilbutanal	25,15	37	58,3	33,8	47,8
	2-Metilbutanal	18,56	27,4	47,3	25,6	41,1
	Pentanal	44,38	25,4	31,1	36,2	29
	Hekzanal	1408,05	1195,7	1128,7	1264	1144,7
	Furfural	-	-	-	500	400
	Heptanal	134,30	108,9	114,4	159,2	117,5
	Benzaldehid	11,40	22	31,7	43,2	38
	Oktanal	48,78	11,1	48,6	63,8	25,2
	5-Etil-1-Siklopenten-1-Karbaldehid	29,35	25,8	36,6	40,3	31
	2-Oktenal	-	-	-	-	-
	Nonanal	79,46	69,9	73,5	95,4	76
	2-Nonenal	12,88	11,2	17,3	27,3	17,2
	Dekanal	3,75	3,2	5	6,7	4,3
	2,4-Dekadienal	6,50	5,7	9	4,4	3,1
	Anisaldehid	-	-	-	42,8	12,6
	2-Furfural	-	-	-	26,5	-
Heliotropin	-	-	-	60,5	12,8	
Furanlar	2-Metilfuran	3,52	6,6	16,3	5,9	11,6
	2-Butilfuran	134,30	108,9	114,4	159,2	117,5
	2-Pentilfuran	183,95	180,5	188,5	239,4	207,8
Ketonlar	2,3-Butandion	8,47	15	20,6	22	20,7
	2-Butanon	1,80	2,1	2,3	1,7	2,5
	2,3-Pentandion	4,52	2,7	4,1	6,1	3,7
	2-Heptanon	44,41	27,7	23,2	54,3	32,5
	2,3-Oktandion	12,31	13	16,8	20,2	14,7
	Oktanon(=3-okten-2-on)	7,37	4	8,3	11,4	6,3
	3-Hidroksi-2-butanon	-	-	-	35,9	3,7
Alkoller	1-Pentanol	15,96	12,5	17,1	19,2	14,3
	1-Hekzanol	162,82	130,9	113,6	133,2	132,1
	1-Heptanol	21,42	16,1	9,2	12,1	4,7
	1-okten-3-ol	24,29	18,6	21,5	19,9	19,3
	1-Oktanol	8,58	5,8	6,7	7,2	5,9

Çizelge 4.2. Aroma moleküllerinin şekeri %50 azaltılmış bisküvi reçetesine ait pik alan değerleri

Gruplar	Aroma Molekülleri	Reçete n 2 Şekeri %50 azaltılmış bisküvi reçetesi			
		Kont.	Kslz.	Karamel Arm.	Arm. Kar.
Pirazinler	Pirazin	64,9	176,3	66,2	184,2
	Metil Pirazin	117,2	534,0	102,3	624,5
	2,5/2,6-Dimetilpirazin	40,80	89,7	14,60	130,08
	2-Etil Pirazin	40,8	32,7	9	38,72
	2-Etil-5-Metil Pirazin	-	4,3	4,8	4,80
	Trimetil Pirazin	1	3,9	2,1	9,55
	2-Etil-3,5-Dimetilpirazin	-	-	-	-
	2,5-Dietil Pirazin	-	-	-	-
Aldehidler	Asetaldehid	3,1	5,3	5,6	6,45
	Izobutanal	2,8	8,0	9,9	9,05
	3-Metilbutanal	33,2	52,3	35,8	46,59
	2-Metilbutanal	25,3	42,2	32,60	39,25
	Pentanal	9,9	14,6	21,2	7,63
	Hekzanal	816,5	852,0	844,7	653,77
	Furfural	-	-	-	-
	Heptanal	307,8	255,9	404	224,17
	Benzaldehid	18,6	21,2	40	34,63
	Oktanal	31,3	55,0	41,7	36,51
	5-Etil-1-Siklopenten-1-Karbaldehid	13,6	38,9	37,9	33,12
	2-Oktenal	9,2	4,0	5,4	9,03
	Nonanal	114,2	130,0	114,8	128,35
	2-Nonenal	-	-	-	-
	Dekanal	-	-	-	-
	2,4-Dekadienal	-	-	83	88,78
	Anisaldehid	-	-	97,3	115,02
2-Furfural	-	-	26	-	
Heliotropin	-	-	-	-	
Furanlar	2-Metilfuran	6,5	24,8	20,7	25,23
	2-Butilfuran	307,8	255,9	404	224,17
	2-Pentilfuran	70,4	182,4	251,2	203,36
Ketonlar	2,3-Butandion	7,1	21,0	25	23,84
	2-Butanon	1	7,7	3,4	7,80
	2,3-Pentandion	1,2	3,3	3,2	4,19
	2-Heptanon	22,5	22,6	51	29,05
	2,3-Oktandion	13,1	14,5	12,7	15,87
	Oktanon (=3-okten-2-on)	-	-	-	-
	3-Hidroksi-2-butanon	-	-	67,4	4,36
Alkoller	1-Pentanol	3,2	8,1	9,5	6,99
	1-Hekzanol	61,5	84,8	86,7	76,67
	1-Heptanol	16,2	10,4	28,1	110,61
	1-okten-3-ol	2,8	22,8	21,4	20,70
	1-Oktanol	10,5	15,2	12,7	14,90

Çizelge 4.3. Aroma moleküllerinin şekeri %100 azaltılmış bisküvi reçetesine ait pik alan değerleri

Gruplar	Aroma Molekülleri	Reçete n 3 Şekeri %100 azaltılmış bisküvi reçetesi			
		Kont.	Kslz.	Karamel Arm.	Arm. Kar.
Pirazinler	Pirazin	41,6	177,5	63,8	63,8
	Metil Pirazin	51,8	585,8	82,5	82,5
	2,5/2,6-Dimetilpirazin	5,90	94,60	11,30	11,30
	2-Etil Pirazin	4	41,8	12,5	12,5
	2-Etil-5-Metil Pirazin	-	5,8	2,3	2,3
	Trimetil Pirazin	-	12,2	1,7	1,7
	2-Etil-3,5-Dimetilpirazin	-	-	-	-
	2,5-Dietil Pirazin	-	-	-	-
Aldehidler	Asetaldehid	4,5	5,6	4,6	4,6
	Izobutanal	4,6	8,3	6,1	6,1
	3-Metilbutanal	24,3	31,9	25,1	25,1
	2-Metilbutanal	18,9	28,9	20,9	20,9
	Pentanal	17,5	11,9	13,1	13,1
	Hekzanal	733,9	715,5	641	641
	Furfural	-	-	-	-
	Heptanal	592,1	342,5	575	575
	Benzaldehid	17,6	23	41,4	41,4
	Oktanal	10,7	40,7	17,4	17,4
	5-Etil-1-Siklopenten-1-Karbaldehid	28,4	29,1	31,4	31,4
	2-Oktenal	3,2	13,1	18,1	18,1
	Nonanal	94	98,7	83,7	83,7
	2-Nonenal	-	-	-	-
	Dekanal	-	38,5	-	-
	2,4-Dekadienal	-	-	102,3	102,3
Anisaldehid	-	-	67,7	67,7	
2-Furfural	-	-	20,8	20,8	
Heliotropin	-	-	92,5	92,5	
Furanlar	2-Metilfuran	15,8	20,7	13	13
	2-Butilfuran	592,1	342,5	575	575
	2-Pentilfuran	234,3	241,5	286,8	286,8
Ketonlar	2,3-Butandion	13	14,6	11,9	11,9
	2-Butanon	2,6	6,2	9	9
	2,3-Pentandion	2,1	2,2	2,9	2,9
	2-Heptanon	34,7	21,4	40,8	40,8
	2,3-Oktandion	17,3	10,5	14,2	14,2
	Oktanon (=3-okten-2-on)	-	-	-	-
	3-Hidroksi-2-butanon	-	-	33,1	33,1
Alkoller	1-Pentanol	5,8	6	4,7	4,7
	1-Hekzanol	66,3	63,8	46,8	46,8
	1-Heptanol	13,7	4,5	4,8	4,8
	1-okten-3-ol	21,8	24,7	18,2	18,2
	1-Oktanol	11,5	10,9	8,2	8,2

Çizelge 4.4. Aroma moleküllerinin yağı %50 azaltılmış bisküvi reçetesine ait pik alan değerleri

Gruplar	Aroma Molekülleri	Reçete n 4 Yağı %50 azaltılmış bisküvi reçetesi			
		Kont.	Kslz.	Karamel Arm.	Arm. Kar.
Pirazinler	Pirazin	63,8	149	31,3	112
	Metil Pirazin	205	862,5	126	659,5
	2,5/2,6-Dimetilpirazin	30,0	166,8	15,6	134,6
	2-Etil Pirazin	7,4	43	7	26,7
	2-Etil-5-Metil Pirazin	-	4,8	-	3,2
	Trimetil Pirazin	2,8	6,4	7,7	18,7
	2-Etil-3,5-Dimetilpirazin	-	-	-	-
	2,5-Dietil Pirazin	-	-	-	-
Aldehidler	Asetaldehid	3,9	13,9	4,2	7,5
	Izobutanal	4,4	15,8	3,6	6,5
	3-Metilbutanal	19,4	51,3	13,9	23,8
	2-Metilbutanal	18,6	50,2	12,3	20,1
	Pentanal	16,8	22,9	14,1	10,9
	Hekzanal	606,8	501,6	541,2	479,1
	Furfural	-	-	-	694,6
	Heptanal	268,8	157,3	268,7	162,1
	Benzaldehid	51,8	65,3	95,9	68,4
	Oktanal	31,6	39,7	33,7	34,5
	5-Etil-1-Siklopenten-1-Karbaldehid	16,9	14	19	18,3
	2-Oktenal	17,7	17,7	25,2	19,5
	Nonanal	93,3	109,1	108,4	86,9
	2-Nonenal	23,2	24,2	32,4	22,9
	Dekanal	14	14,8	15,4	12,9
	2,4-Dekadienal	65,6	43,2	15,3	14,6
	Anisaldehid	-	17,7	168,8	123,8
2-Furfural	-	-	37,4	-	
Heliotropin	-	58,8	264,4	218,2	
Furanlar	2-Metilfuran	20,4	35,9	10	16,1
	2-Butilfuran	268,8	157,3	268,7	162,1
	2-Pentilfuran	226,3	203	265,4	196
Ketonlar	2,3-Butandion	11	25,4	11,9	13,2
	2-Butanon	2,1	6,2	2	2,3
	2,3-Pentandion	2,9	4,5	2,5	2
	2-Heptanon	44,3	27	78,4	51,2
	2,3-Oktandion	17,9	13,8	18,6	13,9
	Oktanon (=3-okten-2-on)	17,4	12,8	13,1	14,5
	3-Hidroksi-2-butanon	-	-	49,7	11,1
Alkoller	1-Pentanol	7,8	6,9	6,4	6,7
	1-Hekzanol	125,5	107,9	90,9	100,7
	1-Heptanol	13,2	12,9	6,4	11,3
	1-okten-3-ol	39,1	39,8	34,7	38,7
	1-Oktanol	17,6	21,5	9,4	12,8

Çizelge 4.5. Aroma moleküllerinin BYT içeren bisküvi reçetesine ait pik alan değerleri

Gruplar	Aroma Molekülleri	Reçete n 5 BYT içeren bisküvi reçetesi			
		Kont.	Kslz.	Karamel Arm.	Arm. Kar.
Pirazinler	Pirazin	88	176	72	209
	Metil Pirazin	324,5	821,3	276	950
	2,5/2,6-Dimetilpirazin	172,7	149,9	146,3	370,0
	2-Etil Pirazin	90,4	186,9	55,1	142,4
	2-Etil-5-Metil Pirazin	22,7	37	48,7	71
	Trimetil Pirazin	32,1	20	29,7	50,2
	2-Etil-3,5-Dimetilpirazin	3,8	8	6,3	10,8
	2,5-Dietil Pirazin	5,7	8,8	6,4	12,8
Aldehidler	Asetaldehid	3,7	5	3,5	11,8
	Izobutanal	4,9	4,5	3,4	22,7
	3-Metilbutanal	53,6	38,7	32,5	99,3
	2-Metilbutanal	35,6	30,6	23,7	79,1
	Pentanal	9,2	-	7,3	8,9
	Hekzanal	227,9	209,5	238,1	261,3
	Furfural	-	-	-	-
	Heptanal	135,5	53,1	156,7	75,4
	Benzaldehid	92,2	71,2	106,1	129,7
	Oktanal	43,2	37,5	42,9	46,3
	5-Etil-1-Siklopenten-1-Karbaldehid	11,7	12,3	10,5	20,8
	2-Oktenal	8,4	-	9,3	23,1
	Nonanal	146,8	151,9	137,7	227
	2-Nonenal	14,1	22	15,6	28,1
	Dekanal	12,3	10,1	7,4	16,3
	2,4-Dekadienal	12	31,1	-	11,7
	Anisalaldehid	-	-	91,5	157,3
2-Furfural	-	-	14,8	8	
Heliotropin	-	-	82,1	180,5	
Furanlar	2-Metilfuran	2,2	4,9	1,7	15,5
	2-Butilfuran	135,5	53,1	156,7	75,4
	2-Pentilfuran	141	102,4	147,7	153,1
Ketonlar	2,3-Butandion	3,4	7,2	3,1	17,2
	2-Butanon	1,4	2,2	0,8	7,3
	2,3-Pentandion	3,8	-	2,1	5
	2-Heptanon	33,5	10,7	35,6	20,9
	2,3-Oktandion	14,1	12,6	9,6	14,7
	Oktanon (=3-okten-2-on)	5,1	4,8	6,1	10,1
	3-Hidroksi-2-butanon	-	-	6,8	-
Alkoller	1-Pentanol	2,2	-	1,9	4
	1-Hekzanol	30,3	20,8	26,7	32,6
	1-Heptanol	8,6	-	-	19,4
	1-okten-3-ol	17	18,3	17,6	27,2
	1-Oktanol	9,7	11,8	13,7	22,4

Çizelge 4.6. Aroma moleküllerinin PST içeren bisküvi reçetesine ait pik alan değerleri

Gruplar	Aroma Molekülleri	Reçete n 6 PST içeren bisküvi reçetesi			
		Kont.	Kslz.	Karamel Arm.	Arm. Kar.
Pirazinler	Pirazin	58	167	52	121,8
	Metil Pirazin	145	751,5	127,1	649,5
	2,5/2,6-Dimetilpirazin	18,2	114,	-	114,7
	2-Etil Pirazin	10,2	45,8	-	32,5
	2-Etil-5-Metil Pirazin	2,5	6,8	0,9	3
	Trimetil Pirazin	2	6,6	2	14,5
	2-Etil-3,5-Dimetilpirazin	-	1,5	-	-
	2,5-Dietil Pirazin	-	-	-	-
Aldehidler	Asetaldehid	3,4	5,9	1,6	6,5
	Izobutanal	4,9	7,2	-	6,5
	3-Metilbutanal	16,8	24,9	6,9	20,3
	2-Metilbutanal	13,6	22,8	5,4	17,4
	Pentanal	9,7	7,8	-	7,8
	Hekzanal	320,4	321,9	283,7	278,1
	Furfural	-	-	-	-
	Heptanal	105,8	91,4	105,8	79,7
	Benzaldehid	43,1	48,6	60,5	61,1
	Oktanal	19,8	40,5	26	30,3
	5-Etil-1-Siklopenten-1-Karbaldehid	11,7	18,5	12	16,1
	2-Oktenal	18,6	17,9	16,5	17,3
	Nonanal	143,3	159,6	114,5	141,1
	2-Nonenal	31,1	30,2	24,1	24,8
	Dekanal	9,5	7,4	9,4	6,3
	2,4-Dekadienal	40,3	58,3	7,9	16,3
	Anisaldehid	-	-	143,9	147
2-Furfural	-	-	22	-	
Heliotropin	-	-	170	213,7	
Furanlar	2-Metilfuran	11	7,9	3,8	11,6
	2-Butilfuran	105,8	91,4	105,8	79,7
	2-Pentilfuran	133,8	141	144,3	146,9
Ketonlar	2,3-Butandion	8	8,1	4,1	10,9
	2-Butanon	1,4	2,3	-	2,4
	2,3-Pentandion	2	1,8	-	1,5
	2-Heptanon	16	11,5	23,3	18,3
	2,3-Oktandion	16,6	10,9	13,8	8,5
	Oktanon (=3-okten-2-on)	9,8	12,7	4,9	10,3
	3-Hidroksi-2-butanon	-	-	3,6	-
Alkoller	1-Pentanol	4,2	4,9	-	4,1
	1-Hekzanol	55,5	53,7	48	48,4
	1-Heptanol	9,8	10,8	-	4,6
	1-okten-3-ol	21,9	22,9	16,7	17,6
	1-Oktanol	12,5	9,4	6,7	9,4

Çizelge 4.7. Aroma moleküllerinin glisin içeren bisküvi reçetesine ait pik alan değerleri

Gruplar	Aroma Molekülleri	Reçete n 7 Glisin ilave edilmiş bisküvi reçetesi			
		Kont	Kslz	Karamel Arm.	Arm. Kar.
Pirazinler	Pirazin	14,5	48,4	24	78,1
	Metil Pirazin	-	-	301,7	-
	2,5/2,6-Dimetilpirazin	109,0	230,9	212,50	328,3
	2-Etil Pirazin	11,7	38,4	20,7	77,3
	2-Etil-5-Metil Pirazin	29,6	64,6	68,4	83,1
	Trimetil Pirazin	8,4	33,7	35,2	90,2
	2-Etil-3,5-Dimetilpirazin	-	26,4	7	4,1
	2,5-Dietil Pirazin	-	9,5	5,8	7,2
Aldehidler	Asetaldehid	3,1	3,8	5	4,9
	Izobutanal	-	-	-	-
	3-Metilbutanal	8,6	15,4	13	17,9
	2-Metilbutanal	6,9	9,9	10,5	17,3
	Pentanal	14,7	18,6	14	7,7
	Hekzanal	356,6	367	346,4	281,1
	Furfural	-	-	565,1	335,9
	Heptanal	170,3	46,1	194,2	86,7
	Benzaldehid	81,4	38,8	120,9	77,2
	Oktanal	44,7	28,8	40,9	29,2
	5-Etil-1-Siklopenten-1-Karbaldehid	14,8	7,7	19	15,7
	2-Oktenal	21,1	21,2	25,5	24,4
	Nonanal	175	106,8	154,2	189,5
	2-Nonenal	24,6	25,2	29,4	37,5
	Dekanal	9,5	7,3	17,5	13
	2,4-Dekadienal	41,4	44,9	29	45,6
	Anisaldehid	-	-	175	143,3
	2-Furfural	-	-	37,7	-
Heliotropin	-	-	228,4	213,7	
Furanlar	2-Metilfuran	2,4	3,9	2	6,4
	2-Butilfuran	170,3	46,1	194,2	86,7
	2-Pentilfuran	119,1	74	149,7	145,3
Ketonlar	2,3-Butandion	2,2	12,1	13,6	8,1
	2-Butanon	-	3,7	-	1,5
	2,3-Pentandion	-	1,2	-	-
	2-Heptanon	23,1	11,3	31	13,5
	2,3-Oktandion	14,7	10,2	13	10,8
	Oktanon (=3-okten-2-on)	10,9	22	15,9	12,4
	3-Hidroksi-2-butanon	-	-	-	-
Alkoller	1-Pentanol	4,3	7	4,7	2,7
	1-Hekzanol	48,4	18,7	44,7	43,1
	1-Heptanol	16,8	12,5	11	19,6
	1-okten-3-ol	19,6	17,3	22,6	17,9
	1-Oktanol	18,2	13,8	17,8	21,8

Çizelge 4.8. Aroma moleküllerinin lisin içeren bisküvi reçetesine ait pik alan değerleri

Gruplar	Aroma Molekülleri	Reçete n 8 Lisin ilave edilmiş bisküvi reçetesi			
		Kont	Kslz	Karamel Arm.	Arm. Kar.
Pirazinler	Pirazin	33,7	103,6	20,1	50,5
	Metil Pirazin	-	-	73,6	-
	2,5/2,6-Dimetilpirazin	116,2	174,3	113,9	159,0
	2-Etil Pirazin	27,3	37,3	25,4	58,4
	2-Etil-5-Metil Pirazin	31,3	19	28	24,5
	Trimetil Pirazin	14,1	15	23,7	14,1
	2-Etil-3,5-Dimetilpirazin	5,6	7,7	6,8	31
	2,5-Dietil Pirazin	6,7	4,8	6,1	5,1
Aldehidler	Asetaldehid	3,1	5,9	4	-
	Izobutanal	3,8	2,8	3,2	-
	3-Metilbutanal	13	16,5	11	17,4
	2-Metilbutanal	9,3	14,6	8,7	13,4
	Pentanal	10,7	6,9	11,1	4,9
	Hekzanal	277,6	222,3	305,8	351,8
	Furfural	-	-	444	-
	Heptanal	135,2	56,1	157,9	47,4
	Benzaldehid	62,3	44,6	75,8	47,3
	Oktanal	34,2	24,7	35,6	24,3
	5-Etil-1-Siklopenten-1-Karbaldehid	8,1	9,4	12	8,5
	2-Oktenal	12,2	12,1	10,5	18,5
	Nonanal	125,4	123,4	109,3	94,9
	2-Nonenal	15,2	23,3	18,8	23
	Dekanal	14	8,1	11,9	4,2
	2,4-Dekadienal	34,6	75,3	24,3	26,6
	Anisaldehid	-	-	109,6	83,4
	2-Furfural	-	-	13,8	-
Heliotropin	-	-	139,8	115,2	
Furanlar	2-Metilfuran	2,4	15	-	2,2
	2-Butilfuran	135,2	56,1	157,9	47,4
	2-Pentilfuran	108,6	98	137,1	91,3
Ketonlar	2,3-Butandion	4,1	7,4	7,1	3,3
	2-Butanon	-	3,8	-	-
	2,3-Pentandion	-	2,1	2,2	-
	2-Heptanon	18,6	7,1	25,3	9,8
	2,3-Oktandion	10,9	11,3	8,7	7
	Oktanon (=3-okten-2-on)	13,1	10,7	14	19,5
	3-Hidroksi-2-butanon	-	-	-	-
Alkoller	1-Pentanol	4,9	2,2	3,6	4,7
	1-Hekzanol	31,7	26,8	29,4	18,9
	1-Heptanol	10,9	14,4	16,7	12,8
	1-okten-3-ol	14,2	10,6	15,5	15,3
	1-Oktanol	5,8	11,7	11,8	7,2

Çizelge 4.9. Aroma moleküllerinin Asparajinaz enzimi içeren bisküvi reçetesine ait pik alan değerleri

Gruplar	Aroma Molekülleri	Recete n 9 Asparajinaz enzimi ilave edilmiş bisküvi reçetesi			
		Kont	Kslz	Karamel Arm.	Arm. Kar.
Pirazinler	Pirazin	20,5	82,8	29,3	104,2
	Metil Pirazin	-	-	55,9	-
	2,5/2,6-Dimetilpirazin	20,60	82,70	16,00	92,10
	2-Etil Pirazin	7,8	17,6	10,3	32,3
	2-Etil-5-Metil Pirazin	2,7	-	-	5,9
	Trimetil Pirazin	3,5	4,9	5,5	6,6
	2-Etil-3,5-Dimetilpirazin	10,6	-	-	7,1
	2,5-Dietil Pirazin	-	-	-	-
Aldehidler	Asetaldehid	3,2	3,1	5,3	5,9
	Izobutanal	-	2,4	-	-
	3-Metilbutanal	5,8	11,3	13,2	17,6
	2-Metilbutanal	5,3	10,1	10	18,2
	Pentanal	9,6	4,7	7,3	6
	Hekzanal	266,5	194,7	242,3	219,7
	Furfural	-	-	551,9	310,5
	Heptanal	83,8	59	124,6	69
	Benzaldehid	29,9	31,8	48,7	48,2
	Oktanal	16,1	20,7	26,7	18,7
	5-Etil-1-Siklopenten-1-Karbaldehid	6,9	8,2	7,2	9,2
	2-Oktenal	6,3	12,6	13,6	14,3
	Nonanal	76,5	99,8	104,2	113,2
	2-Nonenal	11,4	25,7	32,5	37,8
	Dekanal	3,3	9,5	8,5	13,5
	2,4-Dekadienal	44,6	66,5	26,5	59,5
Anisaldehid	-	-	106,9	115,9	
2-Furfural	-	-	17,8	-	
Heliotropin	-	-	174,9	154,5	
Furanlar	2-Metilfuran	5,1	7	7,2	10,9
	2-Butilfuran	83,8	59	124,6	69
	2-Pentilfuran	97,3	77,8	133,7	102
Ketonlar	2,3-Butandion	3,5	0,4	9,6	7,1
	2-Butanon	-	-	-	-
	2,3-Pentandion	1,1	-	1,8	1,9
	2-Heptanon	10,6	6,5	23	12,6
	2,3-Oktandion	7,5	6,4	8,5	6,5
	Oktanon (=3-okten-2-on)	13,3	6,7	10,2	10,6
	3-Hidroksi-2-butanon	-	-	-	-
Alkoller	1-Pentanol	3,5	2,1	2,6	3,3
	1-Hekzanol	27,5	32,7	36,5	37,5
	1-Heptanol	8,2	11,8	10	7,6
	1-okten-3-ol	10,8	9,5	13,9	14,2
	1-Oktanol	7,2	5,9	8,9	9,6

Çalışmada tespit edilen aroma moleküllerinin istatistik değerlendirmesi temel bileşen analizleri ve faktör analizi kullanılarak yapılmıştır. Faktör grupları altındaki değişkenler, aroma molekülleri, arasında bir ilişki olduğu belirlendiği için aroma analiz sonuçlarında her bir faktör grubu ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

Yapılan temel bileşen analizi ve faktör analizi sonucunda birinci değişken (pirazin) varyanstaki değişimin %25,75'ünü açıklamaktadır. İkinci değişken (metil pirazin) varyanstaki değişimin %19,62'sını, üçüncü değişken (2.5/2.6-dimetil pirazin) varyanstaki değişimin %13,80'unu, dördüncü değişken (2-etil pirazin) %5,55'sını açıklamaktadır. Bu şekilde devam ederek tüm değişkenler varyanstaki değişimi açıklamaktadır.

Rotasyon yapıldığında;

F1 faktörünün açıkladığı varyans %20,29

F2 faktörünün açıkladığı varyans %15,28

F3 faktörünün açıkladığı varyans %9,44

F4 faktörünün açıkladığı varyans %8,42

F5 faktörünün açıkladığı varyans %8,21

F6 faktörünün açıkladığı varyans %8,06

F7 faktörünün açıkladığı varyans %5,97

F8 faktörünün açıkladığı varyans %3,65

F9 faktörünün açıkladığı varyans %3,50

F1, F2, F3, F4, F5, F6, F7, F8, F9 faktörlerinin hepsinin birlikte açıkladığı varyans %82,83'dir.

Rotasyonu yapılan bileşen matrisi kısmında faktörler ve bu faktörlerde hangi değişkenlerin yer aldığı verilmektedir. Belirlenen dokuz faktör şu şekilde oluşmaktadır;

F1 faktöründe pirazin, 2-metilbutanal, izobutanal, 3-metilbutanal, 2,3-pentandion, 2-metillfuran, asetaldehid, 2-butanon, 2,3-butandion, metil pirazin, 5-etil-1-siklopenten-1-karbaldehid değişkenleri yer almaktadır.

F2 faktöründe 2-etil-5-metil pirazin, 2,5-dietil pirazin, 2,5/2,6-dimetilpirazin, trimetil pirazin, 2-etil pirazin, 2-etil-3,5- dimetilpirazin, benzaldehid, nonanal değişkenleri yer almaktadır.

F3 faktöründe 1-okten-3-ol, 2,3-oktandion, 1-oktanol, 2-pentilfuran, 2-heptanone, 1-hekzanol, oktanal değişkenleri yer almaktadır.

F4 faktöründe heliotropin, anisaldehyd, furfural, 2-oktenal değişkenleri yer almaktadır.

F5 faktöründe pentanal, 1-pentanol, hekzanal değişkenleri yer almaktadır.

F6 faktöründe 2-butil-furan, heptanal, 2-nonenal, oktenon değişkenleri yer almaktadır.

F7 faktöründe 3-hidroksi-2-butanon, 2-furfural PG asetal değişkenleri yer almaktadır.

F8 faktöründe 2,4-dekadienal değişkeni yer almaktadır.

F9 faktöründe 1-heptanol, dekanal değişkenleri yer almaktadır.

Faktör analizi sonucuna göre her bir faktör altında toplanan aroma molekülleri arasında ilişki bulunmaktadır.

F1 faktör grubuna ait aroma molekülleri pirazin, 2-metilbutanal, izobutanal, 3-metilbutanal, 2,3-pentandion, 2-metilfuran, asetaldehyd, 2-butanon, 2,3 butandion, metil pirazin, 5-etil-siklopenten-1-karbaldehyd'dir ve varyansın %20,29'unu açıklamaktadır. Bu gruba ait aroma molekülleri 9 farklı reçetede 4 farklı uygulamaya ait bisküvi örneklerinin analiz sonuçları aşağıda değerlendirilmiştir. Bu gruba ait moleküllerin pik alan değerlerini gösteren grafik Şekil 4.1.'de yer almaktadır.

Pirazin ve metil pirazin önemli Maillard reaksiyonu ürünlerindedir. Tüm örneklerde en büyük alan değeri metil pirazinde belirlenmiştir. Metil pirazin alan değeri tüm reçetelerde ksiloz ilavesiyle artmış, 2 kat ksiloz ilavesiyle alan değeri 285'den 505'e ulaşarak iki katına çıkmıştır. Aroma karışımı uygulamaları standart reçete, şekeri %50 azaltılmış ve BYT (Bütün Yumurta Tozu) içeren bisküvi reçetelerinde ksiloz uygulamasından daha fazla metil pirazin

oluşumuna yol açmıştır. Bu reçetelerde aroma karışımının metil pirazin üzerine etkisi ksilozdan daha fazladır.

Şekeri %100 azaltılmış, yağı %50 azaltılmış ve PST (Peynir altı Suyu Tozu) içeren bisküvi reçetelerinde ksiloz ilave edilmiş örneklerin metil pirazin alan değeri aroma karışımı uygulanmış örneklerden daha fazla belirlenmiştir. Glisin, lisin ve asparajinaz enzimi içeren örneklerde ise ksiloz ve aroma karışımı uygulamalarında metil pirazin belirlenememiştir. Karamel aroması uygulanmış örneklerde standart reçete, şekeri %50 ve % 100 azaltılmış reçete ile yapılan bisküvilerin kontrol örneklerinden daha fazla metil pirazin oluştuğu tespit edilmiştir. Yağı %50 azaltılmış, BYT ve PST içeren reçetelerin karamel aroması uygulanmış örneklerinde metil pirazin oluşumun azaldığı belirlenmiştir. Glisin, lisin ve asparajinaz enzimi içeren reçetelerde ise sadece karamel aroması uygulanmış örneklerde metil pirazin oluşumu saptanamamıştır. Glisin içeren bisküvi reçetesinde metil pirazin alan değeri kontrol örneklerinde sıfır iken karamel aroması içeren örneklerde 301,71 olarak belirlenmiştir.

Tüm reçeteler arasında en yüksek metil pirazin oluşumu BYT içeren bisküvi örneklerinde belirlenirken en az metil pirazin oluşumu lisin ve asparajinaz enzimi içeren reçetede tespit edilmiştir.

Metil furan, 2,3-pentandion ve 2,3-butandion Maillard reaksiyonu sürecinde oluşan aroma molekülleri, furan ve ketonlardır. 2,3-pentandion ayrıca karamel aroması formülünde de yer almaktadır. Metil furan ve 2,3-butandion tüm reçete örneklerinde paralellik göstermiş, ksiloz uygulanmış örneklerde PST içeren reçete hariç tüm reçetelerde artış belirlenmiş, standart bisküvi reçetesinde ksiloz uygulamasının iki katına çıkarılması metil furan'ın alan değerini 6,59'dan 16,28'e yükseltirken, 2,3-butandion'un alan değerini 14,95'den 20,63'e çıkarmıştır.

Aroma karışımı uygulanmış tüm reçetelerde metil furan ve 2,3-butandion alan değerleri ksilozdan daha yüksek olduğu açıkça belirlenirken, sadece yağı %50 azaltılmış ve lisin içeren reçetede aroma karışımı uygulanmış örneklerin metil furan ve 2,3-butandion alan değerlerinde belirgin azalma tespit edilmiştir.

Karamel aroması uygulamasına ait örneklerde metil furan alan değerinin standart reçete, şekeri %50 azaltılmış reçete ve asparajinaz enzimi içeren reçeteye ait örneklerde arttığı belirlenmiştir. Diğer reçetelerde kontrol örneklerine göre azalma gösteren metil furan'a lisin

içeren bisküvi örneklerinde rastlanmamış, alan değeri sıfır olarak belirlenmiştir. 2,3-butandion alan değeri ise karamel aroması içeren uygulamalarda şekeri %100 azaltılmış, yağı %50 azaltılmış, BYT ve PST içeren bisküvi örneklerinde, kontrol bisküvi örneklerine yakın değerler gösterirken, standart bisküvi reçetesi, şekeri %50 azaltılmış, glisin, lisin ve asparajinaz enzimi içeren bisküvi örneklerinde belirgin bir artış saptanmamıştır.

Metil furan ve 2,3-butandion en yüksek alan değerini yağı %50 azaltılmış reçetede gösterirken, en düşük alan değeri lisin ve asparajinaz enzimi içeren reçetelerde belirlenmiştir.

2,3-pentandion Maillard reaksiyonu sonucu oluşan bir aroma molekülü olmasının yanı sıra karamel aromasının formülünde de yer alan bir aroma bileşenidir. Ksiloz ilavesi 2,3-pentandion oluşumunu BYT içeren ve asparajinaz enzimi içeren reçetede azaltırken, PST içeren reçete örneklerinde ksiloz ilavesi 2,3-pentandion oluşumuna belirgin bir etki göstermemiştir. Diğer tüm reçetelere ait örneklerde ksiloz ilavesi 2,3-pentandion oluşumunu arttırmıştır. Aroma karışımının 2,3-pentandion oluşumu üzerine etkisi standart bisküvi, şekeri %50 ve %100 azaltılmış bisküvi ve asparajinaz enzimi içeren örneklerde olumlu yönde olup bu aroma bileşeni alan değerini arttırmış, yağı %50 azaltılmış, glisin ve lisin içeren bisküvi örneklerinde 2,3-pentandion oluşumunu azaltmış, lisin ve glisin içeren örneklerde 2,3-pentandion belirlenememiştir. Bu durum amino asit ilavesinin, 2,3-pentandion oluşumunu inhibe ettiğini göstermektedir. PST içeren örneklerde ise aroma karışımı ilavesi 2,3-pentandion oluşumuna belirgin bir etki göstermemiştir.

Kullanılan karamel aromasının formülünde de yer alan 2,3-pentandion'un, karamel aroması ve aroma karışımı uygulanmış tüm örneklerin analiz sonuçlarında belirlenmesi öngörülürken, PST ve glisin içeren örneklerde 2,3-pentandion oluşumu saptanmamıştır. Bazı reçetelerde kontrol örneklerinde de 2,3-pentandion belirlenmesi bu aroma molekülünün aynı zamanda Maillard reaksiyonu sonucu da oluştuğunu göstermektedir.

3-metil butanal ve 2-metil butanal oluşumu tüm aroma analiz sonuçlarında birbirleriyle korelasyon içindedir. 2-metil butanal izolösün amino asidinin Strecker parçalanması sonucu oluşurken, 3-metil butanal lösin amino asidinin Strecker parçalanmasına uğraması ile oluşmaktadır. 3-metil butanal aynı zamanda karamel aroması yapısında da bulunmaktadır.

3-metil butanal ve 2-metil butanal oluşumu standart bisküvi reçetesinde 2 kat ksiloz ilavesiyle yaklaşık iki katına çıkmış, sırasıyla 3-metil butanal için ksiloz ve 2 kat ksiloz içeren uygulamalarda 36,97 ve 58,34 alan değeri, 2-metil butanal için sırasıyla 27,44 ve 47,25 alan değerleri belirlenmiştir. Bu durum yine ksilozun Maillard reaksiyonuna ve Stecker degradasyon ürünleri oluşumuna etkisini göstermektedir. Ksiloz uygulaması tüm reçetelere ait örneklerde 2-metil butanal ve 3-metil butanal oluşumunu arttırmış olmasına rağmen BYT içeren örneklerde kontrol örneklerine göre daha az alan değeri belirlenmiş, 3-metil butanal için BYT içeren bisküvi kontrol ve ksiloz ilaveli örneklerde sırasıyla 53,58 ve 38,74 alan değeri, 2-metil butanal için ise 35,62 ve 30,58 alan değeri tespit edilmiştir.

Aroma karışımı uygulanmış örneklerde standart bisküvi reçetesi, şekeri %50 ve %100 azaltılmış, glisin ve asparajinaz enzimi içeren bisküvi örnekleri ile BYT içeren örneklerde 3-metil butanal ve 2-metil butanal oluşumunda artış gözlenirken, en belirgin artış BYT içeren örneklerde alan değeri sırasıyla 53,58'den 99,25'e ve 35,62'den 79,06'ya çıktığı belirlenmiştir. Yağı %50 azaltılmış, PST içeren ve lisin içeren örneklerde ise aroma karışımı uygulanması ile 3-metil butanal ve 2-metil butanal oluşumunun ksiloz uygulanmış örneklerden daha az olduğu belirlenmiştir. En belirgin azalma yağı %50 azaltılmış reçetelerde tespit edilmiş olup, alan değeri sırasıyla 51,31'den 23,77'ye ve 50,23'den 20,12'ye düşmüştür.

Sadece karamel aromasının uygulandığı örneklerde 3-metil butanal ve 2-metil butanal oluşumu için, standart bisküvi reçetesi, şekeri %50 ve %100 azaltılmış, glisin ve asparajinaz enzimi içeren örneklerde artış belirlenirken, yağı %50 azaltılmış, BYT, PST ve lisin içeren örneklerde 3-metil butanal ve 2-metil butanal oluşumu azaldığı belirlenmiştir.

3-metil butanal ve 2-metil butanal aroma moleküllerinin oluşumuna ait en yüksek alan değerleri 9 reçeteye ait tüm uygulamalarda BYT içeren örneklerde belirlenirken, en yüksek alan değeri aroma karışımı uygulanmış örneklerde sırasıyla 99,25 ve 79,06 olarak belirlenmiştir. 3-metil butanal ve 2-metil butanal için en düşük alan değerleri ise glisin, lisin ve asparajinaz enzimi içeren örneklerde tespit edilmiştir.

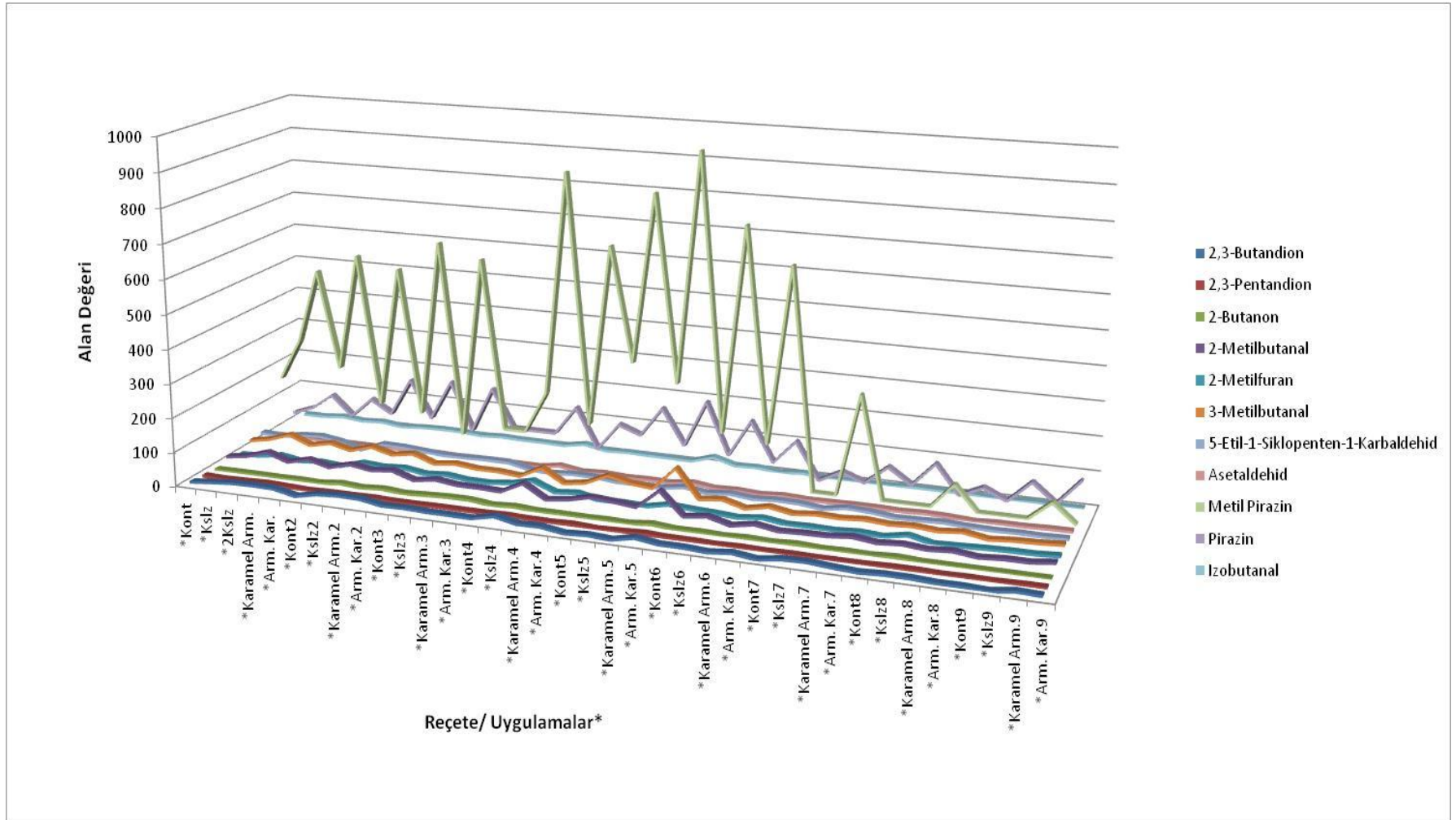
İzobutanal ve asetaldehid aroma analiz sonuçları da korelasyon göstermiş tüm reçetelerde ksilozun bu aroma molekülleri oluşumu üzerine etkisi olduğu belirlenmiştir. Aroma karışımının bu iki molekülün oluşumuna etkisi yağı %50 azaltılmış, glisin, lisin ve asparajinaz

enzimi içeren bisküvi örnekleri hariç diğer örneklerin hepsinde belirlenmiş, ksiloz uygulanmış bisküvi örneklerinden daha fazla veya aynı alan değerleri elde edilmiştir. Yağı %50 azaltılmış bisküvi örneklerinin aroma karışımı uygulamalarına ait örneklerde bu aroma molekülleri alan değerlerinin ksiloz uygulamasından daha az olduğu belirlenmiştir. Glisin içeren örneklerde izobutanal aroma molekülü belirlenmezken, lisin içeren reçeteye ait aroma karışımı uygulamalarında da izobutanal tespit edilmiştir. Asparajinaz enzimi içeren örneklerde ise sadece ksiloz uygulamasına ait örneklerde çok düşük miktarda izobutanal alan değeri belirlenmiştir.

Yağı %50 azaltılmış bisküvilerde ksiloz uygulaması asetaldehid alan değeri diğerlerinden farklı olarak kısmen daha yüksek alan değerinde 13,9 olarak belirlenmiştir. Ksiloz ve aroma karışımının etkisi lisin içeren örnekler haricinde hepsinde görülmüş, ksiloz ve aroma karışımı ilavesi asetaldehid oluşumunu tüm reçetelerde arttırmış, lisin içeren örneklerde aroma karışımı uygulaması asetaldehid oluşumu belirlenmemiştir.

Bu faktör grubu içinde yer alan 2-butanon'un en yüksek alan değeri şekeri %50 ve %100 azaltılmış bisküvi örneklerinde belirlenmiştir. Tüm reçetelerde ksilozun 2-butanon oluşumu üzerine etkisi olumlu olarak saptanırken, asparajinaz enzimi içeren reçeteye ait örneklerin hiç birinde 2-butanon belirlenmemiştir. Aroma karışımı uygulanmalarına ait örnekler arasından, yağı %50 azaltılmış, glisin ve lisin içeren bisküvi örneklerinde 2-butanon oluşumu azalırken, diğer reçetelere ait örneklerde 2-butanon oluşumunda artış belirlenmiş, asparajinaz içeren örneklerin hiç birinde 2-butanon tespit edilmemiştir. Karamel aroması uygulamalarında şekeri %50 ve %100 azaltılmış bisküvi örneklerinde 2-butanon oluşumu artarken, BYT ve PST içeren bisküvi örneklerinde 2-butanon oluşumunda azalma belirlenmiştir. Standart bisküvi reçetesine ait örnekler, yağı %50 azaltılmış bisküvi örnekleri ve glisin içeren bisküvilerin karamel uygulanmış örneklere ait 2-butanon alan değerleri kontrol örneği ile aynı değerde belirlenirken, lisin ve asparajinaz enzimi içeren örneklerin karamel aroması uygulamasında 2-butanon saptanmamış ve alan değerleri sıfır olmuştur.

F1 faktör grubuna ait aroma molekülü oluşumu, en yüksek BYT içeren bisküvi örneklerinde belirlenmiştir. En düşük aroma molekülü oluşumunun ise lisin ve asparajinaz enzimi içeren bisküvi örneklerinde olduğu belirlenmiştir. Bu gruba ait moleküllerin pik alan değerlerini gösteren grafik Şekil 4.1.'de görülmektedir.



Şekil 4.1. F1 faktör grubuna ait aroma molekülleri alan değerlerinin farklı reçete ve uygulamalara göre dağılımı (Kont: Kontrol, Kslz: Ksiloz uygulaması, 2Kslz: 2 kat ksiloz uygulaması, Karamel Arm: Yalnız karamel uygulaması, Arm. Kar: Aroma karışımı uygulaması)

F2 faktör grubunun içerdiği aroma molekülleri 9 farklı reçete için uygulanan bisküvi örneklerinin analiz sonuçlarına göre değerlendirilmiştir. Bu gruba ait moleküllerin pik alan değerlerini gösteren grafik Şekil 4.2.'de yer almaktadır.

F2 faktör grubunun içerdiği aroma molekülleri arasında 2-etil-5metil pirazin, 2,5-dietil pirazin, 2,5/2,6-demetil pirazin, trimetil pirazin, 2-etil pirazin, 2-etil-3,5-dimetil pirazin, benzaldehid, nonanal değişkenleri yer almakta ve varyansın %15,27'sini açıklamaktadır.

Bu grupta yer alan aroma moleküllerinden nonanal dışındaki tüm aroma molekülleri pirazin'ler ve benzaldehid Maillard reaksiyon ürünleridir.

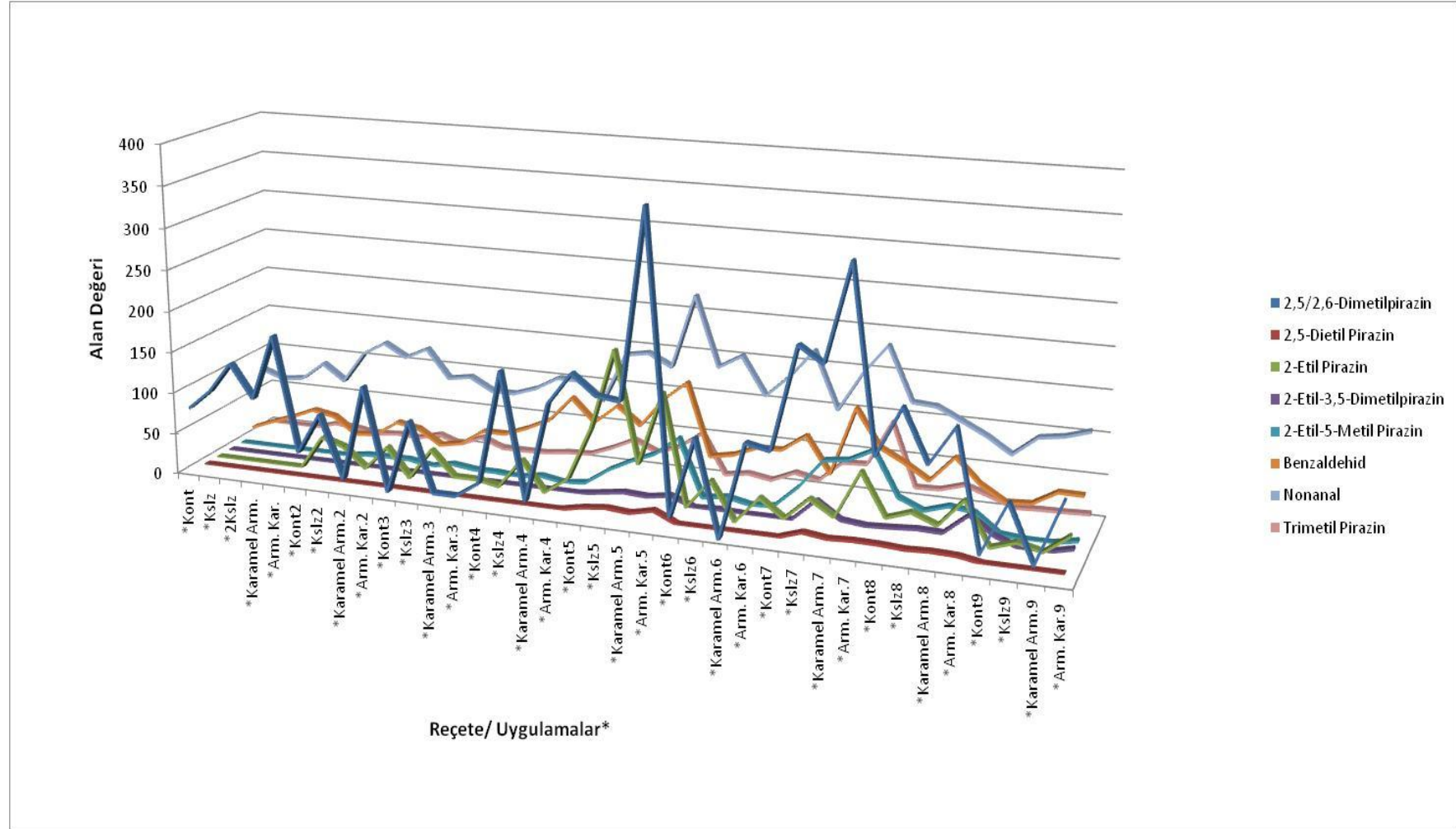
Trimetil pirazin, 2-etil-5-metil pirazin, 2-etil-3,5-dimetil pirazin, 2-etil pirazin, 2,5-dietil pirazin Maillard reaksiyonu sonucu oluşmaktadır.

Bu gruptaki aroma moleküllerinden 9 farklı reçeteye ait bisküvi örnekleri karşılaştırıldığında en yüksek aroma oluşumu BYT içeren örneklerde belirlenmiş, bunu glisin içeren bisküvi örnekleri izlemiştir. En düşük aroma oluşu ise standart bisküvi ve asparajinaz enzimi içeren reçetelere ait örneklerde belirlenmiştir.

Tüm reçetelerde sadece karamel aroması uygulamalarına ait alan değerlerinin, aynı reçete içindeki kontrol uygulamasına ait alan değerlerinden daha az olduğu tespit edilmiştir.

Aroma karışımının F2 faktör grubuna ait aroma molekülleri oluşumu üzerine etkisi, ksiloz uygulamaları ile karşılaştırıldığında PST içeren bisküvi örnekleri hariç diğer tüm reçete örneklerinde, aroma karışımının aroma molekülleri oluşumu üzerine ksilozdan daha fazla etki etmiştir.

Şekeri azaltılmış reçeteler ve standart bisküvi reçetesindeki kontrol uygulamaları, ksiloz ve aroma karışımı uygulamaları ile karşılaştırıldığında, ksiloz ve aroma karışımının F2 faktör grubundaki Maillard reaksiyonu ürünü aroma moleküllerinin oluşumunda, şekeri azaltılmış reçetelerde daha etkili olduğu belirlenmiştir. Bu gruba ait moleküllerin pik alan değerlerini gösteren grafik Şekil 4.2.'de görülmektedir.



Şekil 4.2. F2 faktör grubuna ait aroma molekülleri alan değerlerinin farklı reçete ve uygulamalara göre dağılımı (Kont: Kontrol, Kslz: Ksiloz uygulaması, 2Kslz: 2 kat ksiloz uygulaması, Karamel Arm: Yalnız karamel uygulaması, Arm. Kar: Aroma karışımı uygulaması)

Kontrol olarak belirlenen bisküvi örnekleri 9 bisküvi reçetesi arasında değerlendirildiğinde en yüksek pirazin oluşumu BYT içeren bisküvi reçetesinde belirlenirken, en düşük pirazin oluşumu şekeri %100 azaltılmış reçetede belirlenmiştir.

Glisin ve lisin içeren bisküvi örneklerinde ise pirazinlerin oluşumunun standart reçete örneklerinden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Ksiloz uygulanmış 9 bisküvi reçetesine ait örnekler değerlendirildiğinde en yüksek pirazin oluşumu yine BYT içeren örneklerde, en düşük pirazin oluşumu ise şekeri %50 ve %100 azaltılmış bisküvi örneklerinde belirlenmiştir. Glisin ve lisin içeren örneklerdeki pirazin oluşumunun standart reçeteden daha fazla olduğu, asparajinaz enzimi içeren reçetede ise standart bisküvi reçetesinden daha az olduğu tespit edilmiştir.

Sadece karamel aroması uygulanmış 9 reçeteye ait bisküvi örneklerinden en yüksek pirazin oluşumu glisin içeren bisküvi örneğinde belirlenirken, bunu BYT içeren bisküvi örneği izlemiştir. En düşük pirazin oluşumu ise sırasıyla şekeri %50 azaltılmış, şekeri %100 azaltılmış, yağı %50 azaltılmış ve PST içeren reçeteye ait bisküvi örneklerinde belirlenmiştir.

Aroma karışımı uygulamaları reçeteler arasında karşılaştırıldığında, standart reçete ile şekeri %50 ve %100 azaltılmış reçete ve yağı %50 azaltılmış reçeteye ait örneklerdeki pirazin oluşumu aynı düzeydedir. En yüksek pirazin oluşumu BYT ve glisin içeren reçetede tespit edilmiştir.

F3 faktör grubunun içerdiği aroma molekülleri 9 farklı reçete için uygulanan bisküvi örneklerinin analiz sonuçlarına göre değerlendirilmiştir. Bu gruba ait moleküllerin pik alan değerlerini gösteren grafik Şekil 4.3.'de yer almaktadır.

F3 faktör grubuna ait aroma moleküllerinden 1-hekzanol, 1-oktanol, 2,3-oktadion, 2-pentil furan, 1-okten-3-ol, 2-heptanon, oktanal yağ oksidasyon ürünleridir ve varyansın %9,44'ünü açıklamaktadır.

Oktanal için kontrol uygulamaları arasında en düşük alan değeri, şekeri %100 azaltılmış bisküvi örneklerinde belirlenirken en yüksek alan değeri standart bisküvi örneklerinde

belirlenmiştir. Oktanal oluşumu, lisin ve BYT içeren bisküvi örneklerinde diğer reçetelere ait örneklerden daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Ksiloz uygulamalarında oktanal oluşumu, şekeri %50 ve %100 azaltılmış, yağı %50 azaltılmış, PST kullanılmış ve asparajinaz enzimi kullanılmış bisküvi örneklerinde artış gösterirken standart bisküvi reçetesi, BYT, lisin ve glisin içeren örneklerde azalma göstermiştir.

Aroma karışımı, kontrol uygulamaları ile karşılaştırıldığında oktanal oluşumunu arttırırken, ksiloz uygulamaları ile karşılaştırıldığında her bir reçetede farklı sonuçlar tespit edilmiştir.

Karamel aroması uygulamalarında, oktanal oluşumu tüm reçetelerde kontrol örneklerine göre artış göstermiş, sadece BYT ve glisin içeren örneklerde oktanal alan değerinde çok az azalma belirlenmiştir.

Ksiloz uygulanmış bisküvi örneklerinde 2-pentilfuran alan değerleri şekeri %50 ve %100 azaltılmış, PST kullanılmış bisküvi reçetelerinde artarken diğer reçetelere ait örneklerde kontrol örneklerine göre azalma belirlenmiştir. Aroma karışımının uygulandığı örnekler sadece ksiloz uygulanmış örneklerle kıyaslandığında, yağı %50 azaltılmış ve lisin içeren örneklerde 2-pentilfural alan değerinde azalma belirlenirken, diğer tüm reçetelere ait bisküvi örneklerinde artış tespit edilmiştir. Sadece karamel aroması uygulanan örneklerin tümünde 2-pentilfuran alan değerinde kontrol örneklerine göre artış belirlenmiştir. 2-pentilfuran için en yüksek alan değeri, şekeri %100 azaltılmış bisküvi reçetesine ait örneklerde belirlenirken, en düşük alan değeri asparajinaz enzimi içeren reçetede saptanmıştır.

2,3-oktadien ve 2-heptanon F3 faktör grubundaki yağ asitlerinin termal degradasyonu sonucu oluşan ketonlardır. 2,3-oktadien oluşumu için tüm reçetelerde birbirine çok yakın alan değerleri belirlenirken asparajinaz enzimi içeren reçetede 2,3-oktadien oluşumu diğer reçetelere göre daha az olduğu saptanmıştır.

2-heptanon aynı zamanda denemelerde kullanılan karamel aromasının bileşenleri arasında da yer almaktadır. Tüm reçetelere ait ksiloz uygulamalarında 2-heptanon oluşumunun kontrol örneklerinden az olduğu belirlenmiştir. Tüm reçetelerde karamel aroması uygulaması ile en yüksek 2-heptanon alan değeri elde edilmiştir. Bu durum karamel aromasının bileşiminde 2-

heptanon varlığını kanıtlamaktadır. Aroma karışımı uygulamasının tüm reçetelerde karamel aromasından daha az 2-heptanon alan değeri saptanmış olması, ksiloz varlığının 2-heptanon oluşumunu olumsuz etkilediğini göstermektedir. Bu gruba ait moleküllerin pik alan değerlerini gösteren grafik Şekil 4.3.'de görülmektedir.

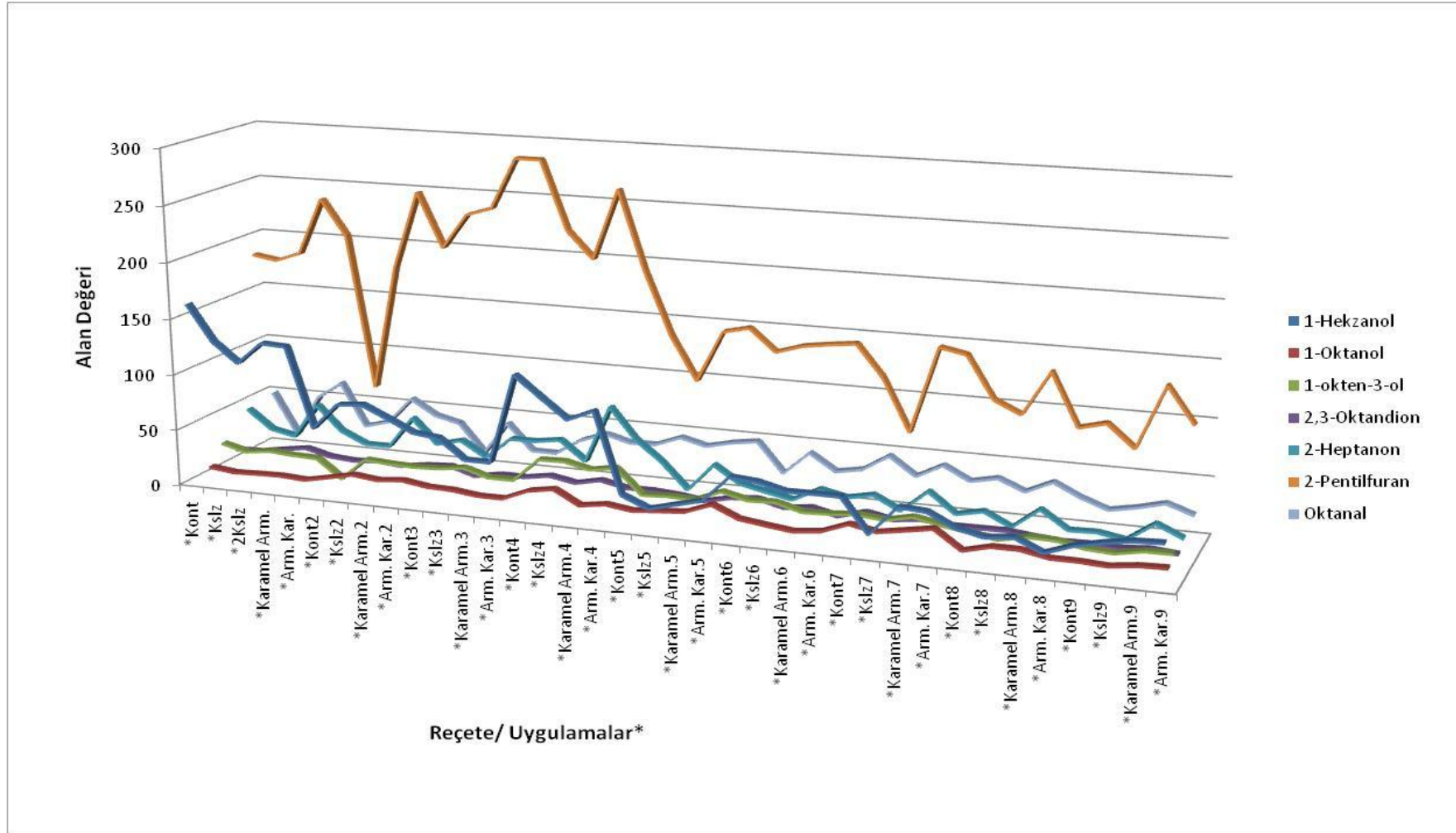
Yağı %50 azaltılmış reçetede karamel aroması uygulamasında en yüksek 2-heptanon alan değeri tespit edilmiştir. Bu aroma molekülü için en düşük alan değeri ise yine asparajinaz enzimi içeren örneklerde belirlenmiştir.

1-hekzanol, 1-okten-3-ol ve 1-oktanol F3 faktör grubundaki yağ asitlerinin termal degradasyonu sonucu oluşan, alkol sınıfındaki aroma bileşenleridir.

Ksiloz uygulamalarında 1-hekzanol için, şekeri %50 azaltılmış ve asparajinaz enzimi içeren reçetelerde alan değerinde artış belirlenirken, diğer reçetelerde kontrol örneğine göre alan değerinde azalma tespit edilmiştir. Aroma karışımı uygulamalarında ise 1-hekzanol alan değerinde, ksiloz uygulamalarına göre şekeri %50 azaltılmış, BYT kullanılmış, glisin ve asparajinaz enzimi içeren örneklerde artış belirlenmiş, diğer reçetelerde aroma karışımı uygulamasında, ksiloz uygulamasına göre daha az 1-hekzanol oluşumu tespit edilmiştir. Sadece karamel aromasının uygulandığı örneklerde ise şekeri %50 azaltılmış reçetede ve asparajinaz enzimi içeren reçetede, 1-hekzanol alan değerinin kontrol örneklerine göre arttığı belirlenirken, diğer reçetelere ait örneklerde karamel aroması uygulamasının 1-hekzanol alan değerlerini azalttığı saptanmıştır.

Tüm reçeteler arasında 1-hekzanol en yüksek oluşumu standart bisküvi reçetesinde bunu takiben yağı %50 azaltılmış reçeteye ait örneklerde belirlenmiştir. En düşük 1-hekzanol alan değeri ise BYT ve asparajinaz enzimi içeren örneklerde belirlenmiştir.

F4 faktör grubunun içerdiği aroma molekülleri 9 farklı reçete için uygulanan bisküvi örneklerinin analiz sonuçlarına göre değerlendirilmiştir. Bu gruba ait moleküllerin pik alan değerlerini gösteren grafik Şekil 4.4.'de yer almaktadır.



Şekil 4.3. F3 faktör grubuna ait aroma molekülleri alan değerlerinin farklı reçete ve uygulamalara göre dağılımı (Kont: Kontrol, Kslz: Ksiloz uygulaması, 2Kslz: 2 kat ksiloz uygulaması, Karamel Arm: Yalnız karamel uygulaması, Arm. Kar: Aroma karışımı uygulaması)

F4 faktör grubuna ait aroma moleküllerinden 2-oktenal dışındaki aroma molekülleri, anisaldehyd, furfural, heliotropin, aroma karışımında içinde yer alan karamel aromasının formülasyonunda yer almakta ve varyansın %8,42'sini açıklamaktadır.

Anisaldehyd'in tüm reçetelerde ksiloz uygulamalarına ait bisküvi örneklerinde alan değeri sıfır olarak belirlenirken, karamel aromasının uygulandığı örneklerde alan değerlerinin sıfırdan farklı olduğu tespit edilmiştir. Şekeri %50 azaltılmış, BYT ve PST içeren ve asparajinaz enzimi içeren reçetelerin aroma karışımı uygulamalarında, karamel aroması uygulamalarından daha yüksek anisaldehyd alan değeri belirlenmiştir. Yani karamel aromasının bileşiminde yer alan anisaldehyd, aroma karışımı içerisinde ksiloz ile birlikte uygulandığında bu reçetelere ait örneklerin anisaldehyd oluşumunu arttırmıştır. Standart bisküvi reçetesi, şekeri %100 azaltılmış, yağı %50 azaltılmış, glisin ve lizin içeren bisküvi örneklerinde ise aroma karışımı uygulamasında anisaldehyd oluşumu azalmıştır. Kontrol örneklerinin hiç birinde anisaldehyd oluşumu belirlenemezken, ksilozun tek başına uygulandığı reçetelerden, sadece yağı %50 azaltılmış bisküvi reçetesinde anisaldehyd oluşumu tespit edilmiş, diğer tüm reçetelerde anisaldehyd alan değeri sıfır olarak saptanmıştır. Bu durum ksilozun, karamel aroması ile birlikte uygulandığı aroma karışımı uygulamalarında standart bisküvi reçetesi, şekeri %100 azaltılmış, yağı %50 azaltılmış, glisin ve lizin içeren bisküvi örneklerinde anisaldehyd oluşumunu engelleyici etkisi olduğu göstermektedir.

Furfural aroma molekülü, kontrol ve ksilozun uygulamalarının hiçbirinde tespit edilmemiş, karamel aroması uygulamalarında da şekeri %50 azaltılmış reçete, BYT ve PST içeren reçetelere ait örneklerde tespit edilmemiştir. Şekeri %100 azaltılmış ve yağı %50 azaltılmış bisküvi örneklerinde karamel aromasının uygulandığı örneklerde furfural saptanamazken, aroma karışımı uygulamalarında furfural oluşumu tespit edilmiştir. Lizin içeren bisküvi örneklerinde ise furfural oluşumu sadece karamel aroması uygulanmış örneklerde belirlenmiştir.

Heliotropin aroma molekülü tüm reçetelerde kontrol örneklerinin hiç birinde tespit edilmemiştir. Ksiloz uygulanmış bisküvi örneklerinde, yağı %50 azaltılmış reçeteye ait örnekler dışında diğer tüm reçetelerde alan değeri sıfır olarak belirlenmiştir. Şekeri %50 azaltılmış reçeteye ait bisküvi örneklerinin hiçbir uygulamasında heliotropin oluşumu belirlenememiştir. Sadece karamel aroması uygulamaları arasında, şekeri %50 azaltılmış örnekler hariç, tüm reçetelerde heliotropin saptanması, heliotropin aroma molekülünün

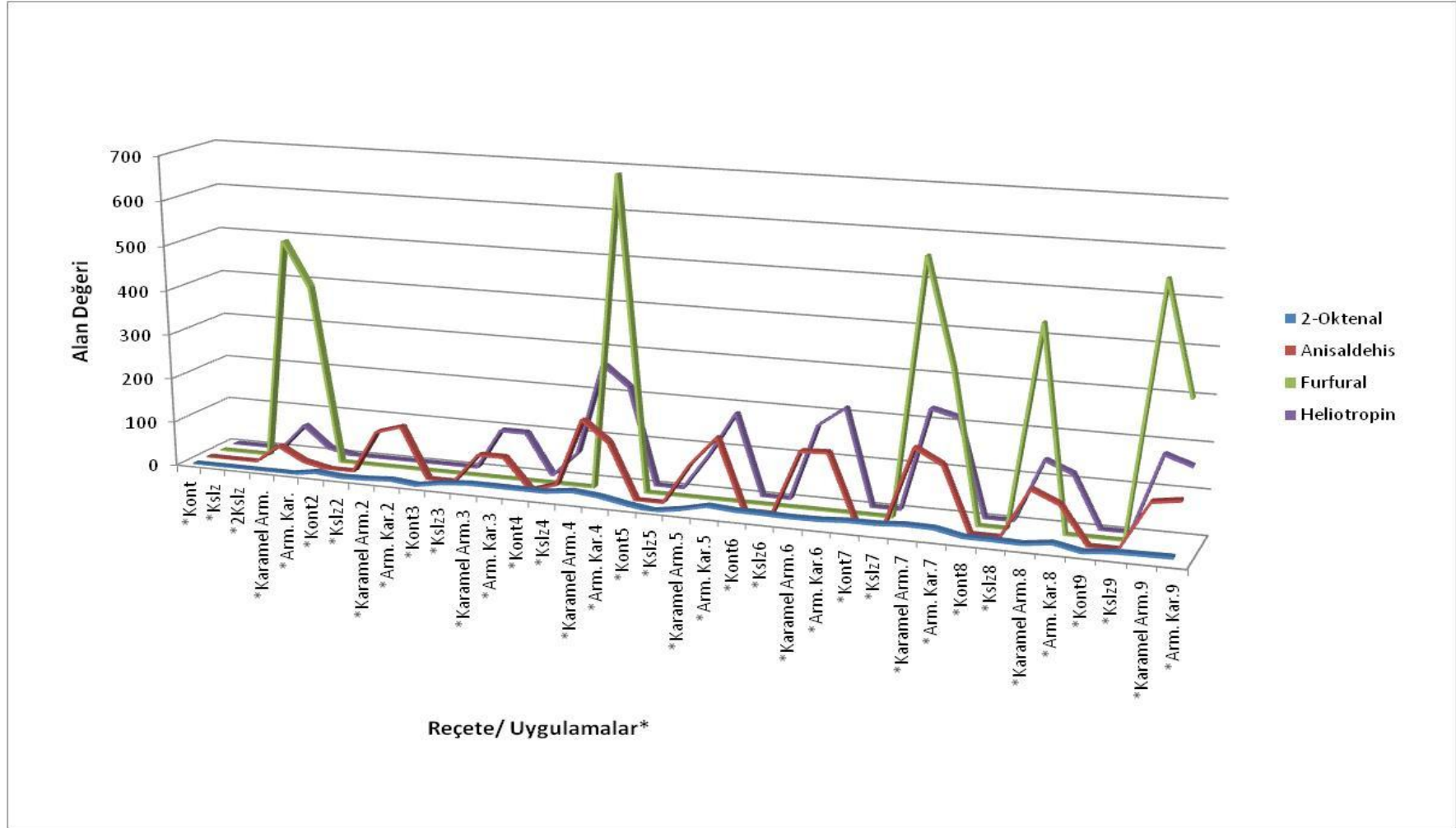
karamel aromasının yapısındaki varlığını kanıtlamaktadır. Karamel aroması uygulamaları ile aroma karışımı uygulamaları karşılaştırıldığında BYT ve PST içeren bisküvi örnekleri dışındaki tüm örneklerde ksiloz ve karamel aromasının birlikte uygulandığı aroma karışımının heliotropin oluşumunu olumsuz etkilediği belirlenmiştir. Bu gruba ait moleküllerin pik alan değerlerini gösteren grafik Şekil 4.4.'de görülmektedir.

Bu çalışmada 2-oktenal oluşumu için tüm reçeteler arasında belirgin bir fark tespit edilememiştir. Standart bisküvi reçetesine ait örneklerde saptanamayan 2-oktenal'in, glisin içeren reçeteye ait örneklerde diğer reçetelere göre daha yüksek alan değerlerinde olduğu tespit edilmiştir.

F5 faktör grubunun içerdiği aroma molekülleri 9 farklı reçete için uygulanan bisküvi örneklerinin analiz sonuçlarına göre değerlendirilmiştir. Bu gruba ait moleküllerin pik alan değerlerini gösteren grafik Şekil 4.5.'de yer almaktadır.

F5 faktör grubuna ait aroma molekülleri; pentanal, hekzenal değişkenleri yağ asitlerinin oto oksidasyonu sonucu oluşan aldehitler ve yağ asitlerinin otooksidasyonu sonucu oluşan alkol sınıfındaki 1-pentanol'u kapsamaktadır. F5 faktör grubu içerisindeki aroma molekülleri varyansın %8,42'sini açıklamaktadır.

Hekzenal için en yüksek alan değeri standart bisküvi reçetesinde belirlenmiş olup, şekeri %50 ve %100 azaltılmış reçetelere ait örneklerde ve yağı %50 azaltılmış bisküvi örneklerinde hekzenal alan değerinin azaldığı belirlenmiştir. Yağı %50 azaltılmış kontrol örneklerinde hekzenal alan değeri 606,75 iken standart bisküvi reçetesine ait kontrol örneklerinde bu değer 1408,05 olarak belirlenmiştir. Yağın %50 azaltılmasıyla birlikte yağ oksidasyonu sonucu oluşan hekzenal alan değerinde de %43 oranında azalma meydana gelmiştir. Hekzenal alan değerinin en düşük olduğu değerler BYT içeren ve asparajinaz enzimi içeren örneklerde belirlenmiştir. PST, lisin ve glisin içeren örneklerde de hekzenal alan değeri standart bisküvi örneğindeki hekzenal değerlerinden %73-86 oranında azalma belirlenmiştir.



Şekil 4.4. F4 faktör grubuna ait aroma molekülleri alan değerlerinin farklı reçete ve uygulamalara göre dağılımı (Kont: Kontrol, Kslz: Ksiloz uygulaması, 2Kslz: 2 kat ksiloz uygulaması, Karamel Arm: Yalnız karamel uygulaması, Arm. Kar: Aroma karışımı uygulaması)

1-pentanol ve pentanal aroma molekülleri lipid oksidasyon ürünlerindedir. Her iki aroma molekülü için de en yüksek alan değerleri standart bisküvi reçetesine ait örneklerde belirlenmiştir. 1-pentanol aroma molekülüne ait en düşük alan değerlerine BYT kullanılmış reçeteye ait örneklerde belirlenmiş, bu reçeteye ait ksiloz uygulamasında 1-pentanol ve pentanal aroma moleküllerinin her ikisi de tespit edilememiştir. Pentanal aroma molekülüne ait en düşük alan değeri ise asparajinaz enzimi içeren reçetelerde belirlenmiştir.

Her bir reçete içinde uygulamalar karşılaştırıldığında şekeri %50 ve %100 azaltılmış reçeteler ve glisin içeren reçetelerde ksiloz uygulamaları 1-pentanol alan değerlerini kontrol örneklerine göre artırırken, standart bisküvi reçetesi, BYT, lisin ve asparajinaz enzimi içeren örneklerde ksiloz uygulaması 1-pentanol alan değerini azaltmış, BYT içeren örneklerin ksiloz uygulamasında 1-pentanol alan değeri belirlenememiştir. Aroma karışımı ilavesi, ksiloz uygulaması ile karşılaştırıldığında BYT, lisin ve asparajinaz enzimi ilavesi 1-pentanol alan değerinde artış belirlenirken, standart reçeteye ait örneklerde, şekeri %50 ve %100 azaltılmış örnekler ve glisin içeren örneklerde azalma tespit edilmiştir. Yağ oranının %50 azaltılması ve PST ilavesi olan örneklerde aroma karışımı uygulamasına ait alan değerleri ile ksiloz uygulamalarına ait alan değerleri arasında belirgin bir fark belirlenmemiştir. Sadece karamel aromasının uygulaması standart bisküvi reçetesi ve şekeri %50 azaltılmış reçeteye ait örneklerde 1-pentanol alan değeri kontrol örneklerine göre artış belirlenmiştir. Glisin içeren örneklerde sadece karamel aroması uygulaması 1-pentanol alan değerini değiştirmezken, diğer tüm reçetelere ait örneklerde karamel aroması uygulaması 1-pentanol alan değerini düşürmüştür, PST içeren reçeteye ait örnekte ise 1-pentanol belirlenememiştir. Bu gruba ait moleküllerin pik alan değerlerini gösteren grafik Şekil 4.5.'de görülmektedir.

Her bir reçeteye ait örnekler incelendiğinde pentanal aroma molekülüne ait alan değerleri ksiloz uygulanan örneklerde, şekeri %50 azaltılmış bisküvi reçetesi, yağı %50 azaltılmış bisküvi reçetesi ve glisin içeren bisküvi reçetesine ait kontrol örneklerine göre artma belirlenmiştir. BYT kullanılan bisküvi reçetesine ait örneklerde ksiloz uygulamasına ait pentanal alan değeri tespit edilememiştir. Standart bisküvi reçetesinde ksiloz miktarının iki katına çıkarılmasıyla da pentanal alan değerinin arttığı belirlenmiştir. Aroma karışımı uygulaması her bir reçetede kontrol uygulaması ile karşılaştırıldığında tüm reçetelerde aroma karışımı ilavesinin pentanal oluşumunu azalttığı saptanmıştır. Aroma karışımı uygulaması her bir reçetede ksiloz uygulaması ile karşılaştırıldığında aroma karışımının standart bisküvi reçetesi, BYT kullanılmış reçete ve asparajinaz içeren reçetelerde pentanal alan değerinde

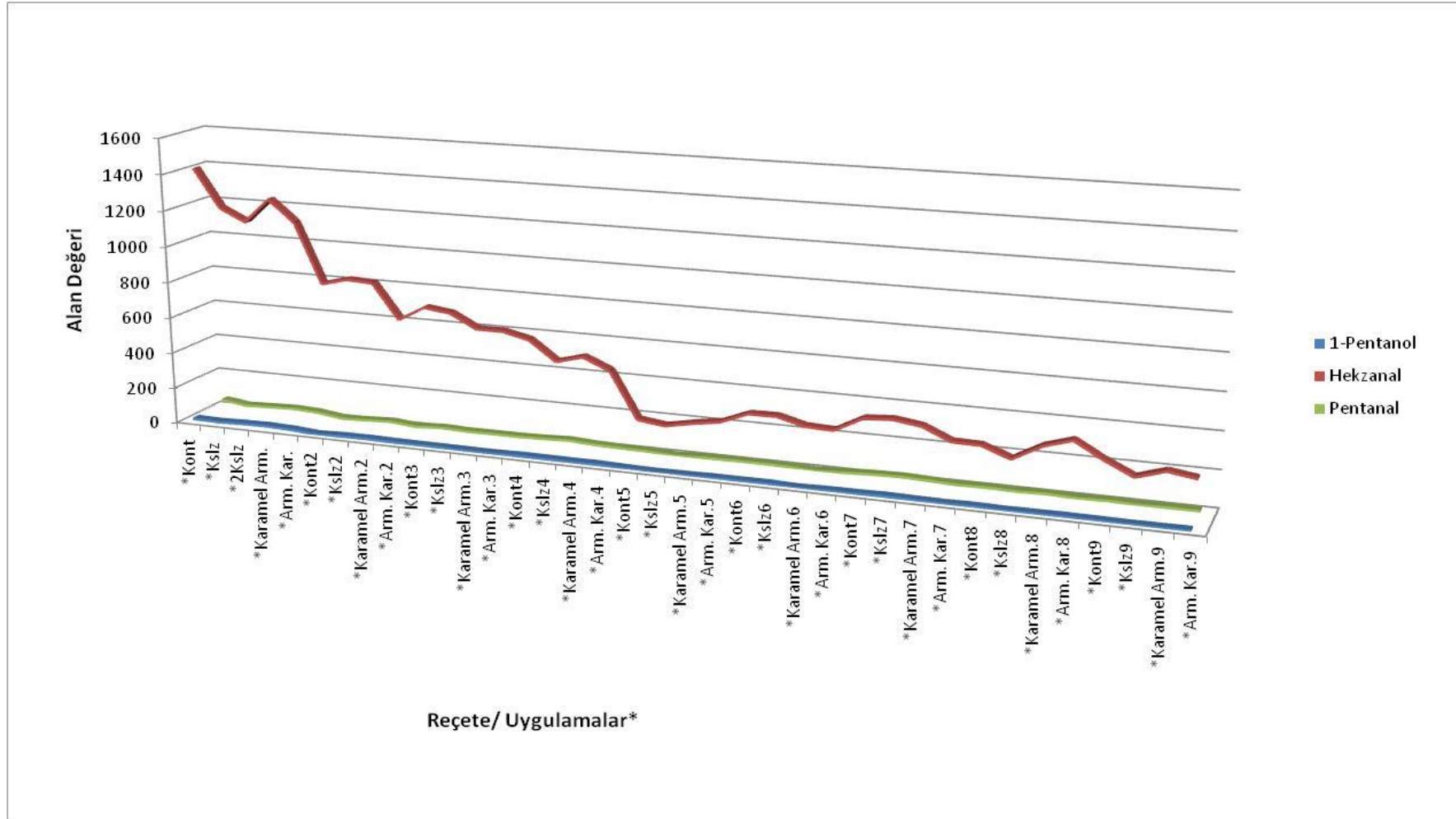
artış belirlenirken, diğer reçetelerde pentanal alan değeri azalmış, PST kullanılmış reçete ise pentanal alan değerinin aynı değerlerde kaldığı belirlenmiştir. Aynı reçete içinde karamel aroması uygulaması ise tüm reçetelerde kontrol örnekleri ile karşılaştırıldığında lipid oksidasyon ürünü olan pentanal oluşumun tüm reçetelerde azaldığı belirlenmiştir. Sadece karamel aroması uygulamaları ile aynı oranda karamel aroması içeren aroma karışımı uygulamalarının da pentanal oluşumu üzerine tüm reçetelerde benzer etki gösterdiği dikkate alınırsa, karamel aromasının lipid oksidasyonu sonucu oluşan pentanal aroma molekülü oluşumunu azalttığı tespit edilmiştir.

F6 faktör grubunun içerdiği aroma molekülleri 9 farklı reçete için uygulanan bisküvi örneklerinin analiz sonuçlarına göre değerlendirilmiştir. Bu gruba ait moleküllerin pik alan değerlerini gösteren grafik Şekil 4.6.'da yer almaktadır.

F6 faktör grubuna ait aroma molekülleri heptanal/ 2-butilfuran ve 2-nonenal değişkenleri yağ asitlerinin oto oksidasyonu sonucu oluşan aldehitler, oktanon ise yağ asitlerinin otooksidasyonu sonucu oluşan ketonlardandır. Bu grupta yer alan tüm aroma molekülleri heptanal/2-butil furan, 2-nonenal ve oktanon varyansın %8,06'sini açıklamaktadır.

Bu faktör grubuna ait aroma moleküllerinden heptanal/ 2-butil furan alan değerleri kromatogram sonuçlarında aynı pik değeri içinde belirlendiği için değerler aynı alınmıştır. 2-nonenal ile oktanon alan değerlerinin de birbirine paralel sonuçlar gösterdiği belirlenmiştir.

Heptanal/ 2-butil furan alan değerleri tüm reçetelerde ksiloz uygulamasıyla azaldığı belirlenmiştir. Standart bisküvi reçetesinde ksiloz uygulaması ile alan değeri 134,3'den 108,9'a düşerken, ksilozun iki katına çıkarılması heptanal/ 2-butil furan alan değerini 114,4'e düşürmüştür. Aroma karışımı uygulaması her bir reçete içinde kontrol örnekleri ile karşılaştırıldığında heptanal/ 2-butil furan alan değerlerinin azaldığı saptanmıştır. Karamel aromasının uygulamalarında ise yağı %50 azaltılmış ve PST içeren reçetelerde heptanal/ 2-butil furan alan değerleri aynı kalırken, şekeri %100 azaltılmış reçetelere ait örneklerde heptanal/ 2-butil furan alan değeri 592'den 574,9 a düşerek kısmı bir azalma belirlenmiştir. Diğer tüm reçetelerde karamel aroması uygulamasının her bir reçetede kontrol örneklerine göre heptanal/ 2-butil furan değerini arttırdığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.5. F5 faktör grubuna ait aroma molekülleri alan değerlerinin farklı reçete ve uygulamalara göre dağılımı (Kont: Kontrol, Kslz: Ksiloz uygulaması, 2Kslz: 2 kat ksiloz uygulaması, Karamel Arm: Yalnız karamel uygulaması, Arm. Kar: Aroma karışımı uygulaması)

Her bir reçetedeki uygulamalar arasında heptanal/2-butil furan en yüksek alan değerleri aroma karışımı uygulamalarına ait olduğu belirlenmiştir.

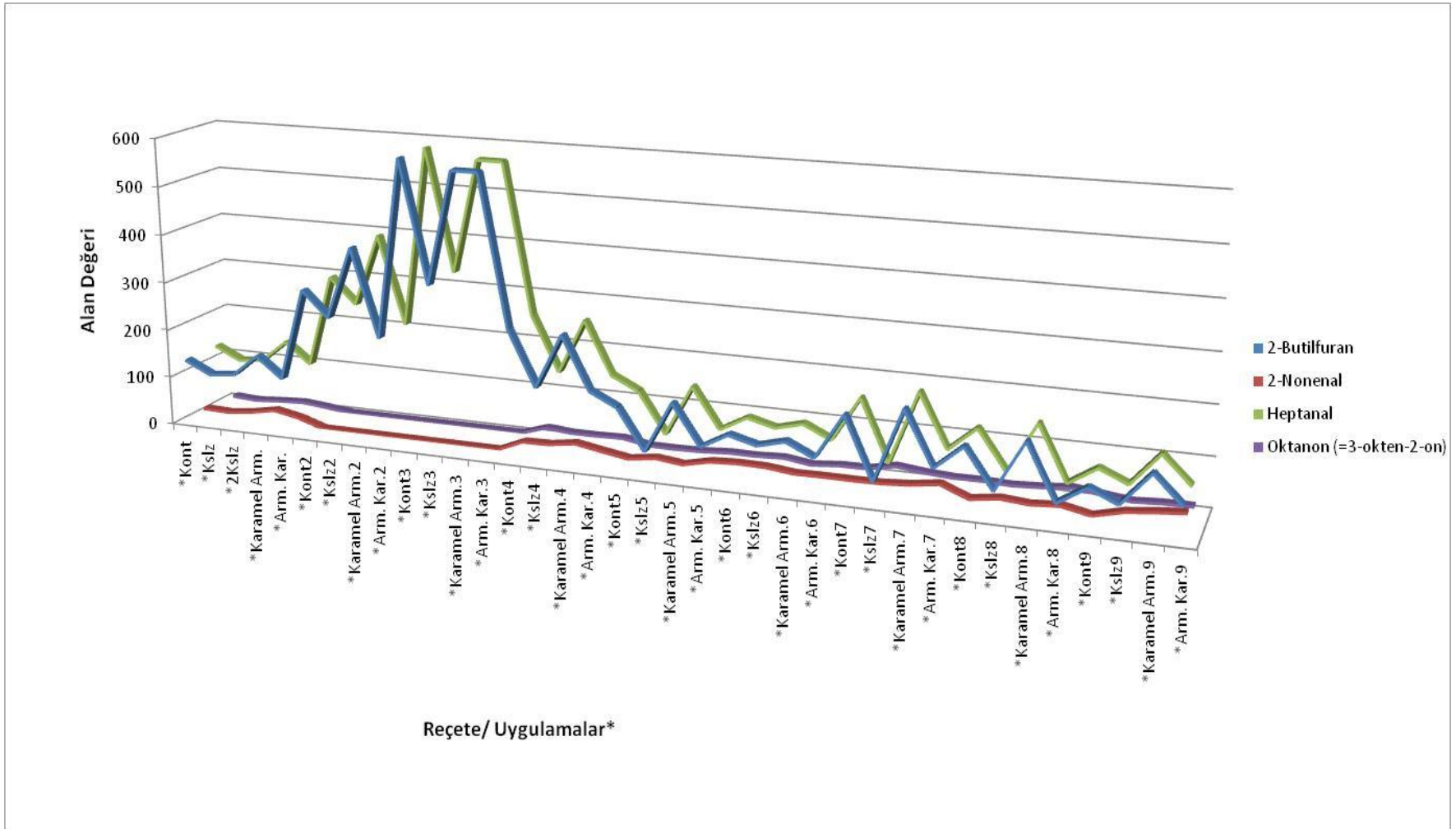
Aroma karışımı ve ksiloz uygulamasıyla, her bir reçetede heptanal/ 2-butil furan alan değerinin kontrol örneklerine göre azalması, ksilozun bu aroma molekülleri oluşumu üzerine olumsuz etkisi olduğu gösterir. Karamel aroması uygulamalarında, heptanal/ 2-butil furan alan değerlerinin artması, aynı miktarda karamel aroması içeren aroma karışımı uygulamalarındaki alan değerlerinin, ksiloz uygulamalarındaki alan değerlerinden yüksek olmasını açıklamaktadır.

Standart bisküvi reçetesindeki kontrol bisküvi örnekleri diğer reçeteler ile karşılaştırıldığında heptanal/ 2-butil furan alan değerlerinde, şekeri %50 ve %100 azaltılmış, yağı %50 azaltılmış ve glisin içeren bisküvi örneklerinde artış belirlenirken, BYT ve lisin kullanılmış örneklerde heptanal/ 2-butil furan alan değerleri değişmemiştir. PST ve asparajinaz enzimi kullanılan reçetelerde ise heptanal/ 2-butil furan alan değerlerinde azalma tespit edilmiştir.

Standart bisküvi reçetesindeki ksiloz ve aroma karışımı uygulamalarında heptanal/ 2-butil furan alan değerleri için tespit edilen sonuçların diğer reçeteler ile karşılaştırıldığında birbirine paralel olduğu belirlenmiştir. Şekeri %50 ve %100 azaltılmış, yağı %50 azaltılmış bisküvi örneklerinde heptanal/2-butil furana alan değerlerinde artış belirlenirken, diğer reçetelerde BYT, PST, glisin, lisin ve asparajinaz enzimi içeren reçetelerde azalma saptanmıştır.

Karamel aroması uygulamasında ise heptanal/ 2-butil furan alan değerleri de kontrol bisküvi örneklerine benzer olarak şekeri %50 ve %100 azaltılmış, yağı %50 azaltılmış, BYT ve PST kullanılmış ve asparajinaz enzimi içeren örneklerde azalma tespit edilmiş, glisin içeren bisküvi reçetesinde heptanal/ 2-butil furan alan değerleri artmış, lisin içeren bisküvi reçetesinde alan değerleri aynı kalmıştır.

Heptanal /2- butil furan oluşumunun en yüksek sırasıyla şekeri %100 azaltılmış ve şekeri %50 azaltılmış bisküvi reçetelerine ait örneklerde belirlenmiştir. En düşük heptanal/ 2-butil furan oluşumu ise asparajinaz enzimi içeren örneklerde tespit edilmiştir. Bu gruba ait moleküllerin pik alan değerlerini gösteren grafik Şekil 4.6.'da görülmektedir.



Şekil 4.6. F6 faktör grubuna ait aroma molekülleri alan değerlerinin farklı reçete ve uygulamalara göre dağılımı (Kont: Kontrol, Kslz: Ksiloz uygulaması, 2Kslz: 2 kat ksiloz uygulaması, Karamel Arm: Yalnız karamel uygulaması, Arm. Kar: Aroma karışımı uygulaması)

2-nonenal alan değerleri için her bir reçetedeki uygulamalar birbiri ile karşılaştırıldığında uygulamalar arasında belirgin bir fark tespit edilememiştir. şekeri %50 ve %100 azaltılmış bisküvi örneklerinde 2-nonenal aroma molekülü belirlenememiştir. 2-nonenal için en yüksek alan değerleri lisin içeren örneklerde belirlenmiştir. Oktanon alan değerleri için de farklı reçetelerde birbirine yakın değerler saptanmış, şekeri %50 ve %100 azaltılmış reçetelere ait örneklerde oktanon aroma molekülü tespit edilememiştir. şekeri %100 azaltılmış örneklerdeki aroma karşımı uygulamasına ait belirlenen alan değeri kontaminasyon sonucu ortaya çıkmıştır.

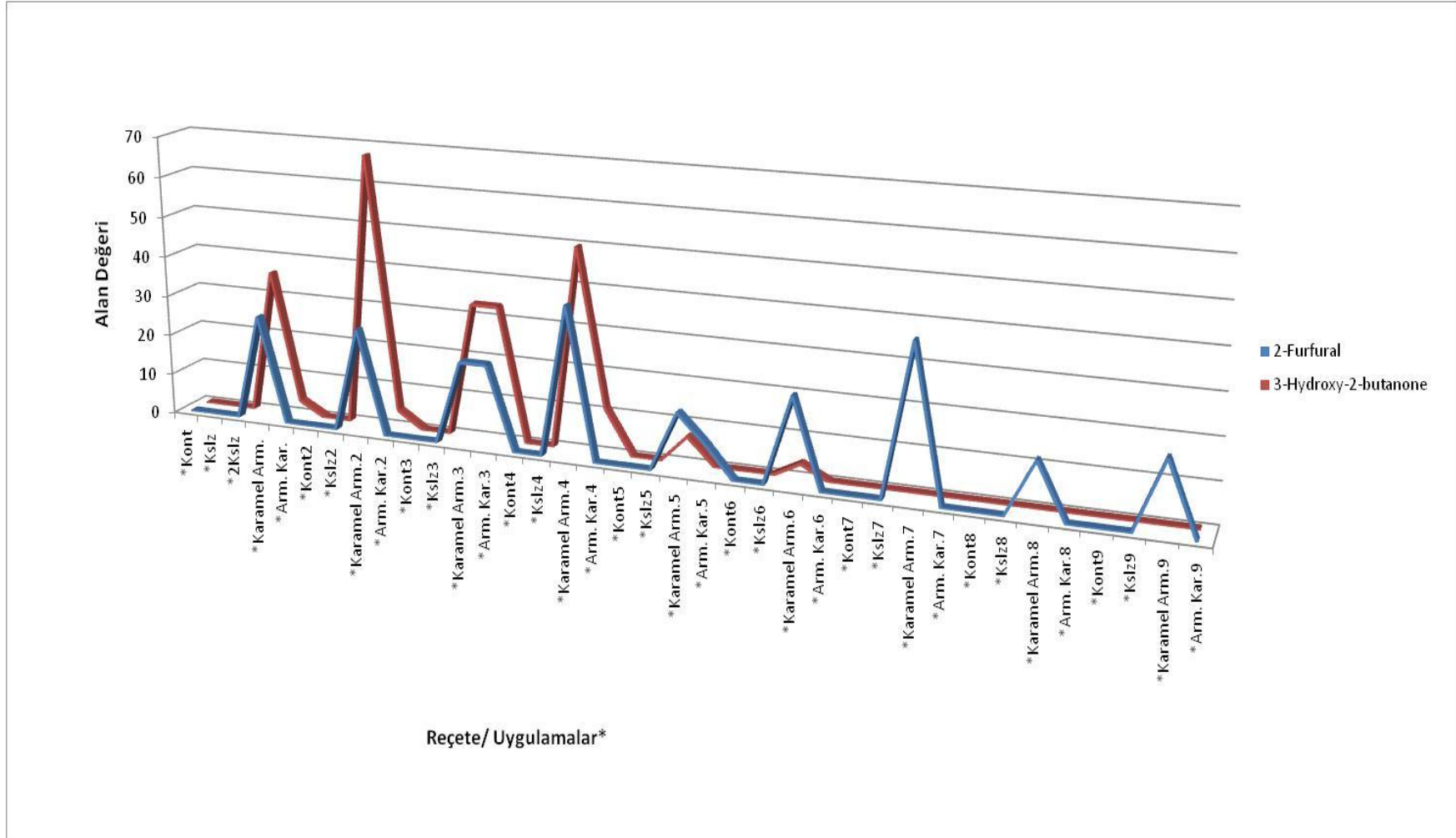
F7 faktör grubunun içerdiği aroma molekülleri 9 farklı reçete için uygulanan bisküvi örneklerinin analiz sonuçlarına göre değerlendirilmiştir. Bu gruba ait moleküllerin pik alan değerlerini gösteren grafik şekil 4.7.'de yer almaktadır.

F7 faktör grubuna ait aroma molekülleri 3-hidroksi-2-butanon ve 2-furfural PG asetat değişkenleri karamel aroması bileşiminde yer alan aroma molekülleridir. Bu grupta yer alan tüm aroma molekülleri 3-hidroksi-2-butanon ve 2-furfural PG asetat varyansın %5,99'unu açıklamaktadır.

3-hidroksi-2-butanon aroma molekülü, standart bisküvi reçetesi, şekeri %50 ve %100 azaltılmış bisküvi reçetesi ve yağı %50 azaltılmış bisküvi reçetesine ait örneklerde karamel aroması ve aroma karşımı uygulamalarında belirlenirken, BYT ve PST içeren bisküvi reçetesine ait örneklerde karamel aroması uygulamasına ait sonuçlarda tespit edilememiştir. Glisin, lisin ve asparajinaz enzimi ilave edilen örneklerde 3-hidroksi-2-butanon aroma molekülü saptanmamıştır. En yüksek 3-hidroksi-2-butanon alan değeri sırasıyla şekeri %50 azaltılmış ve yağı %50 azaltılmış bisküvi örneklerinde belirlenmiştir.

2-furfural PG asetat aroma molekülü ise tüm reçetelere ait örneklerde sadece karamel aroması uygulamasına ait örneklerde tespit edilmiştir. En yüksek 2-furfural PG asetat alan değeri ise yağı %50 azaltılmış ve lisin içeren bisküvi örneklerinde belirlenmiştir.

Bu aroma moleküllerine ait alan değerlerinin sadece karamel aroması ve bazı aroma karşımı uygulamalarına ait örneklerde belirlenmesi bu aroma moleküllerinin karamel aroması bileşiminde yer aldığını desteklemektedir. Bu gruba ait moleküllerin pik alan değerlerini gösteren grafik şekil 4.7.'de görölmektedir.



Şekil 4.7. F7 faktör grubuna ait aroma molekülleri alan değerlerinin farklı reçete ve uygulamalara göre dağılımı (Kont: Kontrol, Kslz: Ksiloz uygulaması, 2Kslz: 2 kat ksiloz uygulaması, Karamel Arm: Yalnız karamel uygulaması, Arm. Kar: Aroma karışımı uygulaması)

F8 faktör grubunun içerdiği aroma molekülleri 9 farklı reçete için uygulanan bisküvi örneklerinin analiz sonuçlarına göre değerlendirilmiştir. Bu gruba ait moleküllerin pik alan değerlerini gösteren grafik Şekil 4.8.'de yer almaktadır.

F8 faktör grubuna ait aroma molekülü 2,4-dekadienal değişkeni, yağ asidi oksidasyonu ürünüdür ve özellikle yumurta sarısında fazla miktarda bulunan linoleik asit veya araşidonik asit degradasyonundan oluşur. Bu grupta yer alan aroma molekülü 2,4-dekadienal varyansın %3,65'ini açıklamaktadır.

2,4-dekadienal aroma molekülüne ait alan değeri standart bisküvi reçetesinde ksiloz uygulamasının iki katına çıkarılmasıyla artış gösterirken, kontrol, ksiloz, aroma karışımı ve karamel aroması uygulamaları arasında 2,4-dekadienal oluşumunda belirgin bir fark saptanmamıştır. Şekeri %50 ve %100 azaltılmış reçetelere ait örneklerde kontrol ve ksiloz uygulamalarına ait 2,4-dekadienal alan değeri tespit edilemezken, şekeri %50 azaltılmış örneklerde aroma karışımı ve karamel aroması uygulamalarına ait 2,4-dekadienal alan değerleri arasında da belirgin bir fark belirlenmemiştir. Ancak standart bisküvi reçetesindeki aroma karışımı ve karamel aromasına uygulamalarına ait alan değerleri sırasıyla 3,11 ve 4,4 iken şekeri %50 azaltılmış reçeteye ait örneklerde bu alan değerleri 88,7 ve 83 olarak belirlenmiştir. Şekeri %100 azaltılmış bisküvi reçetesine ait örneklerde ise aroma karışımı uygulamasına ait alan değeri 44,2 iken karamel aroması uygulamasına ait alan değeri 102,2 olarak belirlenmiştir.

Yağı %50 azaltılmış bisküvi reçetesine ait örneklerde en yüksek 2,4-dekadienal alan değeri kontrol uygulamasında belirlenirken, ksiloz, karamel aroması ve aroma karışımı uygulaması ile 2,4-dekadienal oluşumunda azalma belirlenmiş, alan değerleri şekeri %50 ve %100 azaltılmış örnekle ait değerlerden daha az iken standart bisküvi reçetesine ait örneklerden daha fazla olarak belirlenmiştir. BYT kullanılmış bisküvi reçetesinde ksiloz uygulamasında karamel aroması uygulamasına ait sonuçlarda 2,4-dekadienal belirlenmemiştir. Kontrol ve aroma karışımına ait alan değerleri sırasıyla 11,9 ve 11,6 olarak belirlenirken, ksiloz uygulamasına ait alan değeri 31,8 olarak belirlenmiştir. PST içeren reçetede en yüksek alan değeri ksiloz uygulamasına ait örneklerde 58,2 olarak belirlenmiş, en düşük alan değeri de karamel aroması uygulamasında belirlenmiştir.

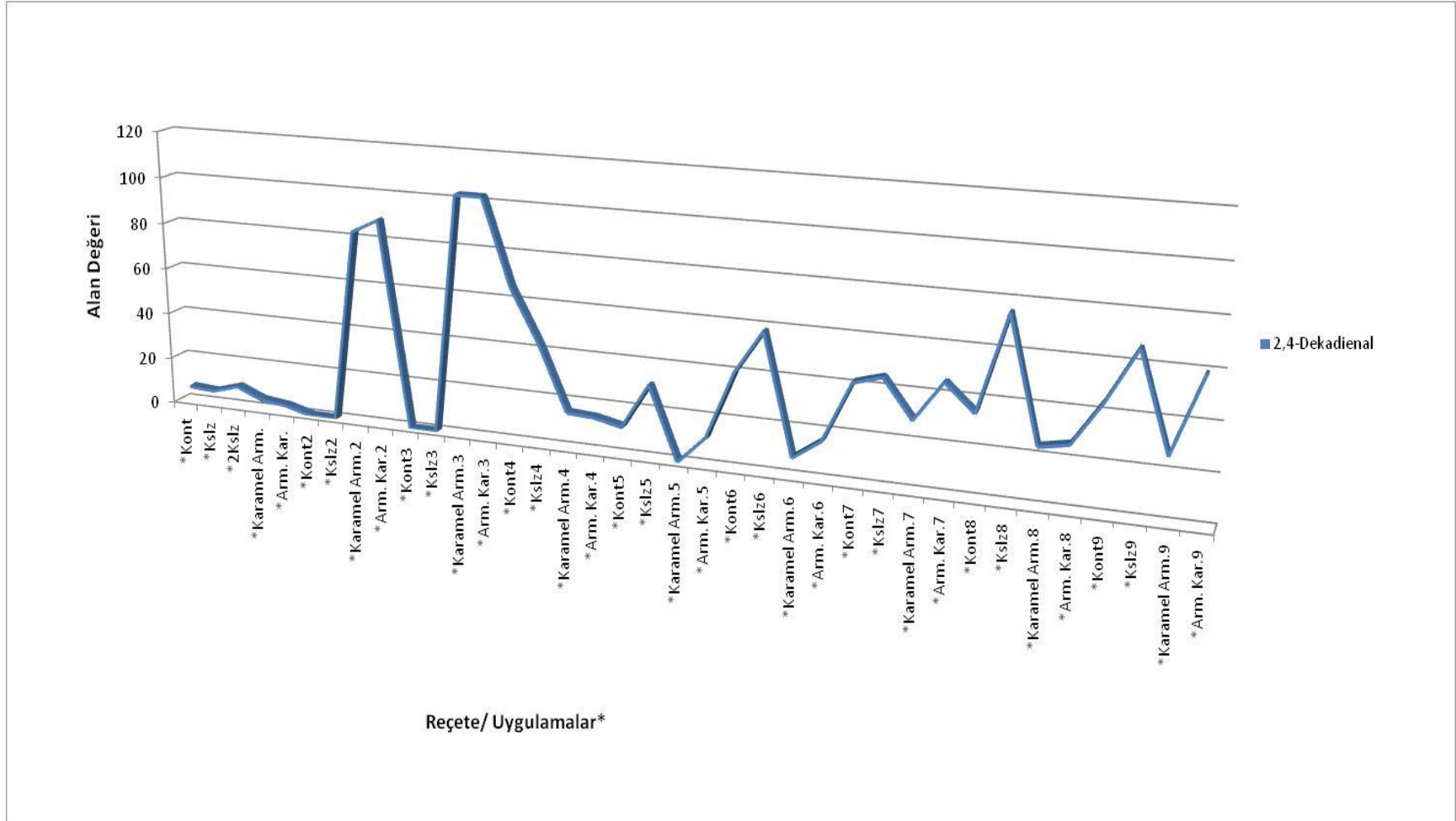
Glisin içeren bisküvi örneklerinde kontrol, ksiloz ve aroma karışımı uygulamalarına ait 2,4-dekadienal alan değerleri sırasıyla 41,3; 45,9 ve 45,5 olarak belirlenirken, karamel aroması uygulamasına ait alan değeri 29 olarak belirlenmiştir. Lisin içeren reçeteye ait örneklerde ise en yüksek 2,4-dekadienal alan değeri ksiloz uygulamasına ait örneklerde 75,2 olarak belirlenmiştir. Aroma karışımı ve karamel aroması uygulaması aynı reçete içinde 2,4-dekadienal oluşumunu azaltırken, alan değerleri sırasıyla 26,6 ve 24,2 olarak saptanmıştır. Asparajinaz enzimi içeren reçeteye ait uygulamalarda en yüksek 2,4-dekadienal alan değeri 66,1 olarak ksiloz uygulamasında belirlenmiş, bunu 59,5 ile aroma karışımı uygulaması, 44,5 alan değeri ile kontrol uygulaması ve 26,5 alan değeri ile karamel aroması uygulaması izlemiştir.

2,4-dekadienal aroma molekülü oluşumu şekeri %50 ve %100 azaltılmış reçeteler dışındaki tüm reçetelerde kendi içindeki uygulamalarda en yüksek oluşumu ksiloz uygulamalarında tespit edilmiştir. Tüm reçete ve uygulamalar arasında en yüksek alan değeri ise şekeri %100 azaltılmış reçetede karamel aroması uygulamasına aittir.

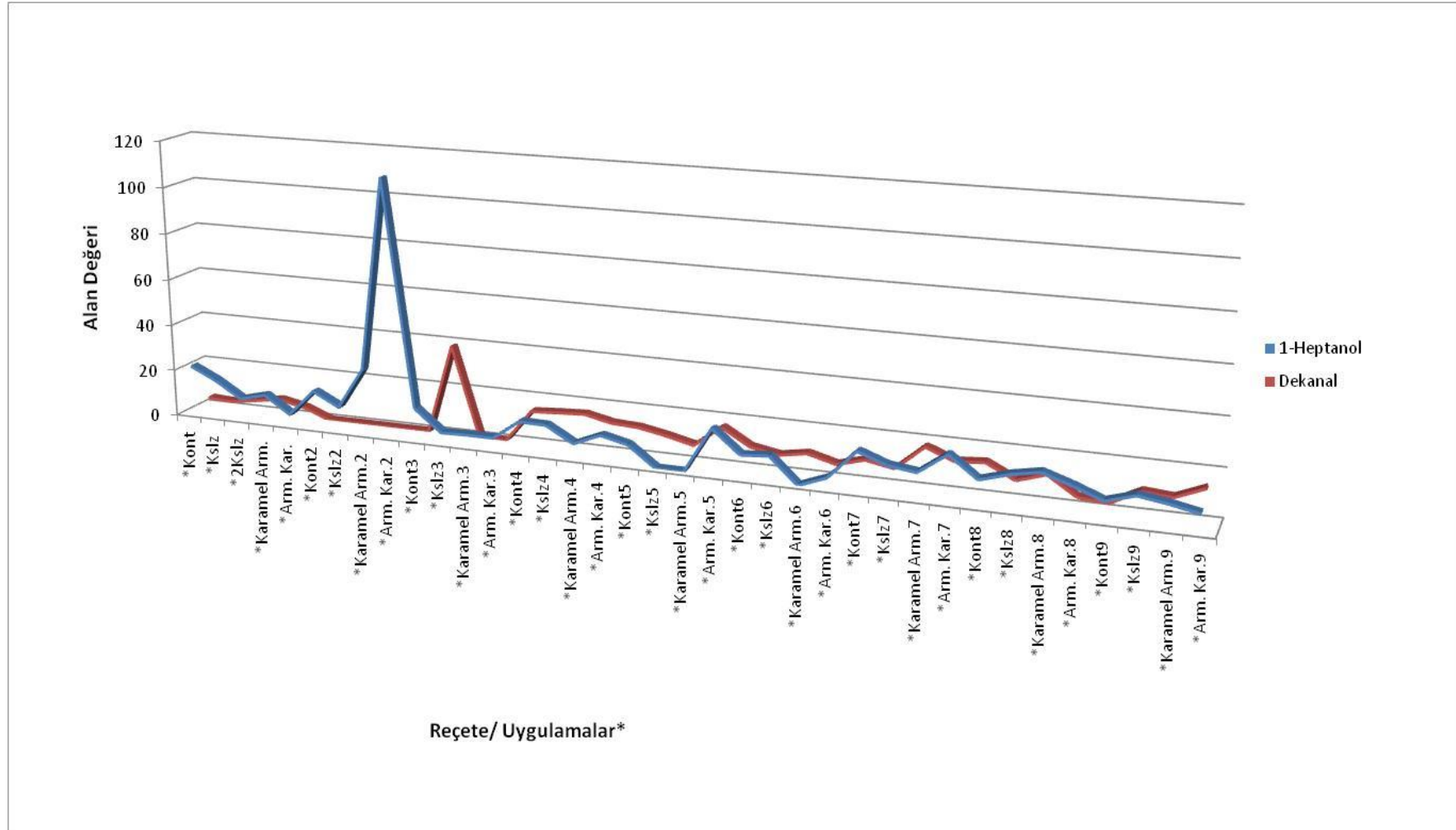
F9 faktör grubunun içerdiği aroma molekülleri 9 farklı reçete için uygulanan bisküvi örneklerinin analiz sonuçlarına göre değerlendirilmiştir. Bu gruba ait moleküllerin pik alan değerlerini gösteren grafik Şekil 4.9.'da yer almaktadır.

F9 faktör grubuna ait aroma molekülü 1-heptanol, dekanal değişkenleri yağ asidi oksidasyonu sonucu oluşur ve varyansın %3,50'ini açıklamaktadır. Bu gruba ait moleküllerin pik alan değerlerini gösteren grafik Şekil 4.9.'da görülmektedir.

Tüm reçeteler arasında en yüksek 1-heptanol alan değeri şekeri %50 azaltılmış bisküvi reçetesine ait örneklerde belirlenirken, dekanal için en yüksek alan değeri şekeri %100 azaltılmış bisküvi reçetesine ait örneklerde tespit edilmiştir.



Şekil 4.8. F8 faktör grubuna ait aroma molekülleri alan değerlerinin farklı reçete ve uygulamalara göre dağılımı (Kont: Kontrol, Kslz: Ksiloz uygulaması, 2Kslz: 2 kat ksiloz uygulaması, Karamel Arm: Yalnız karamel uygulaması, Arm. Kar: Aroma karışımı uygulaması)



Şekil 4.9. F9 faktör grubuna ait aroma molekülleri alan değerlerinin farklı reçete ve uygulamalara göre dağılımı (Kont: Kontrol, Kslz: Ksiloz uygulaması, 2Kslz: 2 kat ksiloz uygulaması, Karamel Arm: Yalnız karamel uygulaması, Arm. Kar: Aroma karışımı uygulaması)

Aroma Analiz Sonu ları ile ilgili Tartışma

Maillard reaksiyonu ile aroma oluşumu 3 aşamada gerçekleşir. İlk aşamada; glikozaminler ve sonrasındaki yeniden düzenlemelerini kapsar. Bunu ikinci aşamada furan türevlerinin, indirgenlerin ve diğer karbonil bileşiklerinin dehidrasyonu izler. Son aşama ise, furan ve karbonil ara ürünlerinin, amino bileşikleri ve amino asit degradasyon ürünleri ile reaksiyona girerek aroma bileşiklerine dönüşümüdür. Maillard reaksiyonu sonucu oluşan aroma maddelerinin sınıflandırılması aşağıdaki şekildedir (Mottram 1994).

1. Basit şeker dehidrasyonu ve parçalanma ürünleri: Reaksiyonun erken aşamalarında glikozaminlerin yıkılması ile elde edilen bileşiklerdir ve şekerin karamelizasyonunda yer alan birçok aroma bileşimini içerir. Bunlar; furanlar, piroller, siklopentenler, karbonil bileşikleri ve asitlerdir.
2. Basit amino asit degradasyon ürünleri: Amino asitler ve dikarbonil grupları arasında oluşan Strecker degradasyon ürünleridir. Bunlar; aldehidler, sülfür bileşikleri (hidrojen sülfid, metanetiol gibi) ve nitrojen bileşikleridir (amonyak ve aminler gibi).
3. Maillard reaksiyonun bir sonraki aşamalarında ileri reaksiyon ürünleri ve bu ürünlerin diğer reaktif bileşiklerle interaksiyonu sonucu oluşan ürünleri meydana gelir. Bunlar; furfural, furanon ve dikarbonillerin diğer reaktif bileşikler aminler, amino asitler, hidrojen sülfid, tioller, amonyak, asetaldehid ve diğer aldehidlerle interaksiyonu sonucu oluşan ürünlerdir ve piroller, piridinler, pirazinler, imidazoller, oksazoller, tiazoller, tiofenler gibi birçok önemli aroma bileşiklerini kapsar (Mottram 1994).

Isıtılmış gıdalarda Maillard reaksiyonundan farklı olarak diğer önemli bir aroma oluşum reaksiyonu da lipidleri kapsamaktadır. Bu durum termal degradasyon ile büyük miktarda uçucu maddelerin özellikle aldehidler, alkoller ve yağ asitlerinin alkil zincirinin oksidasyonu ile oluşan ketonların oluşmasını sağlar. Bu tip bileşikler reaktiftirler ve ısıtılmış gıdalarda ileri reaksiyona katılarak Maillard reaksiyonu ara ürünleri ile interaksiyona girebilirler (Mottram 1994).

Bu çalışmada tespit edilen önemli aroma sınıfları; pirazinler, Strecker aldehidleri, furanlar ve lipid degradasyon ürünlerine ait aroma molekülleri, farklı bisküvi reçeteleri ve uygulamalarındaki analiz sonuçlarına göre değerlendirilmiştir. Sonuçlar değerlendirilirken çalışmanın konusu olan ksiloz uygulaması ve aynı miktarda ksiloz içeren aroma karışımı

uygulanmasına ait örnekler ağırlıkla dikkate alınmıştır. Tüm reçeteler standart bisküvi reçetesine ait sonuçlara göre değerlendirme yapılırken, aynı reçete içindeki uygulamalarda ise kontrol uygulamaları sanaliz sonuçlarına göre değerlendirme yapılmıştır.

Pirazinler; amino asitler ve indirgen şekerler arasında meydana gelen Maillard reaksiyonu sonucu oluşan önemli aroma bileşiklerindedir ve birçok farklı gıdada arzu edilen hoş aroma oluşumuna katkıda bulunurlar. Süre, reaksiyon sıcaklığı, pH, reaktant konsantrasyonu ve su aktivitesi bu reaksiyon sonucu oluşan ürünlerin doğası ve miktarı üzerine önemli etkisi olan değişkenler olduğu belirtilmiştir (Mottram 1994).

Alkil ve alkenil pirazinler yüksek sıcaklık prosesinde hazırlanan ısıtılmış gıdalarda genellikle kavrulmuş aroma notlarına eşlik etmektedirler. 100°C'nin altında neredeyse oluşmazlar ve konsantrasyonları artan sıcaklık ve ısıtma süresi ile artmakta, ısıl degradasyona karşı stabiliteleri yükselmektedir (Cerny 2010).

Dokuz (9) bisküvi reçetesinin her birinde 4 farklı uygulamaya ait bisküvi örneklerinin analiz sonuçları değerlendirilirken tüm örneklerde en büyük alan değeri metilpirazinde belirlenmiştir. Metilpirazin'in alan değeri tüm reçetelerde ksiloz ilavesiyle artmış, 2 kat ksiloz ilavesiyle alan değeri 285'den 505'e ulaşarak iki katına çıkmıştır. Aroma karışımı uygulamaları standart reçete, şekeri %50 azaltılmış ve BYT (Bütün Yumurta Tozu) içeren bisküvi reçetelerinde ksiloz uygulamasından daha fazla metilpirazin oluşumuna neden olmuştur.

Tüm reçeteler arasında en yüksek metilpirazin oluşumu BYT içeren bisküvi örneklerinde belirlenirken en az metilpirazin oluşumu lisin ve asparajinaz enzimi içeren reçetede belirlenmiştir.

Pirazin aroma molekülü oluşumu, lisin ve asparajinaz enzimi içeren reçeteler dışındaki tüm reçetelerde metilpirazin ile paralel sonuçlar göstermiş ancak tüm reçetelerde metilpirazin, pirazinden daha yüksek belirlenmiştir. Metilpirazin daha çok kavrulmuş, fındıksı tatların oluşmasına etki etmektedir. Çizelge 4.10'da bu çalışmada belirlenen pirazinlerin organoleptik özellikleri verilmiştir.

Çizelge 4.10. Çalışmada belirlenen bazı pirazinlere ait organoleptik özellikler (Anonim 2011)

Aroma Molekülleri	Organoleptik özelliği	Koku Eşik değeri (ppb)
Pirazin	acımsı mısır, keskin, güçlü, tatlı	175000
Metilpirazin	kavrulmuş, fındıksı	60000
2,5/2,6-Dimetilpirazin	mısır tanesi, ot, kızarmış patates, fındıksı, kavrulmuş, tatlı	800-200
2-Etilpirazin	terayağı, yanık	6000
2-Etil-5-Metilpirazin	ot, fındıksı, kavrulmuş	100
Trimetilpirazin	ekmek, yanık, yeşil malt, küflü	-
2,5-Dietilpirazin	kavrulmuş fındık	6

Gıdaların ısıtılması sonucu büyük miktarda pirazin oluşur. Sadece C, H ve N atomlarını içeren yetmiş bileşen tek başına alkil pirazin gruplarında bulunur. Kahve, ekmek kabuğu, kızarmış et ve kakao likörü gibi ürünlerin seyreltilmiş analizlerinde sadece trimetilpirazin; 2-etil-3,5-dimetilpirazin; 2-etenil-3,5-dimetilpirazin; 2-etil,3,6-dimetilpirazin; 2,3-dietil-5-metilpirazin; 2-etenil-3-etil-5-metilpirazin belirlenmiştir (Belitz ve ark. 2004).

Bu çalışmada ksiloz uygulanmış örneklerde ksiloz miktarının iki katına çıkması tüm pirazinlerin alan değerini arttırmıştır. Ksilozun Maillard reaksiyonuna ve olayısıyla en önemli Maillard reaksiyonu ürünlerinden olan pirazinlerin oluşumuna etkisi, yapılan analizlerde 2,5/2,6-dimetilpirazin, metilpirazin ve pirazin alan değerlerinin iki katına çıkmasıyla açıkça belirlenmiştir.

2,5/2,6-dimetil pirazin, metilpirazin ve pirazin; kontrol uygulamasına ait örneklerde reçeteler arasında karşılaştırıldığında şekerin %50 ve %100 azaltılmasıyla alan değerlerinde azalma belirlenirken, ksiloz uygulaması şekeri %50 ve %100 azaltılmış örneklerde 2,5/2,6-dimetil pirazin, metilpirazin ve pirazin oluşumunu arttırmıştır. Burada şeker azaltılması ile azalan bu pirazinlerin ksiloz ilavesi ile arttırıldığı, ksilozun Maillard reaksiyonunda 2,5/2,6-dimetilpirazin, metilpirazin ve pirazin oluşumunda daha fazla etkili olduğunu göstermektedir.

Bu aroma moleküllerine ait alan değerleri, yağı %50 azaltılmış bisküvi örneklerindeki ksiloz uygulamasında da kontrol uygulamasına ait örneklerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Yağı %50 azaltılmış bisküvi reçetesinde kullanılan Nutriose mısır ve buğdaydan elde edilen dekstroz ve yüksek lif kaşımı, yağ ikame edici bir ingrediendir. Dolayısıyla yağı %50 azaltılmış bisküvi örneklerindeki 2,5/2,6-dimetil pirazin, metilpirazin ve pirazin artışı, ilave edilen dekstroz içeriğinden kaynaklandığı sonucuna varılabilir.

2,5-dimetilpirazin ağırlıkla yer fıstıklarında bulunan ve yerfıstığı aromasının kavrulmuş, yanık tadını oluşturan pirazinlerdir (Ehling ve Shibamoto 2005).

Ksiloz uygulamaları arasında farklı protein kaynağı olarak BYT ve PST kullanılması; 2,5/2,6-dimetilpirazin, 2,5-dietilpirazin, 2-etilpirazin, 2-etil3,5-dimetilpirazin, 2-etil-5-metilpirazin, trimetilpirazin, metilpirazin ve pirazin alan değerlerini arttırdığı tespit edilmiştir. Sadece karamel aromasının uygulandığı örnekler arasında PST içeren örneklerin pirazin alan değerleri kontrol örneklerinden daha düşükken, aroma karışımı uygulanmış BYT ve PST içeren örnekler ksiloz ile benzer sonuçlar göstermiş, ancak pirazin oluşumları ksiloz örneklerinden daha yüksek değerde bulunmuştur.

Lisin ve glisin içeren örneklerde; kontrol, karamel aroması, ksiloz ve aroma karışımı uygulamalarının tümü sırasıyla pirazin grubuna ait aroma moleküllerinin oluşumlarını attırmıştır. Reçetelerde lisin ve glisin kullanılması metilpirazin oluşumunu tüm uygulamalarda standart bisküvi reçetesine göre düşürmüştür. Asparajinaz enzimi ilave edilmesi de, yine tüm uygulamalarda pirazin grubuna ait aroma molekülü oluşumunu kontrol ve standart bisküvi örneklerine göre düşürmüştür.

Bu çalışmada hazırlanan 9 reçete ve her birinde yapılan 4 uygulamaya ait bisküvi örnekleri arasında pirazinlerin en yüksek oluşumu ksiloz uygulamalarında belirlenmiş, bunu aroma karışımı, karamel aroması ve kontrol uygulamaları izlemiştir. Reçeteler arasında pirazinlerin en yüksek oluşumu protein kaynakları içinde BYT kullanılmış reçeteye ait örneklerde belirlenmiştir. Bu durum, Hwang ve ark. (1995)'nin yaptığı çalışmada, lisin diğer aminoasitlerle birlikte kullanıldığında (glisin) pirazin oluşumunda sinerjistik etkisi olduğu şeklinde açıklanmıştır. Amino asit içeren reçeteler karşılaştırıldığında, pirazinler glisin içeren reçetede, lisin içeren reçeteden daha yüksek oranda belirlenmiştir.

Amrani-Hemaimi ve ark. (1995)'nin Maillard reaksiyonunda alkilpirazinlerin oluşumunu inceledikleri çalışmada ise kullanılan şeker kaynağının pirazin oluşumu üzerinde etkisi olmazken, çalışmada kullanılan amino asit kaynaklarının, pirazinlerin oluşma sayısında önemli etkisi olduğunu belirtmişlerdir. Yapılan bu çalışmada 2-metil-6-vinil pirazin, 2-etil-3,5-dimetilpirazin ve 2,5-dietil pirazin süt tozu, PST ve BYT kullanılan reçetelerde belirlenememişken, glisin ve lisin kullanılan reçetelerde tespit edilmiştir.

Hwang ve ark. (1995)'nin birden fazla amino asidin kullanıldığı reaksiyon ortamında aroma maddeleri oluşumdaki etkilerini ve bu amino asitlerin reaksiyon içindeki rekabetlerini inceledikleri çalışmada, ¹⁵N izotopu işaretlenmiş glisin referans olarak kabul edilerek glutamin, glutamik asit, asparajin, aspartik asit, lisin, arginin, fenilalanin veya izolösin ilave edilmiştir. Glisin, glutamin ve glutamik asit varlığının pirazin oluşumuna katkısı en az olan aminoasitler olarak belirlenirken asparajin'in çalışmada kullanılan tüm amino asitler (glutamin, glutamik asit, asparajin, aspartik asit, lisin, arginin, fenilalanin ve izolosin) arasında pirazin oluşumuna en fazla katkı yapan olan amino asit olarak belirlenmiştir.

Hwang ve ark. (1995) yaptıkları bir çalışmada sadece glisin içeren reaksiyon karışımlarını, glisin ile birlikte kullanılan diğer aminoasitlerin olduğu reaksiyon karışımları ile karşılaştırılmıştır. Glisin ve lisin içeren reaksiyon karışımında en yüksek pirazin oluşumu belirlenirken, en düşük pirazin oluşumu arginin glisin reaksiyon karışımında belirlenmiştir. Diğer yandan lisin ise Maillard reaksiyonunda en aktif amino asit olarak bilinmektedir. Lisinin güçlü nükleofil özellikle iyonize olmamış amino grubu hızla şekerin parçalanmasını katalize eder ve Strecker degradasyonuna da katılır. Lisin diğer aminoasitlerle birlikte kullanıldığında (bu çalışmada glisin) pirazin oluşumunda sinerjistik etkisi olduğu tespit edilmiştir. Arginin ise inhibitör benzeri etkisiyle diğer amino asitlerin pirazin oluşumuna etkisini baskılamıştır. Genel olarak pirazin çeşitliliği ve miktarı reaktivite ve kullanılan amino asit tipine bağlı olduğu belirlenmiştir.

Asparajin ve glutamin içeren reaksiyon karışımlarında pirazin oluşumu beklenen düzeyde olmamıştır. Asparajin reaksiyon sisteminde glutamin reaksiyon sisteminden daha fazla miktarda pirazin oluşumu tespit edilmiştir. Bu da asparajinin glutaminden daha hızlı deaminasyona uğradığı ile açıklanmıştır. Fenilalanin içeren reaksiyon karışımındaki pirazin oluşumu en yüksek ikinci olarak belirlenmiştir. Bu da buğday ununda toplam amino asit içeriği düşük olmasına rağmen fenilalaninin öncüsü olduğu, fenilasetaldehidin fırın

ekmeklerinde neden önemli bir aroma bileşeni olduğunu açıklamaktadır (Hwang ve ark. 1995).

Pirazinler alkilpirazinler, bisiklik pirazinler ve asetilpirazinler olmak üzere üç grupta toplanırken alkil pirazinlerin ısıtılmış gıdalarda aroma oluşumuna büyük etkisi olduğu bilinmektedir. Hwang ve ark. (1995) yaptıkları çalışmada 28 alkil pirazin tespit edilmiştir. Genel olarak mono-ikameli pirazinler ve yer değiştirmiş metilpirazinler fındıksı ve/veya kavrulmuş tatlara sahipken, alkil-ikameli pirazinler yağlı veya balmumu tatlarına eşlik etmektedirler. Ancak tümü yeşil koku verme eğilimindedirler. Trimetil pirazin ise doğasına çok yakın kavrulmuş karakterden fındıksı ve çikolata tatlarını vermektedir (Belitz ve ark. 2004).

Alkil yan zincirleri olan pirazinler fındıksı, kavrulmuş, toprağımsı ve yeşil aroma tatlarına sahiptir. Asetilpirazin ise patlamış mısır ve fındıksı tatlara sahiptir. Pirazinler kabuklu yemişlerin ana aroma maddelerindedir ve özellikle yüksek sıcaklıkta ısıl işlem gören kahve, çikolata, tahıllar ve ette aroma oluşumunda önemli rol oynarlar. Pirazinler ayrıca patates aroması oluşumuna da önemli ölçüde katkı sağlarlar. Mono, di, tri ve tetra etil pirazinlerin koku eşik değeri oldukça yüksektir (>1 ppm) ve bu nedenle bu pirazinlerin gıda aromalarında oldukça düşük etkileri vardır. Ancak bazı durumlarda 1 veya daha fazla etil grubunun metil grubu ile yer değiştirmesi ile oluşan bazı etilenmiş pirazinler pişmiş gıdalarda önemli ölçüde kavruk tada etki eden düşük eşik değerli pirazinlerdir. Pirazinlerin gıdalarda ve model sistemlerde ısıl işlem sırasındaki oluşumu, Amadori reaksiyonu veya Strecker degradesyonu sonucu ortaya çıkan iki -amino karbonil bileşiğinin reaksiyonu sonucu oluşmaktadır. Eğer iki -amino karbonil diasetilden geliyorsa oluşan ana ürün pirazindir. Eğer -amino karbonil'in biri diasetilden diğeri 2,3-pentadione'dan geliyorsa oluşan ürün metilpirazindir. Eğer her iki -amino asit pentadion'dan geliyorsa oluşan ürün dimetil pirazindir (Mottram 1994, Scarpello ve Soukup 1993).

Bu çalışmada belirlenen bazı pirazinlerin eşlik ettikleri tat profilleri literatürde şu şekilde belirtilmiştir; 2,5/2,6-dimetilpirazin tatlı, fındıksı/ kabuklu yemiş tadında, trimetil pirazin kavrulmuş tat, 2-etil-3,5-dimetil pirazin kavrulmuş, toprağımsı tat profillerini oluşturur (Wagner ve ark. 1999). Trimetil pirazin özellikle çikolata ve kabuklu yemiş aromalarında doğala çok yakın aroma profili elde edilmesini sağlar. 2-etil-3,5-dimetil pirazin ise kahvede ağırlıklı belirlenen pirazinler arasındadır (Taylor ve Linforth 2010).

Ehling ve Shibamoto (2005) pirazinler ve akrilamid oluşumu arasındaki olabilecek ilişkiyi araştırdıkları çalışmada pirazin, 2-metil pirazin, 2,5-dimetilpirazin, 2,6-dimetilpirazin, 2,3-dimetilpirazin, 2-etil-5-metilpirazin, 2-etil-6-metilpirazin ve trimetilpirazin belirlemişlerdir. Artan sıcaklık ve ısıtma süresi ile birlikte pirazin oluşumu da artmıştır.

Strecker degradasyonu Maillard reaksiyonu ile yakından ilgili önemli reaksiyonlardan biridir. Çünkü Maillard reaksiyonu sonucu oluşan büyük miktarda α -dikarbonil bileşikleri Strecker degradasyonuna girerler. Dikarbonil bileşiklerin varlığında -amino asitlerin dekarboksilasyonu ve oksidatif deaminasyonunu kapsar. Bu da orijinal amino asitlerin daha az C atomu içeren aldehid (Strecker aldehidleri) ve bir -amino keton oluşumuna öncülük eder. Strecker aldehidleri genellikle güçlü aroma maddeleridir, ayrıca Maillard reaksiyonu boyunca ileri reaksiyonlarda dikarbonilleri hidrosidikarbonillere indirgeme veya -aminokarbonil bileşikleri oluşturarak, pirazinler, oksazoller ve tiazoller gibi bazı önemli heterosiklik bileşiklerin oluşmasında rol oynarlar (Mottram 1994, Weenen ve Rooij 1998, Weenen ve Van Der Ven 2001, Taylor ve Linfoth 2010, Cerny 2010).

Strecker degradasyonu ayrıca fermente gıdalarda olduğu gibi mikrobiyal yolla oluşan α -dikarboniller veya yağ oksidasyon ürünleri ile birlikte ilgili Strecker aldehidlerini oluşturabilir (Cerny 2010).

- dikarbonil türlerinin ilave edilmesi amino asit degradasyon oranını güçlü bir şekilde artırırken, Strecker degradasyonunun net belirtisi olan CO₂ üretilir. Yüksek sıcaklıklarda (180-200°C) amino asitler diğer yollarla veya ileri aşamalarda degrade olabilirler (Weenen ve Rooij 1998).

Çizelge 4.11.'de amino asitler Strecker degradasyonu sonucu oluşan aldehidler ve eşlik etkileri organoleptik özellikleri (tat profilleri) belirtilmiştir.

Çizelge 4.11. Strecker degradasyonu ile amino asitlerden ortaya çıkan aldehidler (Weenen ve Rooij 1998, Weenen ve Van Der Ven 2001, Cerny 2010).

Amino asit	Aldehid	Organoleptik özellikleri	Koku eşik değerleri µg/L
Alanin	Asetaldehid	Keskin, meyvemsi	25
Valin	İzobutanal	Keskin, meyvemsi, çikolata	0,49
Lösin	3-metilbutanal	Meyvemsi, şeftali, kakao, malt	1,5
İsolösin	2-metilbutanal	Kakao, taze, meyvemsi	0,50
Fenilalanin	Fenilasetaldehid	Balımsı, tath, çiçeğimsi	0,43
Metiyonin	Metiyonal	Pişmiş patates	4

Bu çalışmada belirlenen Strecker aldehidleri 2-metil butanal, izobutanal, 3-metil butanal ve asetaldehidir. Bu aldehidlerin oluşumu reçetelerde kullanılan ağırlıkla un, süt tozu, BYT, PST’da bulunan amino asitlerin Strecker degradasyonu sonucu oluşmuştur.

Dokuz (9) reçeteye ait kontrol uygulamaları karşılaştırıldığında bu çalışmada belirlenen Strecker aldehidleri alan değerleri şekeri %50 azaltılmış reçeteye ait örneklerde ve BYT kullanılmış örneklerde artış belirlenmiştir. Şekerin %100 azaltıldığı ve yağın %50 azaltıldığı reçeteye ait örneklerde Strecker aldehidleri alan değerlerinin standart reçeteye yakın değerler olduğu saptanmıştır. PST kullanımı Strecker degradasyonu sonucu oluşan aldehidlerin belirlenen alan değerini azaltmıştır. Bu çalışmada kullanılan farklı protein kaynaklarına ait amino asit bileşimleri Çizelge 4.12.’da belirtilmiştir. Çizelgede belirtilen amino asit içerikleri, çalışmada belirlenen Strecker aldehidlerinin kaynağı olan alanin, izolösin, lösin ve valin içeriklerinin sırasıyla en yüksek BYT, yağsız süt tozu ve PST’unda olduğunu belirtmektedir. Bu da çalışmamızda belirlenen Strecker aldehidlerinin oluşum oranlarını desteklemektedir.

Glisin ve lizin kullanılan reçetelere ait kontrol örneklerindeki Strecker aldehidlerine ait alan değerlerinin, standart reçetenin kontrol örneklerinden çok düşük olduğu tespit edilmiştir. Bunun nedeni de bu reçetelerde süt tozu yerine glisin ve lizin kullanılmasıdır. Belirlenen çok az miktardaki Strecker aldehidlerinin oluşumu kullanılan buğday ununun yapısındaki amino asitlerin Strecker degradasyonundan ileri gelmektedir.

Asparajinaz enziminin kullanıldığı reçeteye ait kontrol uygulaması örneklerinde standart reçeteden daha az Strecker aldehidleri belirlenmiştir. İsobutanal, lizin ve asparajinaz enziminin kullanıldığı kontrol uygulamalarında belirlenmemiştir.

Çizelge 4.12. Protein kaynaklarına ait amino asit bileşimi (mg AA/ 100 g protein) (Souci ve ark. 2008)

Amino Asit	Yağsız Süt tozu	Bütün Yumurta Tozu (BYT)	Peynir Altı Suyu Tozu (PST)
Alanine	1250	3210	610
Arginin	1280	3130	390
Aspartik asit	2740	5290	1490
Sistein	310	1080	170
Glutamik Asit	7570	6390	2400
Glisin	770	1890	290
Histidin	920	1190	290
Izolösin	2240	3220	850
Lösin	3430	4500	1400
Lizin	2720	3250	1150
Metionin	860	1640	230
Fenilalanin	1700	2790	490
Prolin	3500	2090	430
Serin	1970	4080	640
Treonin	1610	2630	1020
Triptofan	490	810	250
Tirosin	1780	2080	470
Valin	2400	3900	910

Standart reçetede ksiloz miktarının iki katına çıkarıldığı uygulamada Strecker aldehidlerine ait alan değerleri de iki katına çıkmıştır. Bu da Strecker aldehidlerinin artan Maillard reaksiyonu ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Ayrıca tüm ksiloz uygulamalarında belirlenen Strecker aldehidlerine ait alan değerleri kontrol uygulamalarında belirlenen alan değerlerinden çok daha yüksektir. Maillard reaksiyonunda diğer şekerlerden çok daha aktif olan ksiloz artan Maillard reaksiyonu ile birlikte Strecker degradasyonunu ve dolayısıyla ilgili amino asitlerden meydana gelen Strecker aldehidlerini arttırmıştır. Ksiloz uygulamaları reçeteler arasında

karşılaştırıldığı zaman Strecker aldehidlerinin en yüksek oluşumu, yağı %50 azaltılmış bisküvi reçetelerinde belirlenmiştir. Yağı %50 azaltılmış reçetede 2-metilbutanal ve 3-metilbutanal alan değerleri standart reçetenin 2 katına çıkarken, asetaldehid alan değeri 6 katına ve izobutanal alan değeri 3 katına çıkmıştır.

Ksiloz uygulanmış örneklerde şekerin %50 azaltılması da, Strecker aldehidleri oluşumunu standart reçete uygulamalarına göre arttırmıştır. Ksiloz uygulanmış bisküvilere ait reçeteler karşılaştırıldığında en yüksek Strecker aldehidi alan değerleri yağı %50 azaltılmış reçetede belirlenirken, bunu sırasıyla şekeri %50 azaltılmış reçete, BYT kullanılmış reçete, şekeri %100 azaltılmış reçete ve PST kullanılmış reçete izlemiştir. Ksiloz uygulamalarında da farklı protein kaynaklarının kullanıldığı reçetelerden 2-metilbutanal ve 3-metilbutanal en yüksek oluşumu sırasıyla BYT, süt tozu ve PST'nda belirlenirken, asetaldehid için sırasıyla PST, BYT ve süt tozunda, izobutanal için ise sırasıyla PST, süt tozu ve BYT'de belirlenmiştir. Sonuçlara göre, ksiloz uygulamasının Strecker aldehidleri oluşumu üzerine etkisi olduğu söylenebilir.

Ksiloz uygulanmış glisin, lisin ve asparajinaz enzimi içeren bisküvi reçetesinde Strecker aldehidleri için belirlenen alan değerleri, standart bisküvi reçetesinden düşük ancak kontrol uygulamalarına ait değerlerden yüksek belirlenmiştir.

Aroma karışımı uygulamasına ait örneklerde Strecker aldehidleri için belirlenen alan değerleri Ksiloz uygulamasına ait alan değerlerinden daha düşüktür. Aroma karışımı uygulamaları reçeteler arasında karşılaştırıldığında 2-metilbutanal, 3-metilbutanal ve izobutanal için en yüksek alan değerleri sırasıyla BYT kullanılmış reçete, standart reçete, şekeri %50 azaltılmış reçetede tespit edilmiştir. Asetaldehid alan değerleri ise en yüksek olarak BYT, yağı %50 azaltılmış ve PST'da belirlenmiştir. 2-metilbutanal ve 3-metilbutanal; glisin, lisin ve asparajinaz enzimi içeren reçetelerde standart reçeteden düşük alan değerlerinde olduğu saptanmıştır. İzobutanal, bu üç reçeteye ait ksilozun uygulamalarında ve glisin içeren bisküvi reçetesine ait hiçbir uygulamada tespit edilmemiştir.

Karamel aroması uygulamalarında belirlenen Strecker aldehidleri alan değerleri tüm örneklerde diğer uygulamalar arasında belirlenen en düşük alan değerleridir. Karamel aroması uygulamalarında tüm reçetelerde Strecker aldehidleri oluşumunun azalması, aroma karışımına ait alan değerlerinin ksiloz aroması uygulamasının alan değerlerinden daha düşük olduğunu

da açıklamaktadır. Bu durumda karamel aromasının Strecker aldehidleri oluşumunu baskılayıcı özelliği olduğu ileri sürülebilir.

Strecker degradasyonunun son ürünü, CO₂, bir amin ve amino ve karboksil grubu çıkarılmış bir aminoasidin ilgili aldehididir. Bu aldehidler ısıtılmış gıdaların aromalarında oldukça önemlidirler. Bunun nedeni de öncelikle bu uçucu maddelerin Maillard reaksiyonu sonucu bol miktarda üretilmeleridir. Strecker aldehidleri ısıtılmış gıdalarda yüksek miktarda bulunduğu için kolayca belirlenebilir ve genellikle çok güçlü aroma maddeleridir. Bu nedenle de Maillard reaksiyonunun göstergesi olarak kabul edilirler. Strecker aldehidleri ayrıca serbest radikal mekanizması sonucu da oluşabilirler. Amino asitlerin hidrojen peroksit veya lipid peroksit ile oksidasyonu sonucunda CO₂, amonyak ve ilgili Strecker aldehidleri meydana gelir. Oksidasyon sonucu oluşan Strecker aldehidleri oluşumu geçerli olsa da, Maillard reaksiyonu yoluyla oluşan Strecker aldehidleri oluşumu daha çoğunluktadır (Reineccius 2006, Taylor ve Linforth 2010, Weenen ve Rooij 1998).

Sisteinin Strecker degradasyonu sonucu istenen Strecker aldehidleri merkaptaldehyd ve aminoketonun yanı sıra, hidrojen sülfid, amonyak ve asetaldehyd de oluşur. Amonyak oluşturabilen aldehidler Strecker degradasyonun yanı sıra bir mekanizma ile pirazinleri de oluşturabilirler (Mottram 1994).

Pirolin ve hidroksi prolin diğer amino asitlerden farklı olarak pirolidin zincirinde iki amino grubu içerirler. Bu nedenle bunlar dikarbonil ile reaksiyona girerek aminoketonları ve Strecker aldehidlerini oluşturmazlar. Ancak 1-prolin, prolidin, 1-asetonil-2-pronil ve 2-asetiltetrahidropiridin içeren nitrojen heterosiklikleri üretilir (Mottram 1994).

Maillard reaksiyonu yolu ile üretilen pirazinler ve Strecker aldehidlerine ait analiz sonuçlarının birbirine paralel olması ve Maillard reaksiyonunda son derece aktif olan ksilozun bu aroma moleküllerinin oluşumu üzerine olumlu etkisi, yapılan bu çalışmada ksilozun unlu mamullerde Maillard reaksiyonu yolu ile aroma oluşumuna olumlu etkisi olduğunu göstermektedir. İstatistik değerlendirmeler için yapılan faktör analizinde Strecker aldehidleri ve pirazinleri içeren faktör grubu (F1 ve F2) birlikte varyansın %35,56'sını açıklamaktadır.

Isıtılmış gıdalarda Maillard reaksiyonunun yanı sıra, lipidleri kapsayan diğer önemli bir aroma oluşum reaksiyonu mevcuttur. Bu durum termal degradasyon ile büyük miktarda

uçucu maddelerin, özellikle aldehidler, alkoller, furanlar ve yağ asitlerinin alkil zincirinin oksidasyonu ile meydana gelen ketonların oluşmasını sağlar (Ho ve Chen 1994).

Gıdalardaki ana lipidler trigliseridler, diğerleri ise serbest yağ asitleri, fosfolipidler, lipoproteinler ve vakslar olup hepsi oksidasyona uğrayabilir. Lipid oksidasyonu birkaç sınıfa ayrılabilir:

Lipid fotooksidasyonu; lipidlerin tek bir oksijen molekülü varlığında oksidasyonudur, bu oksijen türü ışımsal yayılım ile aktivasyona uğrama ile oluşur (Cerny 2010).

Enzimatik lipid oksidasyonu; birçok bitkide ve hayvansal dokularda bulunan lipoksigenaz etkisi ile katalize edilir. Linoleik ve linolenik asit gibi yağ asitlerinin oksijenlenmesini teşvik ederler. Oksidasyon sonucu oluşan hidropreoksidler daha sonra degrade olarak aroma-aktif aldehidleri oluştururlar. Örneğin salatalıklarda bulunan 2,6-nonedienal linoleik asidin enzimatik degradasyon ürünüdür. Salatalık kesildiğinde zedelenen dokularda enzim ve lipidler reaksiyona girerek karakteristik kokuyu oluştururlar (Cerny 2010).

Lipid otooksidasyonu; radikal mekanizma yolu vasıtasıyla oksijen ile reaksiyon sonucu oluşur. Düşük sıcaklıklarda da meydana gelebilir ancak yüksek sıcaklıkta hızlanır. Oluşan lipid oksidasyon ürünleri çeşitleri ve miktarı uygulanan sıcaklığa bağlıdır (Cerny 2010).

Genel olarak doymamış yağ asitleri sırasıyla yağ oksidasyonuna daha duyarlıdır: linolenik asit (18:3)>linoleik asit (18:2)>oleik asit (18:1)>stearik asit (18:0) (Cerny 2010).

Aldehid uçucu bileşenleri, alkoksi radikallerinin parçalanması sonucu oluşan en önemli aroma bileşenlerindedir. Aldehidler lipid moleküllerinin her iki radikal tarafının ayrılmasıyla oluşabilir. Ayrılma reaksiyonu ile oluşan ürünler yağ asitleri, oluşan hidroksiperoksit izomerleri ve dekompozisyon ürünlerinin stabilitesine bağlıdır. Sıcaklık, ısıtma süresi ve otooksidasyon derecesi değişkenleri termal oksidasyonu etkilemektedir (Ho ve Shahidi 2005).

Aldehidlerin aroma profili genellikle yeşilimsi, boyalı gibi, metalik, bakla tadında ve ransid olarak tarif edilir ve sıvı ve katı yağlarda istenmeyen aromalardan sorumlu oldukları belirtilmektedir. Hekzanal uzun süredir gıdalarda oksidatif bozulma belirtisi olarak kullanılmıştır. Bazı aldehidler, özellikle doymamış aldehidler çok güçlü aroma bileşenleridir

(Ho ve Shahidi 2005). Çizelge 4.13’de yağ asidioksidasyonu sonucu oluşan aldehidler ve karakteristik kokuları belirtilmiştir.

Çizelge 4.13. Bazı aldehidlerin duyuusal karakterleri (Ho ve Shahidi 2005, Anonim 2012).

Uçucu Aldehid	Karakteristik Kokusu	Koku Eşik Değeri (ppb)
Pentanal	Odunumsu, acı, sıvı yağ	12- 42
Hekzanal	Katı yağ, güçlü, sıvı yağ, çimen	4,5 - 5
Heptanal	Katı yağ, sıvı yağ, ağır, odunumsu, keskin, kabuklu yemiş	3
Oktanal	Katı yağ, keskin, narenciye	0,7
Nonanal	Katı yağ, balmumu, boyalı, narenciye	1
Dekanal	Keskin, tatlı, balmumu, boyalı	0,1- 2
Undekanal	Katı yağ, kuyruk yağı	5
2-Hekzanal	Tatlı, parfümlü, badem, meyvemsi, yeşil, yaprak	17
2-Heptanal	Okside, kuyruk yağı, acı	13
2-Oktenal	Kahverengi fasulye, otsu, baharatlı	3
2-Nonenal	Keskin, katı yağ, balmumu, kabuklu yemiş, ransid	0,08-0,1
2-Dekanal	Boyalı, balığımsı, katı yağ	0,3-0,4
2,4-Dekadienal	Güçlü, katı yağ, narenciye	0,07

Doymamış yağ asitlerinin otooksidasyon yolu ile hidroperoksitler oluşur ve çok kararsızdırlar, uçucu ve uçucu olmayan çok geniş sayıda aroma bileşiğine parçalanırlar. Doymamış yağ asitlerinin otooksidasyonu sonucu aldehidler, ketonlar, furanlar, alkoller ve alkan, alken, alkil gibi uçucu bileşikler meydana gelir (Ho ve Shahidi 2005).

Lipid oksidasyonuna etki eden faktörler sıcaklık, su aktivitesi, metal iyonları ve ışıktır. Birçok lipid oksidasyon reaksiyonları su aktivitesi düştükçe (a_w 0,2) artmaktadır. Ransidite özellikle kurutulmuş gıdalarda ana sorunlardandır. Sıcaklık arttıkça da oksidasyon oranı artar. Enzimler tarafından katalize edilen oksidasyon reaksiyonu en hızlı 30-45°C’de en yüksek oranına ulaşmıştır (Anonim 2010a, Reineccius 2006).

Aldehidler, alkoksi radikallerinin parçalanması sonucu oluşurlar ve aldehidler en önemli aroma bileşiklerindendir. Lipid moleküllerinin bölünme reaksiyonu sonucunda meydana gelen aldehidler, mevcut yağ asitleri, oluşan hidroksiperoksit izomerleri ve parçalanma ürünlerinin stabilitesine bağlıdır. Sıcaklık, ısıtma süresi, otooksidasyon süresi termal oksidasyona etki eden değişkenlerdir (Ho ve Shahidi 2005).

Bu çalışmada lipid oksidasyonu sonucu oluştuğu öngörülen önemli aldehidler, 2,4-dekadienal, hekzanal, heptanal, oktanal, pentanal, dekanal, 2-nonenal'dir.

Hekzanal gıdaların oksidasyonu sonucu oluşan aldehit grubundan uçucu bir bileşendir. Tüm lipidlerin yapısında bulunan linoleik asit otooksidasyona karşı çok hassas bir yapı gösterir ve çok güçlü uçucu yapıya sahip olan hekzanal oluşumuna öncülük eder. Bu özelliğinden dolayı hekzanal yapılan analizlerde kolayca tespit edilebilir ve gıdalarda lipid peroksidasyonu sonucu oluşan kötü tat ve kokuların karakterize edilmesinde indikatör olarak belirtilir. Hekzanal daha çok ot kokusunda yeşil ve acı kötü tatlar ile tanımlanır (Belitz ve ark. 2004, Ho ve Shahidi 2005, Reineccius 2006).

Hekzanal, heptanal, oktanal, nonanal ve 2-dekanal gibi doymuş ve doymamış yağ asitlerinin ısıtma işlem görmüş yağların olfaktometrik analizlerinde kendine özgü kötü kokuları belirlenir (Akoh ve Min 2002).

Hekzanal, linoleik veya diğer 6 yağ asitli (Omega-6 yağ asitli) yağları içeren gıdalarda oksidasyon sırasında meydana gelen en önemli ikincil ürünlerdendir ve lipid oksidasyonunun takibinde kullanılmaktadır (Akoh ve Min 2002).

Bu çalışmada tüm uygulamalarda en yüksek hekzanal alan değeri standart bisküvi reçetesinde belirlenmiştir. Şekeri %50 azaltılmış ve şekeri %100 azaltılmış bisküvi reçetesine ait örneklerde hekzanal'a ait alan değeri giderek azalmış ve yağı %50 azaltılmış reçetede hekzanal alan değeri standart reçeteye ait alan değerinin yarısına inmiştir. BYT, PST kullanılmış, glisin, lizin ve asparajinaz enzimi içeren reçetelerde tüm uygulamalarda hekzanal alan değeri standart reçeteden çok düşük ve birbirine çok yakın değerlerde belirlenmiştir. Bu reçetelere ait örneklerde hekzanal değerlerinde %73-86 oranında azalma belirlenmiştir. Bu durum, söz konusu ingrediyenlerin hekzanal oluşumunu sağlayan lipid peroksidasyonu azaltıcı etkisinden ileri geldiği söylenebilir.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda çavdar ekmeği kabuğu ekstraktında yer alan pronil-L-lisinin önemli ölçüde antioksidan özelliği olduğu belirlenmiştir. N-asetil-karboksimetil-L-lisin'nin Maillard reaksiyonu sonucu oluşan 2,4-dihidroksi-2,5-dimetil-1-(5-asetamino-5-metoksikarbonil-pentil)-3-okso-2H-pirol çok etkili bir antioksidan olarak belirlenmiştir (Hoffman ve Schieberle 2007).

2,4-dekadienal da hekzanal gibi linoleik asidin temel oksidasyon ürünlerindedir. Linoleik asitin otooksidasyonu sonucu 9 ve 13-hidroperoksitleri oluşur. 9-hidroperoksidin ayrılması 2,4-dekadienal oluşumuna, 13-hidroksiperoksidin ayrılması hekzanal oluşumuna neden olacaktır. Nem aracılığıyla 2,4-dekadienal sonradaki aşamada retro-aldol reaksiyonu ile 2-oktenal, hekzanal ve asetaldehidi oluşturacaktır. 2,4-dekadienal derin kızartılmış gıdaların aromasına katılan en önemli aroma bileşiklerinden birisidir. Bu aroma bileşiği linoleik asidin termal degradasyonu sonucu meydana geldiği için, kızartmalarda linoleik asit içeriği yüksek yağlar kullanımı daha iyi aroma elde edilmesine neden olacaktır. Ancak yağ, uzun süre ısıtılma maruz kalırsa bu uçucu bileşik kötü aromalar üretecektir (Belitz ve ark., 2004). 2,4-dekadienal ileri oksidasyona uğrayarak trans-epoksi-trans-dekanal meydana getirir. Bu bileşik de karanlıkta depolanmış soya fasulyesi yağının en güçlü koku maddelerinden biri olarak belirtilmektedir (Ho ve Shahidi 2005).

Bu çalışmada 2,4-dekadienal kontrol ve ksiloz uygulamalarında şekeri %50 ve %100 azaltılmış reçetelere ait örneklerde belirlenmemiştir. Kontrol uygulamasına ait örneklerde en yüksek 2,4-dekadienal alan değeri yağı %50 azaltılmış reçetelerde belirlenirken, en düşük alan değeri standart bisküvi reçetesinde saptanmış, bunu BYT içeren bisküvi örnekleri izlemiştir. PST, glisin, lisin ve asparajinaz enzimi kullanılmış kontrol uygulamalarındaki değerleri birbirine çok yakın ancak standart bisküvi örneklerinden 5-7 kat daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ksiloz uygulamalarında en yüksek alan değeri sırasıyla lisin, asparajinaz enzimi ve PST kullanılmış reçetelere ait örneklerde belirlenmiştir. Karamel aroması ve aroma karışımı uygulamaları 2,4-dekadienal alan değerleri için benzer sonuçlar göstermiş en yüksek alan değeri şekeri %100 azaltılmış reçetelerde saptanırken, bunu şekeri %50 azaltılmış bisküvi örnekleri izlemiştir. Karamel aroması ve aroma karışımının benzer sonuçlar göstermesi, 2,4-dekadienal oluşumu üzerine karamel aromasının etkisi olabileceğini göstermektedir.

2,4-dekadienal diğ er yağ asidi oksidasyon ürünlerinin aksine derin yağda kızartılmış gıdalarda karakteristik tadı oluşturan arzu edilen aromaya eşlik etmektedir.

Uçucu olan ikincil oksidasyon ürünleri, yağlar ve kızartılmış gıdaların koku ve tadına önemli katkıda bulunurlar. Eğer ikincil oksidasyon ürünleri, 2,4-dekadienal, 2,4-nonadienal, 2,4-oktadienal, 2-heptanal veya 2-oktenal gibi çoklu doymamış aldehyidler ise, kötü aromalar olarak değil, yağlarda karakteristik kızarmış aroma tadını oluşturan arzu edilen aroma molekülleridir. Ancak hekzanal, heptanal, oktanal, nonanal ve 2-dekanal gibi doymuş ve doymamış aldehyidler, ısıt iş lem görmüş yağlarda olfaktometri analizlerinde belirgin kötü kokulara sahip oldukları tespit edilmiştir. Yüksek oleik asit içeren ısıt iş lem görmüş yağlarda baskın olan meyvemsi ve plastik kokular, öncelikli olarak heptanal, oktanal, nonanal ve 2-dekanal ile ilişkilendirilir (Akoh ve Min 2002).

Bazı yağlar bu karakteristik derin kızarmış gıdalara özgü aromayı, kızartma yağının yağ asidi kompozisyonuna bağlı olarak diğ erlerinden daha ç abuk oluşturlar. Örneğ in Warner ve ark. (1997)'nin yaptıkları bir ç alışmada linoleik asit oranı (%50-55) yüksek pamuk ç ekirdeğ i yağında kızartılmış patates cipslerinin, düşük linoleik asit (%10) ve yüksek oleik asit (%80-90) içeren yağlardan çok daha güçlü kızarmış gıda aroması oluşturduğ u belirtilmiştir. Yağ asitleri yüksek sıcaklıklarda parçalandıkları için, uçucu degradasyon ürünleri karakteristik aroma oluş umunu sağlamaktadır. 2,4-dekadienal gibi bazı oksidasyon ürünleri tipik derin kızarmış yağların aromasının oluş masında önemlidir. Aroma, kızartmanın ilk aş amasında geliş irken son aş amalarına doç ru daha az kabul edilebilir hale gelmektedir (Akoh ve Min 2002).

Dekanal ve oktanal oleik asidin, hekzanal linoleik asit veya araş idonik asidin, 2,4-dekadienal ise yine linoleik veya araş idonik asidin otooksidasyonu sonucu elde edilmektedir (Ho ve Shahidi 2005).

Ş ekeri %50 ve %100 azaltılmış bisküvi reçetelerindeki hiçbir uygulamada dekanal belirlenememiş, sadece ksiloz uygulanmış ş ekeri %100 azaltılmış bisküvi örneklerinde belirlenmiştir. Dekanal özellikle okside olmuş narenciye kabuk yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu oluş maktadır (Reinnecius 2006).

Oktanal için, kontrol, aroma karışımı ve karamel aroması uygulamalarında en düşük alan değeri şekeri %100 azaltılmış bisküvi örneklerinde belirlenmiştir. Oktanal, keskin ve kartonumsu, yağlı tatlara eşlik etmektedir (Reinnecius 2006).

Linoleik asidin 14-hidroksiperoksidin ayrılması sonucu ise pentanal meydana gelir. Pentanal gıdalarda keskin ve acı tatlara eşlik eder (Belitz ve ark. 2004, Reinnecius 2006).

Lipidlerin otooksidasyonu sonucu üretilen alifatik ketonlar yağların ve gıdaların aromalarına katkıda bulunurlar. Guth ve Grosch (1990) yaptıkları çalışmada, geri dönüşümü yapılmış soya fasulyesi yağında aktif koku bileşiklerinden biri olan 1-okten-3-on varlığını belirlemişler ve bu bileşiği metalik, mantar benzeri tat olarak tanımlamışlardır. 1-okten-3-on oluşumu reaksiyon yolu linoleatın 10-hidrokdiperoksinin ayrılması üzerinden gerçekleşmektedir (Ho ve Shahidi 2005).

Bu çalışmada lipid oksidasyonu sonucu oluştuğu öngörülen önemli ketonlar; 2,3-oktadion, 2-heptanon ve oktanon'dur.

Bu aroma molekülleri arasında en yüksek alan değerleri 2-heptanon aroma molekülünde belirlenmiştir. 2-heptanon, doymuş açıl lipidlerin dekarboksilasyon reaksiyonunu takiben termal -oksidasyon sonucu oluşan metil keton sınıfından aroma bileşenidir (Belitz ve ark. 2004).

2-heptanon aynı zamanda denemelerde kullanılan karamel aromasının bileşenleri arasında da yer almaktadır. Tüm uygulamalar arasında en yüksek 2-heptanon alan değerleri karamel aroması uygulamasında belirlenmiş, bunu aroma karışımına ait uygulamalar izlemiştir. Farklı reçetelerdeki ksiloz uygulamalarında belirlenen tüm alan değerleri kontrol örneklerinden daha düşük veya aynı seviyede belirlenmiştir. Bu durumda ksiloz uygulamasının 2-heptanon oluşumunu olumsuz etkilediği görüşüne varılabilir.

Ksiloz uygulamalarında, tüm reçetelerde 2-heptanon oluşumunun kontrol örneklerinden az olduğu tespit edilmiştir. Tüm reçetelerde karamel aroması uygulamasında en yüksek 2-heptanon alan değeri saptanmıştır. Bu durum, karamel aromasının bileşiminde 2-heptanon varlığını kanıtlamaktadır. Aroma karışımını uygulamalarında tüm reçetelerde karamel

aromasından daha az 2-heptanon alan değerlerini tespit edilmesi, ksiloz varlığının 2-heptanon oluşumunu olumsuz etkilediğini göstermektedir.

Lipidlerin otooksidasyonu sonucu oluşan diğer aroma bileşikleri de furanlardır. Birçok katı ve sıvı yağda 2-pentilfuran belirlenmiştir. Linoleatın çok iyi bilinen otooksidasyon ürünlerinden biridir ve soya fasulyesi yağının geri dönüşümünden sorumlu bileşiklerden biri olduğu belirtilmektedir (Ho ve Shahidi 2005).

Bu çalışmada ise lipid oksidasyon ürünü olarak belirlenen furanlar; 2-pentilfuran ve 2-butilfuran'dır.

Lipid hidroperoksitlerinin bölünmesi ayrıca alkoller, alkanlar, alkenler ve alkollerin de oluşuma neden olur. 1-okten-3-ol güçlü mantar tadındaki karakteri ile tanımlanır. Kısmen yüksek eşik değerlerinden dolayı alkoller ve hidrokarbonlar katı, sıvı yağların veya yağlı gıdaların aromalarına çok önemli katkıda bulunan bileşikler olarak değerlendirilmezler (Ho ve Shahidi 2005).

Bu çalışmada lipid oksidasyonu sonucu oluştuğu belirlenen alkoller ise 1-pentanol, 1-hekzanol, 1-heptanol, 1-okten-3ol, 1-oktanol'dur. Analiz sonuçlarında 1-hekzanol bu alkoller içinde en yüksek alan değerinde belirlenmiştir. 1-hekzanol en yüksek alan değerini tüm uygulamalarda standart bisküvi reçetesine ait örneklerde göstermiş, bunu yağı %50 azaltılmış bisküvi reçetesi izlemiştir.

Maillard reaksiyonu ve lipid oksidasyon reaksiyonlarının her ikisi de birbirleri ile yakından ilgili ve her bir reaksiyon ürünleri diğerini etkilemektedir. Ayrıca her iki reaksiyon yolunda da meydana gelen ortak ürünler ve ara ürünler vardır. Mevcut bilgiler, Maillard reaksiyonu ve lipid peroksidasyonunun çok yakından ilişkili olduğunu ve reaksiyon mekanizması kinetiğini; gıdalarda ve proses aromalarında bulunan karbonhidrat, lipid ve protein kompleks karışımındaki ürünleri daha iyi anlamak için bu reaksiyonların eş zamanlı değerlendirilmesi gerektiğini öngörmüştür. Bu tip sistemlerde lipidler ve karbonhidratlar amino bileşenlerinin kimyasal modifikasyonu için rekabete girerler. Maillard reaksiyonu ve lipid oksidasyonu arasında bazı belirgin farklılıklar olsa da lipid ve karbonhidratların her ikisi ile de başlatılmış olan tek bir genel karbonil yoluna dahil edilmiş reaksiyon mekanizması ile farklı görüşler daha iyi anlaşılabilir (Taylor ve Linforth 2010).

Bunun yanı sıra Maillard reaksiyon ürünleri, lipid oksidasyon oranını azaltma eğiliminde olduğu belirtilmiş ve bu nedenle gıdalarda esmerleşme ile birlikte proses koşulları ile aralarındaki ilişkiye dikkat çekilmiştir. Bu durumda, reaksiyonların sadece organoleptik özellikleri değil aynı zamanda gıdanın oksidatif dayanıklılığını da arttırdığı belirtilmektedir (Bressa ve ark. 1996). Bressa ve ark. (1996)'nın Maillard reaksiyonunun antioksidan etkilerini inceledikleri bu çalışmada, tereyağlı bisküvilerde zincir-kıran antioksidan gelişme kapasitesini, pişirme süresi fonksiyonu olarak incelemiştir. Sonuçlar, belirlenen koşullarda 30 dakikalık ısı işlem sonucunda antioksidan kapasitesi önemli miktarda arttığını göstermiştir. Troloks saf örneğinin sabit oranları ile 30 dakika ısı işlem görmüş bisküvi karşılaştırıldığında, 21 g sulu ekstrakt ile 1 g troloks arasında eşitlik sağlanmıştır. Bu değerler Maillard reaksiyon ürünlerinin işlenmiş gıdalarda oksidatif stabilite ve raf ömrüne etki edebilecek kadar yüksek olduğu belirtilmiştir.

Doymamış yağ asitleri aldehid, keton ve alkoller gibi lipid degradasyon ürünlerinin Maillard ara ürünleri karışımına ilave edilmesi, diğer uçucu maddelerin oluşumuna neden olan rakip reaksiyonların meydana gelmesini sağlamak ve meydana gelen bu ürünlerin nisbi oranlarına etki etmektedir. Hidrojen sülfid ve amonyak aroma oluşum reaksiyonları için çok önemli ara ürünlerdir ve bunların lipid degradasyon ürünleri ile interaksiyonu, lipidlerin Maillard reaksiyonu ürünlerinin oluşum oranlarına ne kadar etkili olduğunu göstermektedir (Amrein ve ark. 2006).

Maillard reaksiyonu sonucu meydana gelen ve faktör analizi sonucunda varyansın %20,28'ini açıklayan F1 faktör grubuna ait diğer önemli aroma bileşenleri asetaldehid, 2,3-butandion, 2,3-pentandiondur.

Asetaldehid, solvent benzeri bir tat yapısına sahip olup, et, tavuk, kahve, kızarmış patates ve balıkta belirlenmiştir. 2,3-butandion ise tereyağımsı tat profili ile et, ekmek, kahve, balık, çikolata, kakao'da saptanmış, 2,3-pentandion ise tereyağımsı, yeşil tat profilini ile balık, kahve ve ekmekte tespit edilmiştir (Taylor ve Linforth 2010).

4.2. Akrilamid Analizleri Araştırma Bulguları ve Tartışma

Akrilamid Analizi Araştırma Bulguları

Dokuz (9) farklı reçetesi ve her bir reçete içindeki dört uygulama ile hazırlanmış bisküvi örneklerinde LC-MS yöntemi kullanılarak akrilamid analizi yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara ait ortalama değerler ve standart sapma değerleri Çizelge 4.14'de belirtilmiştir.

Akrilamid analiz sonuçlarına göre kontrol ve karamel aroması uygulamaları birbirine paralel sonuçlar gösterirken, ksiloz ve aroma karışımı uygulamaları da birbirine paralel sonuçlar göstermiştir. En yüksek akrilamid miktarı kontrol veya karamel aroması uygulamalarında standart bisküvi reçetesinde belirlenirken, en düşük akrilamid miktarı asparajinaz enzimi içeren reçetede tespit edilmiştir. Aroma karışımı ve ksiloz uygulamalarında ise en yüksek akrilamid miktarı BYT içeren reçeteye ait örneklerde, en düşük akrilamid miktarı ise yine asparajinaz enzimi içeren reçetede saptanmıştır.

Farklı reçetelere ait kontrol uygulamalarında şekerin %50 azaltılması akrilamid miktarını %36,3 azaltırken, şekersiz reçetede akrilamid miktarı %56,6 azalmıştır. Yağı %50 azaltılmış reçetede akrilamid miktarının %44 azaldığı belirlenmiştir. Farklı protein kaynağı olarak kullanılan BYT ve PST kullanılmış bisküvi örneklerinde de akrilamid miktarı %60,8 azalırken, PST kullanılan bisküvi örneklerinde akrilamid miktarı sadece %12,6 azalma göstermiştir. Glisin, lizin ve asparajinaz enzimi içeren örnekler ise akrilamid azalma oranı en yüksek olan örneklerdir. Lizin ilavesi akrilamid ilavesini %86,7 azaltırken, glisin ilavesi %90,2 ve asparajinaz enzimi ilavesiyle akrilamid miktarı %93,7 azalmıştır.

Farklı reçetelere ait ksiloz uygulaması standart reçeteye ait ksiloz uygulaması ile karşılaştırıldığında şekerin %50 azaltılması akrilamid miktarını %18, şekerin %100 azaltılması akrilamid miktarını %21, protein kaynağı olarak lizin kullanılması %24, yağın %50 azaltılması %31, glisin kullanılması %36 ve asparajinaz enzimi ilavesi ise %88 oranında azaltmıştır. PST kullanımı ise akrilamid miktarını %6 arttırırken, BYT kullanımı akrilamid miktarını %40 arttırmıştır.

Ksiloz uygulamaları her bir reçetede kontrol örnekleri ile karşılaştırıldığında, ksilozun akrilamid oluşumu üzerine önemli etkisi olduğu belirlenmiştir. Standart bisküvi reçetesinde ksiloz uygulaması ile akrilamid oluşumunu 2,7 kat arttırmıştır. Şekeri %50 azaltılmış reçetede

ise ksiloz uygulamasıyla akrilamid oluşumu kontrol örneklerinin 3,43 katına, şekeri %100 azaltılmış ve asparajinaz enzimi kullanılmış reçetede ise 4,8 katına çıkmıştır. Yağı %50 azaltılmış ve protein kaynağı olarak PST kullanılmış her iki reçetede ksiloz uygulaması kontrol örneklerinden 3,2 katına çıkartırken BYT kullanılmış reçete ksiloz uygulaması akrilamid miktarını kontrol örneklerinin 9,6 katına çıkarmıştır. Ksiloz uygulamalarında aynı reçetede kontrol örneklerine göre akrilamid miktarını en çok arttıran reçeteler, glisin ve lisin içeren reçetelerde belirlenmiş, glisin içeren reçetede ksiloz uygulaması akrilamid miktarını kontrol örneklerinin 17,4 katına, lisin içeren reçetede ise 15,3 katına çıkarmıştır. Ksiloz uygulamasının akrilamid oluşumu üzerine en büyük etkisi glisin içeren bisküvi reçetesinde belirlenmiştir.

Karamel aroması uygulamaları her bir reçete içinde kontrol örnekleri ile karşılaştırıldığında, standart bisküvi reçetesinde karamel aroması uygulaması ile akrilamid oluşumunu kontrol örneklerinin 1,4 kat arttırırken, şekeri %50 azaltılmış, BYT kullanılmış, PST kullanılmış ve Glisin kullanılmış reçetelerde 1,1 kat arttırdığı belirlenmiştir. Lisin kullanılan ve asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçetede akrilamid ksiloz uygulamasıyla 0,9 kat artarken, en düşük artış yağı %50 azaltılmış reçetede, en yüksek akrilamid artışı ise şekeri %100 azaltılmış reçetede 1,7 kat olarak tespit edilmiştir.

Farklı reçetelere ait karamel aroması uygulaması standart reçeteye ait karamel aroması uygulaması ile karşılaştırıldığında, protein kaynağı olarak PST kullanılması akrilamid miktarını %28, şekerin %100 azaltılması %45, şekerin %50 azaltılması %47, yağın %50 azaltılması %65, BYT kullanılması %67, lisin kullanılması %90, glisin kullanılması %92 ve asparajinaz enzimi kullanılması ise akrilamid miktarını %95 azaltmıştır. Karamel aroması uygulaması, aynı reçete içinde akrilamid oluşumunu kontrol uygulamasına göre en az arttıran uygulama olarak belirlenmiştir.

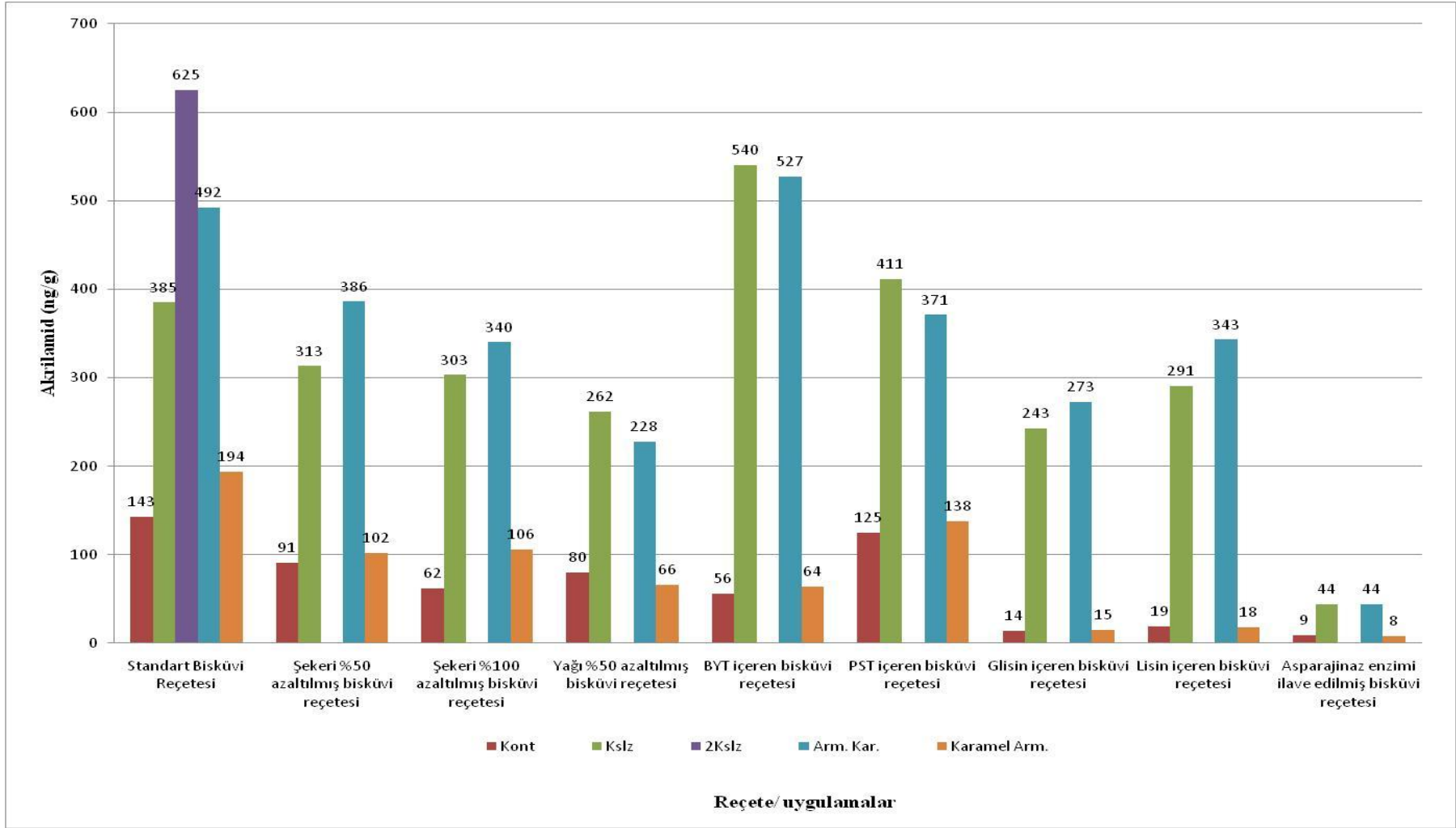
Aroma karışımı uygulamaları her bir reçetede kontrol örnekleri ile karşılaştırıldığında, aroma karışımının akrilamid oluşumu üzerine önemli etkisi olduğu belirlenmiştir. Standart bisküvi reçetesinde aroma karışımı uygulaması ile akrilamid oluşumu, kontrol örneklerinin 3,4 katına çıkmıştır. Şekeri %50 azaltılmış bisküvi reçetesinde aroma karışımı akrilamid miktarını 4,2 katına, şekeri %100 azaltılmış bisküvi reçetesinde 5,5 katına, yağı %50 azaltılmış reçetede 2,9 katına, BYT kullanılan reçetede 9,4 katına, PST kullanılan reçetede 3 katına, ve asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçetede akrilamid miktarını kontrol örneklerinin yaklaşık 5 katına

çıkarmıştır. Kontrol uygulamasına ait örneklerle aroma karışımı uygulamasına ait örneklerin akrilamid miktarları arasındaki en belirgin fark, aroma karışımı uygulaması ile akrilamid miktarının 19,5 kat arttığı glisin kullanılan reçete ve 18,1 kat arttığı lisin kullanılan reçetede belirlenmiştir.

Her bir reçeteye ait aroma karışımı uygulaması standart reçeteye ait karamel aroması uygulaması ile karşılaştırıldığında şekerin %50 azaltılması akrilamid miktarını %21, PST kullanılması %25, lisin kullanılması %30, şekerin %100 azaltılması %31, glisin kullanılması %44, yağın %50 azaltılması %53 ve asparajinaz enzimi kullanılması %91 oranında azaltmıştır. BYT kullanılan reçetede ise aroma karışımı uygulaması akrilamid miktarını %7 oranında arttırmıştır. Bisküvi reçetelerine ait akrilamid analiz sonuçları Şekil 4.10'da görülmektedir.

Çizelge 4.14. Bisküvi örneklerine ait akrilamid miktarları ortalama değerleri

Reçeteler	Akrilamid ng/g				
	Kont	Kslz	2Kslz	Arm. Kar.	Karamel Arm.
Standart Bisküvi Reçetesi	143± 18	385± 49	625± 83	492± 62	194± 25
Şekeri %50 azaltılmış bisküvi reçetesi	91± 1	313± 4		386± 5	102± 1
Şekeri %100 azaltılmış bisküvi reçetesi	62± 2	303± 14		340± 9	106± 3
Yağı %50 azaltılmış bisküvi reçetesi	80± 13	262± 44		228± 38	66± 11
BYT içeren bisküvi reçetesi	56± 3	540± 21		527± 21	64± 3
PST içeren bisküvi reçetesi	125± 11	411± 37		371± 33	138± 12
Glisin ilave edilmiş bisküvi reçetesi	14± 2	243± 32		273± 37	15± 2
Lisin ilave edilmiş bisküvi reçetesi	19± 4	291± 14		343± 64	18± 3
Asparajinaz enzimi ilave edilmiş bisküvi reçetesi	9± 0	44± 10		44± 10	8± 2



Şekil 4.10. Bisküvi reçetelerine ait akrilamid analiz sonuçları

Dokuz reçetenin ortalama vektörleri arasında farklılık olup olmadığını belirlemek için MANOVA (Multivariate Analyses of Variance) testi kullanılarak reçeteler arasındaki farklılığın hangi uygulamadan kaynaklandığı belirlenmiştir.

Akrilamid analizinde MANOVA uygulaması sonucunda 9 reçeteye ait akrilamid analiz sonuçları arasındaki farklılık önemli bulunmuştur. Farklılığın hangi uygulamadan kaynaklandığını araştırmak için çoklu karşılaştırma testi olan Tukey uygulanmıştır.

Yapılan akrilamid analiz sonuçlarına göre belirlenen ortalama değerler (ng/g), standart sapma değerleri ile birlikte Çizelge 4.14.'de ve ilgili grafik Şekil 4.10'da yer almaktadır.

Yapılan çoklu karşılaştırma testinde (p 0,05) reçeteler arasında fark bulunmuştur. Reçeteler arasında farklılığa neden olan değişkenlerin hangileri olduğunu belirlemek için yapılan testlerde (Test of Between-Subjects Effects) farklı reçetelerde uygulanan kontrol, ksiloz, karamel aroması ve aroma karışımı uygulamalarının reçeteler arasında farklılığa etkisi olduğu belirlenmiştir (p 0,05). Reçetelerde uygulanan değişkenlere ait genel ortalama çizelgesi Çizelge 4.15'de belirtilmiştir.

Çizelge 4.15. Reçetelerde uygulanan değişkenlere ait akrilamid değerleri genel ortalamaları

Değişkenler	Genel Ortalama			
	Ortalama	Std. Sapma	%95 Güven Aralığı	
			Alt sınır	st sınır
Kontrol	66,667	2,189	61,716	71,618
Ksiloz	300,889	18,134	259,867	341,911
Karamel aroması	71,556	2,079	66,853	76,258
Aroma Karışımı	322,667	10,59	298,708	346,626

Farklı reçetelerde kontrol uygulamalarına ait analiz sonuçlarının çoklu karşılaştırma testinde standart bisküvi reçetesi ile PST kullanılmış reçete arasındaki farklılık önemli değil iken, standart bisküvi reçetesindeki akrilamid oluşumu ile diğer reçeteler şeker %50 ve %100 azaltılmış, yağ %50 azaltılmış, PST, glisin, lisin ve asparajinaz enzimi kullanılmış örnekler

arasındaki fark önemli bulunmuştur (p 0,05). Şekeri %50 azaltılmış reçete ile şekeri %100 azaltılmış, yağı %50 azaltılmış, BYT ve PST kullanılmış reçeteler arasındaki farklılık ise önemli değil iken; lisin, glisin ve asparajinaz enzimi ilave edilmiş örnekler arasındaki farklılık önemli olduğu tespit edilmiştir (p 0,05). Şekeri %100 azaltılmış reçete ile yağı %50 azaltılmış ve BYT kullanılmış reçete arasındaki farklılık önemli değilken; şekeri %100 azaltılmış reçete ile PST kullanılmış, glisin, lisin ve asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçeteler arasındaki farklılık önemli olduğu belirlenmiştir (p 0,05). BYT kullanılmış reçete ile PST kullanılmış, glisin, lisin ve asparajinaz enzimi ilave edilmiş bisküvi reçeteleri arasındaki farklılık önemli bulunmuştur. PST kullanılmış reçete ile lisin, glisin ve asparajinaz enzimi ilave edilmiş bisküvi reçeteleri arasındaki fark önemli bulunmuştur (p 0,05). Glisin ilave edilmiş reçete ile lisin ve asparajinaz enzimi kullanılmış reçete arasındaki farklılık önemli değil iken, diğer reçeteler arasındaki farklılığı önemli bulunmuştur (p 0,05). Lisin kullanılmış bisküvi reçetesi ile asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçete arasındaki farklılık da önemli değildir (p 0,05). Asparajinaz enzimi kullanılmış reçete ile ise lisin ve glisin kullanılmış reçete arasındaki farklılık önemli değilken, asparajinaz enzimi ile diğer tüm reçeteler arasındaki fark önemli olduğu saptanmıştır (p<0,05).

Dokuz reçete arasındaki farklılığın hangi uygulamadan kaynaklandığını bulmak için yapılan Tukey testine göre, kontrol değişkeni için glisin ve lisin içeren ve asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçeteler arasında fark yoktur. Şekeri %100 azaltılmış, şekeri %50 azaltılmış, yağı %50 azaltılmış ve BYT kullanılmış reçete arasında fark yoktur. Şekeri %50 azaltılmış ve PST kullanılmış reçete arasında fark yoktur. PST kullanılmış ve standart bisküvi reçetesi arasında fark da önemli değildir (p<0,05).

Farklı reçetelerde ksiloz uygulamalarına ait analiz sonuçlarının çoklu karşılaştırma testinde standart bisküvi reçetesindeki akrilamid oluşumu ile şekeri %100 azaltılmış ve asparajinaz enzimi kullanılmış reçete arasındaki farklılığın önemli olduğu belirlenmiş, standart bisküvi reçetesi ile şekeri %50 azaltılmış, yağı %50 azaltılmış, BYT, PST, lisin ve glisin kullanılmış, asparajinaz enzimi ilave edilmiş bisküvi örnekleri arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır (p 0,05). Şekeri %50 azaltılmış bisküvi örneklerindeki akrilamid oluşumu ile tüm reçeteler arasındaki farklılığın da önemli olmadığı belirlenmiştir (p 0,05). Şekeri %100 azaltılmış bisküvi reçetesindeki akrilamid oluşumu ile sadece standart bisküvi reçetesi arasındaki farklılık önemli, diğer reçeteler arasındaki farklılık önemli değildir (p 0,05). Yağı %50 azaltılmış bisküvi reçetesindeki akrilamid oluşumu ile diğer tüm reçeteler arasındaki farklılık

da önemli değildir (p 0,05). BYT kullanılmış bisküvi örneklerindeki akrilamid oluşumu ile sadece lisin ve asparajinaz enzimi kullanılmış bisküvi örneklerindeki farklılık önemli olduğu belirlenmiştir (p 0,05). PST kullanılmış bisküvi reçetesindeki akrilamid oluşumu ile de sadece asparajinaz enzimi kullanılmış bisküvi örnekleri arasındaki farklılık önemli bulunmuştur (p 0,05). Glisin kullanılmış örneklerin ksiloz uygulamasındaki akrilamid oluşumu ile diğer tüm reçetelerin ksiloz uygulamaları arasında önemli bir farklılık belirlenmemiştir (p 0,05). Lisin kullanılmış reçete ile sadece PST kullanılmış reçete arasındaki farklılığın önemli olduğu belirlenmiş, asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçetenin ksiloz uygulaması ile sadece PST ve BYT kullanılmış örneklerin ksiloz uygulamasının akrilamid oluşumu üzerine etkisi önemli bulunmuştur (p 0,05).

Dokuz reçete arasındaki farklılığın hangi uygulamadan kaynaklandığını bulmak için yapılan Tukey testine göre, ksiloz değişkeni için asparajinaz enzimi ilave edilmiş, glisin kullanılmış, lisin kullanılmış, yağı %50 azaltılmış, şekeri %50 ve %100 azaltılmış bisküvi reçeteleri arasında fark yoktur. Glisin içeren, lisin içeren, yağı %50 azaltılmış, şekeri %50 ve %100 azaltılmış, PST kullanılmış ve standart bisküvi reçeteleri arasında fark yoktur. Glisin kullanılmış, yağı %50 azaltılmış, şekeri %50 ve %100 azaltılmış, PST kullanılmış, standart reçete ve BYT kullanılmış reçete arasındaki fark da önemli değildir (p<0,05).

Farklı reçetelerde karamel aroması uygulamalarına ait analiz sonuçlarının çoklu karşılaştırma testinde standart bisküvi reçetesindeki akrilamid oluşumu ile yağı %50 azaltılmış bisküvi reçetesi, BYT, lisin ve glisin kullanılmış reçete ile asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçete arasındaki fark önemli bulunurken, standart bisküvi reçetesi ile şekeri %50 ve %100 azaltılmış, PST kullanılmış bisküvi reçetesi arasındaki farklılık önemli olmadığı belirlenmiştir (p 0,05). Şekeri %50 azaltılmış bisküvi reçetesindeki karamel aroması uygulamasının akrilamid oluşumu ile şekeri %100 azaltılmış reçete ve standart reçete arasındaki farklılık önemli değilken, diğer tüm reçeteler ile arasındaki farklılığın önemli olduğu tespit edilmiştir (p 0,05). Şekeri %100 azaltılmış reçetenin karamel uygulaması ile standart reçete, şekeri %50 azaltılmış ve PST kullanılmış reçetelerin karamel aroması uygulaması arasındaki farklılık önemli değilken, diğer reçeteler ile arasındaki farklılık önemli olduğu belirlenmiştir (p<0,05). Yağı %50 azaltılmış ve BYT kullanılmış bisküvi reçetesindeki karamel aroması uygulaması ile diğer tüm reçetelerin karamel aroması uygulamasındaki akrilamid oluşumu arasındaki fark önemlidir (p 0,05). PST kullanılmış bisküvi reçetesindeki karamel aroması uygulaması ile standart bisküvi reçetesi ve şekeri %100 azaltılmış bisküvi reçetesinin karamel aroması

uygulamalarındaki akrilamid oluşumu arasındaki farklılık önemli değil, diğer reçetelerle arasındaki farklılık ise önemlidir ($p < 0,05$). Glisin içeren reçete ile lisin içeren ve asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçete arasındaki farklılık önemli değildir, diğer reçetelerle arasındaki farklılık ise önemlidir ($p < 0,05$). Lisin içeren reçete ile glisin içeren ve asparajinaz enzimi ilave edilmiş bisküvi reçetesi arasındaki farklılık önemli değildir, diğer reçetelerle arasındaki farklılığın ise önemli olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Asparajinaz enzimi kullanılmış reçetenin karamel aroması uygulaması ile sadece glisin ve lisin kullanılmış reçetelerin karamel aroması uygulamasının akrilamid oluşumu üzerine etkisi önemli olmadığı belirlenmiş, diğer reçetelerle arasındaki farklılığın ise önemli olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$).

Dokuz reçete arasındaki farklılığın hangi uygulamadan kaynaklandığını bulmak için yapılan Tukey testine göre, karamel aroması değişkeni için, asparajinaz enzimi ilave edilmiş, glisin kullanılmış ve lisin kullanılmış reçete arasında fark yoktur. Yağı %50 azaltılmış reçete ile BYT kullanılmış reçete arasındaki fark da önemli değildir. Şekeri %50 azaltılmış, şekeri %100 azaltılmış ve standart reçeteler arasında fark yoktur. Şekeri %100 azaltılmış, standart reçete ve BYT kullanılmış reçeteler arasındaki farklılık da önemli değildir ($p < 0,05$).

Farklı reçetelerde aroma karışımı uygulamalarına ait analiz sonuçlarının çoklu karşılaştırma testinde standart bisküvi reçetesi, şekeri %50 azaltılmış ve PST kullanılmış reçetenin her birinin akrilamid oluşumu ile sadece asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçetenin aroma karışımı uygulamasına ait akrilamid oluşumu arasındaki farklılık önemli bulunurken, bu reçetelerin her birinin diğer reçetelerin aroma karışımı uygulaması arasındaki farklılığın önemli olmadığı tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Şekeri %100 azaltılmış bisküvi reçetesi ile BYT kullanılmış ve asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçeteler arasındaki farklılık önemli bulunmuş, diğer reçetelerle arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır ($p < 0,05$). Yağı %50 azaltılmış bisküvi reçetesinin aroma karışımı uygulaması ile BYT kullanılmış ve asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçetelerdeki aroma karışımı uygulamalarındaki akrilamid oluşumu arasındaki fark önemli bulunurken, diğer reçetelerin aroma karışımı uygulamaları arasındaki fark önemli değildir ($p < 0,05$). BYT kullanılmış bisküvi reçetesi ile glisin içeren, lisin içeren reçete ve asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçetelerde akrilamid oluşumu arasındaki farklılık önemli olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$). Glisin ve lisin içeren bisküvi reçetelerinin aroma karışımı uygulamaları ile sadece BYT kullanılmış reçete ve asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçetenin aroma karışımı uygulamalarının akrilamid miktarları arasındaki farkın önemli olduğu

belirlenmiştir (p 0,05). Asparajinaz enzimi kullanılmış reçetenin aroma karışımı uygulamasındaki akrilamid oluşumu diğer tüm reçetelerin aroma karışımı uygulamalarından farklıdır (p<0,05).

Dokuz reçete arasındaki farklılığın hangi uygulamadan kaynaklandığını belirlemek için yapılan Tukey testine göre, aroma karışımı değişkeni yağı %50 azaltılmış, glisin kullanılmış, şekeri %100 azaltılmış, lisin kullanılmış, PST kullanılmış, şekeri %50 azaltılmış ve standart reçete arasında fark yoktur. PST kullanılmış, şekeri %50 azaltılmış, standart bisküvi reçetesi ve BYT kullanılmış reçete arasında farklılık önemli değildir. Asparajinaz enzimi ilave edilmiş bisküvi reçetesi ise diğer tüm reçetelerden farklıdır (p 0,05).

Akrilamid Analizleri ile İlgili Tartışma

Akrilamid karbonhidratça zengin gıdaların yüksek sıcaklığa maruz kalmasıyla oluşan ve insanlar için muhtemel kanserojen olarak sınıflandırılan (ECFA 2005) kimyasal bir maddedir. İlk olarak Nisan 2002’de, İsveç Ulusal Gıda Müdürlüğü ve Stockholm niversitesi tarafından karbonhidratça zengin ısıtılmış gıdalarda oldukça önemli seviyede akrilamid bulunduğu belirlenmiştir (Claus ve ark. 2007).

Yapılan çalışmalarda akrilamidin sağlık üzerine iki türlü etkisi olduğu belirlenmiştir: kanserojen etkisi ve nörotoksik etkisi. Nörotoksik etkisi gıdalarla alınamayacak kadar yüksek seviyelerde (NOAEL günde 0,5 mg/kg vücut ağırlığı) akrilamid tüketimi sonucu olduğu için, unlu mamullerde akrilamidin sağlık üzerine etkisi incelendiğinde dikkate alınmamıştır (Claus ve ark. 2007).

Akrilamid, ilk olarak kompleks mekanizmalar içinde Maillard reaksiyonu yolu ile indirgen şekerler ve asparajin arasında gerçekleştiğinin keşfi ile ortaya çıkmıştır (Claus ve ark. 2007).

İndirgen şekerler ve asparajin gıdalarda akrilamid oluşumu için temel öncü maddelerdendir, Schiff bazı ve Strecker tipi reaksiyonların dekarboksilasyonu yoluyla oluşur. Akrilamid oluşumu için diğer bir yol ise lipid oksidasyon yolu üzerinden gerçekleşir. Triaçil gliseroller, gliserole hidrolize olarak termal degradasyon yolu ile akrolein oluşturabilirler. Akrilik asit lipidlerin termal degradasyonu sonucu oluşan akroleinin degradasyonu sonucu yükselebilir (Lorenzo ve ark. 2009).

Prensipte asparajın ısı dekarboksilasyon ve deaminasyon indirgemesi yolu ile akrilamide dönüşebilir, ancak pratikte asparajının akrilamide dönüşmesi için karbonhidratlar gereklidir. Teoride birçok karbonil bileşikleri bu reaksiyonu arttırabilir, fruktoz ve glikoz gibi -hidroksi karbonil bileşikleri aktivasyon enerjisini düşürme etkilerinden dolayı diğerlerinden çok daha etkilidir. Akrilamid oluşumunun gerçekleştiği ana reaksiyon mekanizmalarından biri bozulmamış Amadori ürününün dekarboksilasyonuna, düşük enerji alternatifi olabilecek Schiff bazı ara ürünlerinin oluşması üzerinden gerçekleşir. Schiff bazı ara ürünü güçlü bir akrilamid öncüsü olan 3-amino-propionamid'de hidrolize olabilir veya 1,2-eliminasyonu ile direkt olarak akrilamidi oluşturabilir (Claus ve ark. 2007).

Asparajın akrilamid oluşumunda ana öncü madde olarak belirlenmiştir. Bu durum Becalski ve ark. (2003) yaptıkları çalışmalarda, gıdalarda ¹⁵N- işaretli asparajın belirlenmesi ile kanıtlanmıştır. Amrein ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada 1 kg hamura 250 mg serbest asparajın ilavesi akrilamid miktarını 4 katına çıkarmıştır. Şeker –asparajın eklentisi olan N-glikozilasparajın yüksek miktarda akrilamid oluşturur ve Maillard reaksiyonunun ilk aşamalarında akrilamidin ana kaynağı olarak gösterilmektedir (Gökmen ve Palazoğlu 2007). Zhang ve ark. (2009)'nın yaptığı kütle spektral çalışmalarda, akrilamidin 3 karbon atomu ve nitrogen atomunun asparajından ayrıldığını belirtmişlerdir.

Sonuç olarak asparajın ve glikoz, gliseraldehid ve akrolein gibi karbonil bileşikleri pişirilmiş gıdalarda akrilamid oluşumunda önemli rol oynamaktadır. Reaktantların başlangıç konsantrasyonu ve oranı, sıcaklık, süre, proses, pH ve su aktivitesi gibi faktörler ısı işlem görmüş gıdalarda akrilamid oluşum miktarını etkilemektedir (Claus ve ark. 2007, hang ve ark. 2009). Sıcaklığa bağlı yapılan çalışmalarda, sıcaklık 120 °C'ye çıktıkça akrilamid miktarı artmış, sıcaklığın 170 °C'ye çıkmasıyla akrilamid miktarı azalmıştır. Stadler ve ark. (2002) eşit miktarda asparajın ve glikozun 180°C'de 30 dk ısıtılması sonucunda her mol asparajın için 368 µmol akrilamid oluştuğunu tespit etmişlerdir. Reaksiyona su ilave edilmesi akrilamid miktarını 960 µmol/mol'e çıkarmıştır (hang ve ark. 209). Nem içeriği gıda matriksinin fiziksel durumu ve kimyasal bileşenlerinin hareketliliğini belirlemektedir. Su tek başına akrilamid oluşumunun kimyasal rotası ve işleme yoluna etki etmektedir (Gökmen ve Palazoğlu 2007).

Yapılan çalışmalarda akrilamid oluşumunu azaltma yolları: (i) reaksiyon koşullarının modifiye edilerek, bazı ana ara ürünlerin oluşumunu engellemek (ii) reaksiyon koşullarını kontrol ederek reaksiyonun son aşamasında diğer küçük moleküllerin oluşumunu sağlamak (iii) Maillard reaksiyonunda Schiff bazı, Strecker degradasyonu, N-glikosid yolu ve dekarboksile Amadori ürünlerinin -eliminasyon reaksiyonu gibi Maillard reaksiyonunun ana reaksiyonlarının inhibe edilmesi olarak belirtilmiştir (hang ve ark. 2009).

Bu çalışmada farklı şeker oranı, yağ oranı ve protein kaynakları kullanılmış reçetelerde akrilamid oluşumu incelenmiş ve her bir reçete kendi içinde kontrol örnekleri ve farklı ingrediyenlerin kullanıldığı reçeteler de standart bisküvi reçetesi ile karşılaştırılmıştır. Tüm reçetelerde kullanılan ksiloz miktarı, akrilamid oluşumuna etkisini değerlendirmek için sadece standart bisküvi örneğinde iki katına çıkartılarak tekrar uygulanmıştır.

Standart reçetede ksiloz uygulaması akrilamid miktarını 2,7 kat artırırken, ksilozun iki katına çıkarılması akrilamid miktarını da 385 ng/kg'dan 625 ng/kg'a çıkartarak yaklaşık 2 kat attırılmıştır. Maillard reaksiyonunda reaktant seçimi ve konsantrasyonun Maillard reaksiyonu üzerine etkisini araştırmak için yapılan çalışmalarda amino asit ve şeker tipinin her ikisinin de Maillard reaksiyonu oranını etkilediği belirlenmiştir. Genel olarak reaksiyon oranını etkileyen şeker kompozisyonu şu şekildedir: pentozlar (ksiloz ve arabinoz)> heksozlar (glukoz ve fruktoz)> disakkaritler (laktoz ve maltoz)> trisakkaritler> mısır şurubu kuru maddesi> maltodekstrin>nişasta. Bir pentoz şeker olan ksiloz Maillard reaksiyonunda en aktif şekerlerden biridir (Reinneccius 2006).

Sadece karamel aroması uygulaması akrilamid oluşumu üzerine etkisini en belirgin olarak standart bisküvi reçetesinde göstermiş ve akrilamid miktarını 143 ng/kg' dan 194 ng/kg'a çıkartarak 1,6 kat arttırmış, yağı azaltılmış reçete dışındaki tüm reçetelerde de karamel aroması uygulaması akrilamid miktarını arttırmıştır. Yağı %50 azaltılmış reçete de akrilamid miktarı kontrol örneklerinde 80 ng/kg olarak belirlenirken, karamel aroması uygulaması ile 66 ng/kg' a düşmüştür. Karamel aroması uygulamasının akrilamid oluşumu üzerine bu etkisi içeriğindeki karbonil gruplarından (C=O) kaynaklanmaktadır. Pişirme sırasında bu gruplar şeker gibi reaksiyona girerek akrilamid miktarını attırmaktadırlar. Lorenzo ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada termo-okside yağlardaki yüksek orandaki karbonil ürünleri bisküvilerde yüksek orandaki akrilamid artışından sorumlu olduğunu belirtmişlerdir.

Aroma karışımı uygulaması, ksiloz ve karamel aroması uygulamalarının aynı miktarda birlikte bisküvi örneklerinde uygulanmasıdır. Standart bisküvi reçetesinde aroma karışımı uygulaması ile akrilamid miktarı sadece ksiloz uygulamasında oluşan akrilamid miktarının üzerinde, 492 ng/kg olarak belirlenmiştir. Bu durum aroma karışımında kullanılan karamel aromasından gelen karbonil grupları ile ilişkilendirilebilir. PST kullanılan bisküvi reçetesi dışındaki diğer reçetelerde de aroma karışımı uygulamasında oluşan akrilamid miktarı ksiloz uygulamasından yüksek bulunmuştur. Sadece asparajinaz enzimi ilavesi ile hazırlanan reçetede ise aroma karışımı uygulaması ile ksiloz uygulamasında belirlenen akrilamid miktarı aynıdır (44 ng/kg).

Şekerin azaltıldığı reçetelerde, şekerin %50 azaltılması kontrol örneklerinde standart bisküvi reçetesine göre akrilamidi %36, şekerin %100 azaltılması ise akrilamid oluşumunu %56 azaltmıştır. Ksiloz uygulamaları standart reçetede, şekeri %50 ve %100 azaltılmış reçetede karşılaştırıldığında ise akrilamid miktarı sırasıyla %18 ve %21 azalmıştır. Şekerin azaltılması ile kontrol uygulamalarında, özellikle şekerin %100 azaltılmasıyla, akrilamid miktarındaki azalmanın daha fazla olduğu belirlenmiştir. Ksiloz uygulamalarında ise, şekerin azaltılması ile standart bisküvi reçetesine göre azalan akrilamid oranı, kontrol uygulamalarından daha azdır. Ksiloz Maillard reaksiyonunda en reaktif şekerlerden biri olduğu için ksilozun ilave edildiği reçetelerde reaksiyon oranının, dolayısıyla akrilamid oluşum oranını ağırlıklı olarak ksilozun belirlediği görüşüne varılabilir. Karamel aroması uygulamalarında şekerin %50 ve %100 azaltılması akrilamid miktarını da sırasıyla %47 ve %45 azaltmıştır. Karamel aroması uygulamasında şekerin %50 ile %100 azaltılması ile belirlenen akrilamid miktarları arasında belirgin bir fark saptanmamış, ancak standart reçetede akrilamid miktarının yaklaşık yarısına düşmüştür. Aroma karışımı uygulamalarında da şekerin %50 ve %100 azaltılmasıyla standart reçeteden sırasıyla %21 ve %10 daha az akrilamid belirlenmiştir.

Şekerin azaltıldığı reçetelerde ksiloz ve aroma karışımı uygulamalarında şekerin %50 ve %100 azaltılması ile akrilamid miktarları arasındaki fark çok büyük olmamasına rağmen, standart bisküvi reçetesine göre akrilamid miktarındaki azalma önemlidir.

Şekerin azaltıldığı reçetelerde şeker ikamesi olarak bir disakkarit olan, maltozdan elde edilen, şeker alkolü maltitol kullanılmıştır. Maltitol indirgen şeker değildir ve Maillard reaksiyonunda aktif değildir (Nilsson ve Jagerstad 1987). Bu reçeteye ait kontrol örneklerinde hiç şeker kullanılmamasına rağmen, akrilamid oluşumu belirlenmesi muhtemelen kullanılan

buğday ununun bileşimindeki şekerlerin reaksiyona katılmasından ileri gelmektedir. Kaynaklarda buğday ununun yapısında ortalama toplam şeker oranı %0,4 olduğu, bunun %0,4'ini de, %0,1'ini glikoz ve %0,2'ini fruktoz oluşturmaktadır (Anonim 2010).

Gökmen ve ark. (2006a) kurabiyelerde yaptıkları çalışmada, formülde sükrozun 10 g'dan 35 g'a çıkarılmasıyla akrilamid miktarı yaklaşık 2 kat artış göstermiştir. Sükroz yerine glikoz kullanılan formülde ise akrilamid miktarı şiddetli bir şekilde artmıştır. 205⁰C'de 11 dakika süreyle pişirilen kurabiyelerde, başlangıçta glikoz içermeyen sükroz kullanılan reçetede 74,1±5,6 ng/g akrilamid oluşumu saptanmıştır. Glikozun başlangıçta yer almadığı reçetelerde sükrozun hidroliz derecesinin kurabiyelerde ne kadar akrilamid oluşacağını belirleyen faktör olduğu belirtilmiştir. Sonuç olarak, indirgen şekerler yerine reçetede sükroz kullanımı ile akrilamid miktarının %50 düşürülebileceği belirtilmiştir.

Unlu mamullerde asparajin, akrilamid oluşumunda sınırlayıcı faktör olsa dahi şekerin de akrilamid oluşumunda önemli rolü vardır. Vass ve ark (2004)'nın yaptığı çalışmada invert şekerin sükroz ile yer değiştirmesi buğday krakerlerinde akrilamid miktarını %60 azaltmıştır. Bu sonuç Maillard reaksiyonunda ciddi bir azalmaya neden olan fruktoz ve glikoz gibi reaktif karbonillerin eksikliği ile açıklanabilir. Bu nedenle de bu ürünlerin kahverengi renk oluşumunda ciddi azalmalar meydana gelmiştir (Claus ve ark. 2007).

Amrein ve ark. (2004) sükroz yerine invert şekerin kullanıldığı zencefilli kekler, bisküviler ve krakerlere amonyum hidrojen karbonat eklenmesi akrilamid miktarını önemli ölçüde arttırdığını saptamışlardır.

Gray ve ark. (2005) yaptıkları çalışmada, invert şeker şurubu yerine sükroz solüsyonu (indirgen olmayan şeker) kullanmışlar ve akrilamid oranını 170 µg/kg'dan 46 µg/kg'a indirerek %70 akrilamid azalması sağlamışlardır. ürünlerin tadı dikkate alınacak kadar etkilenmemiş, ancak sükroz ile hazırlanan ürünlerde, Maillard kahverengileşmesi için gerekli miktarda indirgen şeker içermedikleri için, daha az kahverengileşme meydana gelmiştir.

Şeker miktarının akrilamid oluşumunu etkileyen önemli faktörlerden biri olduğu ve indirgen şeker bir olan ksilozun Maillard reaksiyonunda şekerden daha aktif olduğunun belirtildiği literatür bilgileri, çalışma sonuçlarımızı desteklemektedir.

Yağın %50 azaltılması kontrol örneklerinde standart bisküvi reçetesine göre akrilamid oranını %44 düşürmüştür. Ksiloz uygulaması aynı reçete içinde akrilamid miktarını 3,2 katına çıkarırken, standart reçeteye göre akrilamid oluşumu %32 azalmıştır. Aroma karışımı aynı reçete içinde akrilamid oluşumunu 2,9 katına çıkarırken, yağın %50 düşürülmesi aroma karışımı uygulamasında akrilamid miktarını %53 azaltmıştır. Karamel aroması uygulaması yağı azaltılmış reçetenin akrilamid oluşumunu kontrol örneklerine göre %17 düşürmüştür. Standart bisküvi reçetesine göre ise akrilamid oluşumunun %65 daha az olduğu belirlenmiştir. Yağı %50 azaltılmış reçetede karamel aroması uygulamasına ait akrilamid miktarının (66 ng/kg) kontrol örneğinden daha az (80 ng/kg) olması, aynı oranda ksiloz ve karamel aroması içeren aroma karışımının (228 ng/kg) ksiloz'dan daha az (262 ng/kg) akrilamid miktarına sahip olması, yağın azaltılması ile birlikte karamel aroması uygulamasın akrilamid oluşumunu engellediğini göstermektedir.

Capuano ve ark. (2010) lipid oksidasyonunun akrilamid oluşumuna etkilerini inceledikleri çalışmada, lipid oksidasyonu sonucu meydana gelen önemli miktardaki karbonil grubunun akrilamid oluşumunda etkisi olduğunu belirtmişlerdir.

Lorenzo ve ark. (2009) da yaptıkları çalışmada akrilamidin termo-okside yağın kullanıldığı örneklerde artan kahverengileşme ve HMF ile paralel olarak önemli ölçüde arttığını belirlemiştir. Termo-okside yağın kullanıldığı bisküvi sisteminde 16. dakikada akrilamid oluşumu hızla artarak ayçiçeği yağı kullanılan kontrol örneklerden %59 daha fazla seviyeye ulaşmıştır. Akrilamid konsantrasyonu termo-okside sistemde %136'ya kadar yükselmiştir. Bu durum yağın termo-oksidasyonu sırasında stabil olmayan hidroperoksitlerin oluşması ve unların aldehidler, ketonlar, epoksiler ve kısa zincirli asitler gibi ikincil oksidasyon ürünlerine dönüşmesi ile açıklanabilir. Bu yüksek reaktif karbonil bileşikleri Maillard reaksiyonunu arttırarak akrilamid oluşumunu etkilemektedir. Akrilamid miktarının pişirmenin son sürecinde yüksek artış göstermesi, lipid oksidasyon ürünlerinin akrilamid oluşumunu sadece spesifik nem, sıcaklık ve süre koşullarında arttırdığını göstermiştir (Lorenzo ve ark. 2009).

Summa ve ark. (2006) ise model bisküvilerde akrilamid oluşumu üzerine yaptıkları çalışmada yüksek oranda yağ içeren reçete ile hazırlanan bisküvilerde daha yüksek akrilamid oluştuğunu tespit etmişlerdir. Bu durum da yine akrilamidin trigliseritlerden akrolein ara ürünü vasıtasıyla oluşmasıyla, lipidce zengin gıdalarda akrilamid oluşumunun da yüksek olması ile açıklanmıştır. Yapılan bu çalışmada da yağı %50 azaltılmış reçetede akrilamid oluşumunun

da azaldığı tespit edilmiştir. Bu durum azalan yağ miktarı ile birlikte ısıl işlem sonucu degradasyona uğrayan yağ miktarının da azalmasıyla açıklanabilir.

Anese ve ark. (2011b) ise bisküvilerde akrilamidi en aza düşürmek için, farklı formülasyonların l-asparajinaz kapasitesine etkisini inceledikleri çalışmada, yağın varlığının reaksiyon öncülleri ile sulu faz arasındaki interaksyonu engelleyerek daha az akrilamid oluşumuna neden olduğu hipotezini öne sürmüşlerdir.

Protein kaynağı olarak BYT ve PST kullanılan reçetelerin kontrol örneklerindeki akrilamid miktarı standart reçetenin kontrol örneklerinden sırasıyla %60 ve %13 azaldığı belirlenmiştir. Ksiloz uygulamasıyla BYT ve PST kullanılan reçetelerin her ikisinde de akrilamid oluşumu artmıştır. BYT kullanılan reçetede ksiloz uygulaması (540 ng/kg) akrilamid miktarını standart reçetenin (385 ng/kg) 1,4 katına çıkarmıştır. PST kullanılan reçetede (411 ng/kg) ise ksiloz uygulaması standart reçeteden (385 ng/kg) 1,06 kat daha fazla akrilamid oluşumuna neden olmuştur. PST ve BYT kullanılan reçetelerin kontrol örneklerine daha önce yapılan çalışmalardan elde edilen bilgilere göre, protein oranı yüksek ingrediyanlerin kullanılması, bu ingrediyanlerin akrilamid oluşumunda sınırlayıcı faktör olan asparajinle şeker için rekabete girerek akrilamid oluşumunun azalmasına neden olmaktadır. Ancak her iki reçetede de ksiloz uygulamasıyla akrilamid oluşumunun büyük ölçüde artması, ksilozun, protein oranı yüksek olan BYT ve PST içeriğindeki amino asitlerden daha hızlı reaksiyona girmiş olabileceği ile açıklanabilir. Ksiloz uygulamalarında akrilamid oluşumunu arttıran BYT içeriğinde indirgen bir şeker olan glikoz varlığını belirlemek için yapılan glikoz tayininde glikoz miktarı tespit edilebilir düzeyde bulunmamıştır.

Proteince zengin gıdalarda orta seviyelerde akrilamid miktarı 5-50 µg/kg olarak belirlenirken, patates ve pancar kökü gibi karbonhidrat içeriği zengin gıdalarda akrilamid miktarı 150-400 µg/kg olarak tespit edilmiştir (Zhang ve ark. 2009).

Amrein ve ark. (2004) zencefilli keklerde kullanılan ingediyanlerin toplam serbest asparajin ve toplam glikoz/fruktoz'a katkısını belirlemek için yaptıkları çalışmada, toplam serbest asparajin miktarına en büyük katkının (%87,5) kullanılan undan geldiğini, ancak kullanılan bütün yumurtanın da toplam serbest asparajin miktarına katkısının %0,7 olduğunu belirtmişlerdir.

Claeys ve ark. (2005), asparajın dışındaki diğer aminoasitlerin 140-200°C'de ısıtılmış asparajın-glikoz model sisteminde (0,01 M, pH 6) akrilamid oluşumu ve eliminasyonu üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada, sistein ve lisin ilavesinin akrilamid oluşumunu büyük ölçüde düşürürken, glutamin ilavesinin akrilamid oluşumunu güçlü bir şekilde tetiklediğini ve alanin ilavesinin ise akrilamid oluşumu üzerine neredeyse nötr etkisi olduğunu belirtmişlerdir.

Hedegaard ve ark. (2007) ise tapyoka unu, taze yumurta, Gouda ve Mozzarella peynirinden yapılan geleneksel Brezilya ekmeklerinde akrilamid belirlenemediğini, kullanılan yumurtanın akrilamid oluşumuna karşı koruyucu etki gösterdiğini belirtmişlerdir.

BYT kullanılan reçetede aroma karışımı uygulamasında da yine ksiloz uygulamalarında olduğu gibi, standart bisküvi örneklerinden % 6 daha fazla akrilamid oluştuğu belirlenmiştir. BYT kullanılan reçete içindeki kontrol örneklerine göre ise ksiloz ve aroma karışımı uygulaması, sırasıyla akrilamid miktarını 9,6 ve 9,4 kat arttırmıştır. BYT kullanılan reçetede karamel aroması uygulaması (64 ng/kg) akrilamid oluşumunu standart reçeteden (194 ng/kg) %67 oranında azaltmıştır. PST kullanılan reçetede ise karamel aroması uygulamasıyla akrilamid oluşumunun %28 oranında azaldığı belirlenmiştir.

Yapılan bu çalışmada sadece kontrol örnekleri dikkate alındığında protein kaynağı olarak süt tozu (standart bisküvi reçetesi) yerine BYT ve PST ingredientlerini kullanıldığında, akrilamid miktarını düşürmede en etkili protein kaynağının BYT olduğu belirlenmiş, bunu sırasıyla PST ve süt tozu izlemiştir. Ancak ksiloz ve aroma karışımı ilavesi BYT kullanılan reçetede akrilamid miktarının diğer iki reçeteden daha yüksek olmasına neden olmuştur. Bu durum ksiloz gibi Maillard reaksiyonunda çok aktif olan şekerin kullanılması akrilamid oluşumunu arttıran önemli bir faktör olduğunu ortaya koymaktadır.

Protein kaynağı olarak glisin kullanılan reçetede kontrol örneklerine ait akrilamid miktarı 14 ng/kg olarak belirlenerek standart reçeteye kıyasla akrilamid oluşumu %90 oranında azaltılmıştır. Ksiloz ilavesi aynı reçete içinde akrilamid miktarını 17 katına çıkarırken, standart reçete ile kıyaslandığında akrilamid miktarını %32 oranında azaltmıştır. Aroma karışımı uygulamasıyla akrilamid miktarı ksiloz uygulamasındaki akrilamid miktarından (262 ng/kg) daha yüksek (273 ng/kg) belirlenirken, standart bisküvi reçetesindeki akrilamid miktarından %44 daha azdır. Karamel aroması uygulaması (15 ng/kg) ile aynı reçete içinde

kontrol örnekleri (14 ng/kg) arasında akrilamid miktarı önemli bir değişim göstermemiş ancak yine standart bisküvi reçetesindeki karamel aromasından %92 daha az akrilamid oluşmuştur. Glisin, Maillard reaksiyonunda en aktif amino asitlerden biridir. Glisin ilavesinin akrilamid oluşumunu azaltmasına etkisi Maillard reaksiyonu sırasındaki diğer amino asitlerle rekabeti veya glisin akrilamid ile reaksiyona girmesi ile açıklanır. Yapılan çalışmalarda da nişasta, asparajin ve glikoz içeren model sistemlerde uzatılmış ısı işlem uygulamasıyla akrilamid miktarının azaldığı belirtilmiştir. Ayrıca Friedman ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada akrilamidin glisinin NH₂ grubu ile reaksiyona girdiğini tespit etmişlerdir (Brathen ve ark. 2005).

Amrein ve ark. (2004)'nın zencefilli keklerde yaptıkları çalışmada ise orta kararda ilave edilen L-glutamin, L-lisin veya L-glisin ilavesi (2000 mg/kg hamur) akrilamid miktarını düşürmemiş ancak esmerleşmeyi arttırmıştır. Bu da yüksek miktarda -amino grubunun reaksiyona girerek Maillard reaksiyonu ile melanoidinleri oluşturması ile açıklanır. Ancak glisin miktarının artırılması (10000 mg/kg hamur) akrilamid miktarını üçte birine düşürmüştür. Bu durum glisinin diğer amino asitlerle reaktif karboniller için rekabete girmesi veya oluşan akrilamidin glisin ile reaksiyona girerek yok olmasıyla açıklanmıştır.

Glutation (GSH) ile yapılan *in vitro* çalışmalarda, glisin solusyonda Strecker degradasyonu ile aldehid, amonyak ve karbondioksit parçalanmıştır. Formaldehid gibi degradasyon ürünleri akrilamid ile reaksiyona girerek akrilamidin küçük moleküler parçalara ayrılmasına neden olmuştur (Zhang ve ark. 2009).

Mayalı hamurdan yapılan ekmeklere asparajin ilavesinin akrilamid miktarını arttırdığı, glisin ilavesinin ise akrilamid içeriğini düşürdüğünü bildirilmiştir. Ekmeklerde hamura sistein ilave edilmesi, fermentasyon süresinin uzatılması, pişirme sıcaklığının düşürülmesi, pişirme süresinin uzatılması, akrilamid miktarının kontrol edilmesinde etkili olduğu belirtilmektedir (Zhang ve ark. 2009).

Sadece kontrol örnekleri dikkate alındığında protein kaynağı olarak süt tozu (standart bisküvi reçetesi) yerine BYT ve PST ingrediyanleri kullanıldığında, akrilamid miktarını düşürmede en etkili protein kaynağının BYT olduğu belirlenmiş, bunu sırasıyla PST ve süt tozu izlemiştir. Ancak ksiloz ve aroma karışımı ilavesi BYT kullanılan reçetede akrilamid miktarının diğer iki reçeteden daha yüksek olmasına neden olmuştur. Bu durum ksiloz gibi Maillard

reaksiyonunda çok aktif olan şekerin kullanılmasının akrilamid oluşumunu arttıran önemli bir faktör olduğunu ortaya koymaktadır.

Protein kaynağı olarak lisin kullanılan reçetede kontrol örneğine ait akrilamid miktarı 19 ng/kg olarak belirlenirken, lisin kullanılan reçetede akrilamid miktarı standart bisküvi reçetesine göre %86 oranında düşürülmüştür. Ksiloz uygulaması ile aynı reçete içinde akrilamid miktarı kontrol örneklerinin 15,3 katına çıkarken, yine standart bisküvi reçetesine göre akrilamid miktarı %24 oranında azalmıştır. Aroma karışımı uygulamasında belirlenen akrilamid miktarı (343 ng/kg) ksiloz uygulamasının (291 ng/kg) üzerinde, ancak standart bisküvi reçetesine ait aroma karışımı uygulamasından %30 daha az akrilamid oluşumu tespit edilmiştir. Karamel aroması uygulaması ile aynı reçete içinde kontrol örnekleri akrilamid miktarları arasında belirgin bir fark yoktur. Ancak standart bisküvi reçetesi örneklerinin karamel aroması uygulamasından %90 daha az akrilamid oluşmuştur.

Lisin kullanılması tüm uygulamalarda akrilamid oluşumunu standart bisküvi reçetesine göre düşürmüştür. Bunun nedeni yine Maillard reaksiyonunda reaktif bir amino asit olan lisinin akrilamid oluşumu için ana faktörlerden biri olan asparajin ile şeker için rekabete girmesi ile açıklanabilir. Kaynaklarda belirtildiği üzere lisin bazik özelliği ve yapısında bulunan iki amino grubu nedeniyle en reaktif amino asitlerden biridir. Lisinin bu yüksek aktivitesi Maillard reaksiyonu sırasında asparajin ile rekabete girip akrilamid oluşumunu azaltmaya neden olmuştur. Şeker ile reaksiyona girmek için asparajin ile rekabetinin yanı sıra lisin, akrilamidin elektrofilik çift bağları, aktif hidrojen içeren fonksiyonel gruplarla nükleofilik reaksiyonlara katılarak birleşme reaksiyonuna girer ve akrilamidin azalmasına sebep olur (Claeys ve ark 2005).

Claeys ve ark. (2005) da yaptıkları çalışmada lisin ilavesinin asparajin-glikoz model sisteminde 140-200°C ısı işlem aralığında akrilamid oluşumunu büyük ölçüde düşürdüğünü belirtmişlerdir. 180°C ve 200°C ısı işlem uygulanan model sistemde kontrol örneklerinde akrilamid içeriği %100 olarak belirtilirken, lisin ilave edilmiş sistemde akrilamid içeriği sırasıyla 83,40 ve 91,80 olarak belirtilmiştir. Ancak sıcaklık artışı akrilamid içeriğini de arttırmıştır.

Düşük miktarda akrilamid oluşumunu sağlayan diğer amino asitler alanin, arjinin, aspartik asit, sistein, glutamin, metiyonin, treonin ve valindir (Zhang ve ark.2009).

Yapılan bu çalışmada akrilamid miktarını düşürmek için ilave edilen glisin ve lisin içeren reçetelerde, glisin kullanımının akrilamid oluşumunu azaltmada tüm uygulamalarda lisinden daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Amrein ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada da zencefilli keklere glisin ilave edilmesi akrilamid miktarını 501 µg/kg'dan 430 µg/kg'a düşürürken, L-lisin ilave edilmesi ile (2000 mg/kg hamur) akrilamid miktarını 501 µg/kg dan 542 µg/kg'a çıktığını belirtmişlerdir. Bu çalışmada da glisin ilavesinin akrilamid oluşumunu azaltmada daha etkili olduğu görülmektedir.

Akrilamid oluşumunun en az düzeyde olduğu reçete asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçetedir. Bu reçetede standart bisküvi reçetesinin üzerine sadece asparajinaz enzimi ilave edilmiştir (0,1 g/kg hamur). Asparajinaz enzimi ilavesi akrilamid miktarını %93 oranında düşürmüştür. Ksiloz ilavesi akrilamid miktarını kontrol örneğinin 4,8 katına çıkarırken, standart bisküvi örneğine göre %88 azalma belirlenmiştir. Aroma karışımı uygulaması ile ksiloz uygulamasına ait akrilamid miktarı aynı belirlenmiştir (44 ng/kg). Karamel aroması uygulamasına ait akrilamid miktarı kontrol örneğinden az olmasına rağmen aradaki fark çok büyük değildir.

Amrein ve ark. (2004) da zencefilli keklerde serbest asparajin miktarının pişirme öncesi parçalanmasını sağlamak için hamura asparajinaz enzimi ilave etmişlerdir. Bu hamur ile hazırlanan zencefilli keklerde akrilamid miktarı %55 azalırken, tat ve renk standart ürün ile aynı kalmıştır. Akrilamid miktarının tamamen azalmaması hamurda yapılan analizlerde asparajinaz uygulamasından sonra halen 22 mg/kg asparajin belirlenmesidir. Bu durum da hamurdaki yetersiz substrat veya enzimin yetersiz hareketliliği ile açıklanmıştır.

Capuano ve ark. (2008) ekmek gevreklerinde Maillard reaksiyonunun karakterizasyonu ile ilgili yaptıkları çalışmada, asparajinaz enzimi ilavesiyle (2000 U/kg un) 180°C'de 25dk kavurma sonunda akrilamid miktarını %80 azaltırken, glisin ilavesiyle akrilamid miktarını ancak %60'a kadar azaltabildiklerini belirtmişlerdir. Aynı çalışmada glisin ilavesinin kahverengi renk gelişimi üzerine büyük etkisi olduğu, glisin içeren gevreklerin L* değerinin büyük ölçüde azaldığı ve ΔE değerinin her sıcaklıkta diğer örneklerden daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

Bu çalışmada akrilamid miktarının asparajinaz enzimi ilavesi ile bu kadar çok düşürülmesi, enzim ilavesinden hamurun pişirilmesine kadar geçen sürenin 45 dk gibi uzun bir süre olmasından kaynaklanır. Hendriksen ve ark. (2009) yarı oranda şeker içeren bisküvilerde (hamur sıcaklığı 40°C, hamur pH'ı 8,75, nisbi nemi %86) yaptıkları çalışmada, 525 ASNU/kg un ağırlığı kadar asparajinaz enzimi kullanmışlar ve 15 dakika hamurun dinlenme süresi sonucunda akrilamid miktarını 130 g/kg olarak belirlemişlerdir ki, bu oran kontrol örnekleri ile karşılaştırıldığında %65 akrilamid azalması tespit edilmiştir. Hamurun dinlenme süresi aynı tutulup enzim miktarı iki katına çıkarıldığında akrilamid miktarı 58 g/kg olarak belirlenmiş ve kontrol örneklerine göre %84 azalma meydana gelmiştir. Asparajinaz enzimi artırılarak yapılan tüm örneklerde hamur 15 ve 30 dakika dinlendirilerek ikişer örnek hazırlanmıştır. Enzim miktarı arttıkça akrilamid miktarı azalırken, tüm örneklerde dinlenme süresinin uzamasının da akrilamid miktarını azalttığı belirtilmiştir. Anese ve ark. (2011a) ise asparajinaz aktivitesinin enzim miktarı, inkubasyon süresi ve sıcaklığı ile birlikte akrilamid oluşumu üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada inkübasyon süresinin tek başına akrilamid oluşumunda en az etkili faktör olduğu belirtirken, diğer faktörlerin de birlikte veya tek başına değerlendirildiği çalışmada bunu sırasıyla sıcaklık-asparajinaz miktarı, sıcaklık- süre ilişkisi oluşmuştur. Akrilamid oluşumunda en çok etkisi olan faktör ise enzim konsantrasyonu olarak belirtilmiştir. Pedreschi ve ark. (2008) kızartılmış patateslerde yaptıkları çalışmada ise patates dilimlerinin 40°C'de 20 dakika süreyle muamelesi sonucunda kontrol dilimlerindeki akrilamid miktarı %30 azalırken, ağartılmış patates dilimlerinde akrilamid oranı %60 oranında azalmıştır.

Yapılan bu çalışmada, genel olarak tüm reçeteler arasında asparajinaz enzimi ilavesi, akrilamid oluşumunu azaltmada en etkili yöntem olarak belirlenmiştir. Reçetelerde, şeker ve yağ oranının azaltılması da akrilamid oluşumunu engellemiş, ancak ksiloz gibi yüksek oranda reaktif şekerin uygulanması tüm reçetelerde akrilamid oluşumunu büyük ölçüde arttırmıştır.

Farklı reçetelerin ve ksilozun akrilamid oluşumuna etkisinin incelendiği bu çalışmada reçetede asparajini parçalayan asparajinaz enzimi ilavesi, şeker oranının azaltılması, asparajin ile rekabete girecek amino asit ilavesi veya amino asit içeriği yüksek protein kaynaklarının kullanılması akrilamid oluşumunu kontrol etmede etkili olmuş, ancak ksiloz ilavesi tüm reçetelerde, aroma karışımı uygulaması içinde dahi akrilamidin büyük ölçüde artmasına neden olmuştur.

4 Renk Analizleri Araştırma Bulguları ve Tartışma

Renk Analizleri Araştırma Bulguları

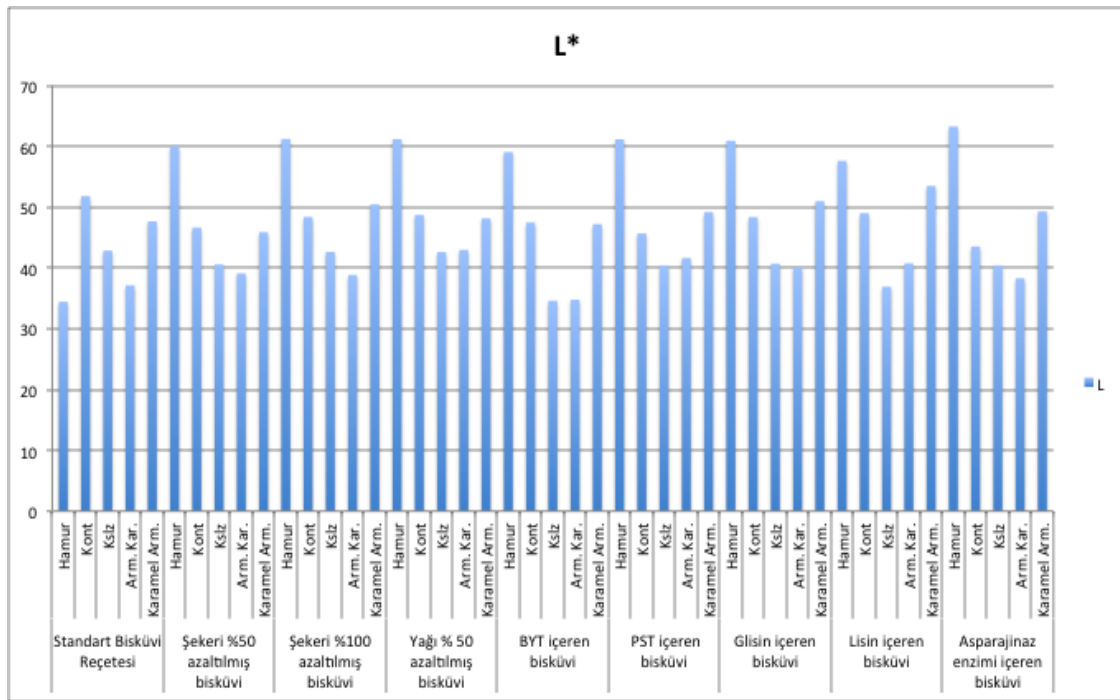
Dokuz farklı bisküvi reçetesi ile hazırlanan örnekler, pişirme öncesinde hamur örneklerinde ve pişirme sonrasında bisküvi örneklerinde Matlab bilgisayar programı kullanılarak CIE (International Commission on Illumination) L^*a^*b birimi olarak belirlenmiştir. Elde edilen analiz sonuçları Çizelge 4.16'da belirtilmektedir.

Renk analiz sonuçlarının değerlendirilmesinde farklı renk skalalarını ifade eden L^*a^*b değerlerinin her biri ayrı ayrı incelenmiştir. Ayrıca örneklerde pişirme sonrası renk değişimini değerlendirmek üzere ΔE değerleri tespit edilmiş ve renk değişimi ile akrilamid miktarı arasındaki korelasyon incelenmiştir.

Çizelge 4.16. Bisküvi örneklerine ait L^*a^*b renk analiz değerleri

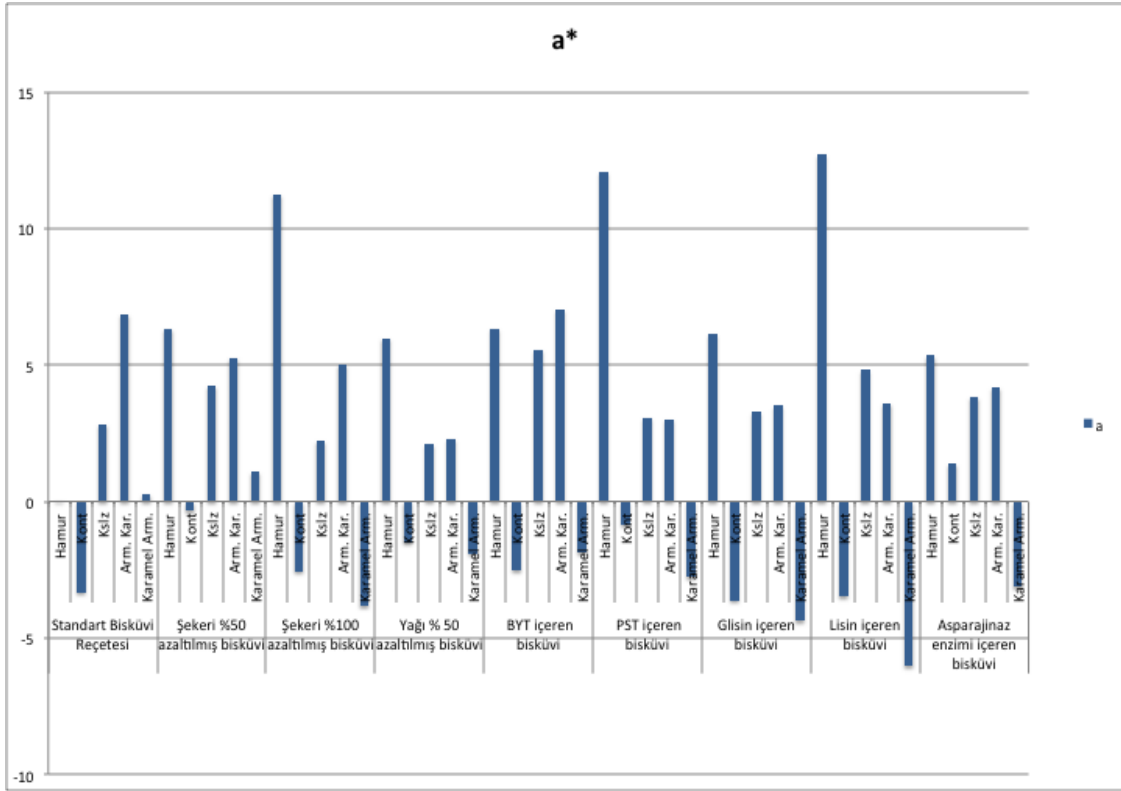
Reçeteler		Hamur	Kont	Kslz	2Kslz	Arm. Kar.	Karamel Arm.
Standart Bisküvi Reçetesi	L	34,4407	51,8144	42,8552	39,58	37,1462	47,6685
	a	0,037	-3,3342	2,8385	5,1562	6,868	0,2749
	b	31,0625	26,1643	34,5807	34,7005	33,9422	33,8529
Şekeri %50 azaltılmış bisküvi	L	59,9987	46,6457	40,5861		39,1143	45,8923
	a	6,3317	-0,3499	4,2485		5,28	1,0992
	b	44,5722	36,6145	35,9755		35,695	37,755
Şekeri %100 azaltılmış bisküvi	L	61,2294	48,3979	42,6496		38,8409	50,4642
	a	11,2527	-2,5594	2,2279		5,0271	-3,8293
	b	27,9186	36,5049	37,0986		35,4855	36,2417
Yağı % 50 azaltılmış bisküvi	L	61,2019	48,7299	42,6156		42,9837	48,1577
	a	5,9913	-1,5063	2,0992		2,2941	-1,9219
	b	43,2393	32,7724	33,053		34,5561	32,9593
BYT içeren bisküvi	L	59,0751	47,507	34,6031		34,7854	47,2106
	a	6,3443	-2,528	5,5546		7,0355	-1,8918
	b	44,8179	33,3944	31,0377		32,6474	33,7039
PST içeren bisküvi	L	61,1695	45,6838	40,4186		41,6386	49,201
	a	12,0725	-0,8542	3,0703		3,0222	-2,7766
	b	29,3816	35,5793	34,553		35,2961	34,1513
Glisin içeren bisküvi	L	60,9289	48,3761	40,7142		40,1127	50,9842
	a	6,1337	-3,6196	3,2729		3,5102	-4,3838
	b	44,0805	33,6669	33,8959		34,2731	32,7439
Lisin içeren bisküvi	L	57,6152	49,0067	36,9102		40,7704	53,4867
	a	12,7207	-3,4861	4,8104		3,6026	-6,029
	b	29,3427	33,4807	32,747		34,6028	32,0117
Asparajinaz enzimi içeren bisküvi	L	63,2799	43,5278	40,4152		38,3026	49,3157
	a	5,3502	1,384	3,8363		4,1845	-3,1427
	b	43,208	36,1671	35,2692		33,908	34,5896

L^* değerinin, standart bisküvi reçetesi diğer tüm bisküvi reçeteleri ile karşılaştırıldığında ve tüm reçeteler kendi içinde karşılaştırıldığında reçeteden reçeteye anlamlı bir farklılık göstermediği belirlenmiştir. Cisimlerin beyazlığını ifade eden CIE L^* değeri bisküvi reçeteleri ve bu reçetelerdeki farklı uygulamalara ait örneklerde çekilen resimlerin beyazlık değerlerinin hemen hemen aynı düzeyde olduğu belirlenmiştir. Renk analizi sonucu elde edilen L^* değerleri Şekil 4.11’de belirtilmiştir. L^* değerleri için tüm reçeteler karşılaştırıldığında elde edilen sonuçların birbirine yakın düzeyde olduğu tespit edilmiştir.



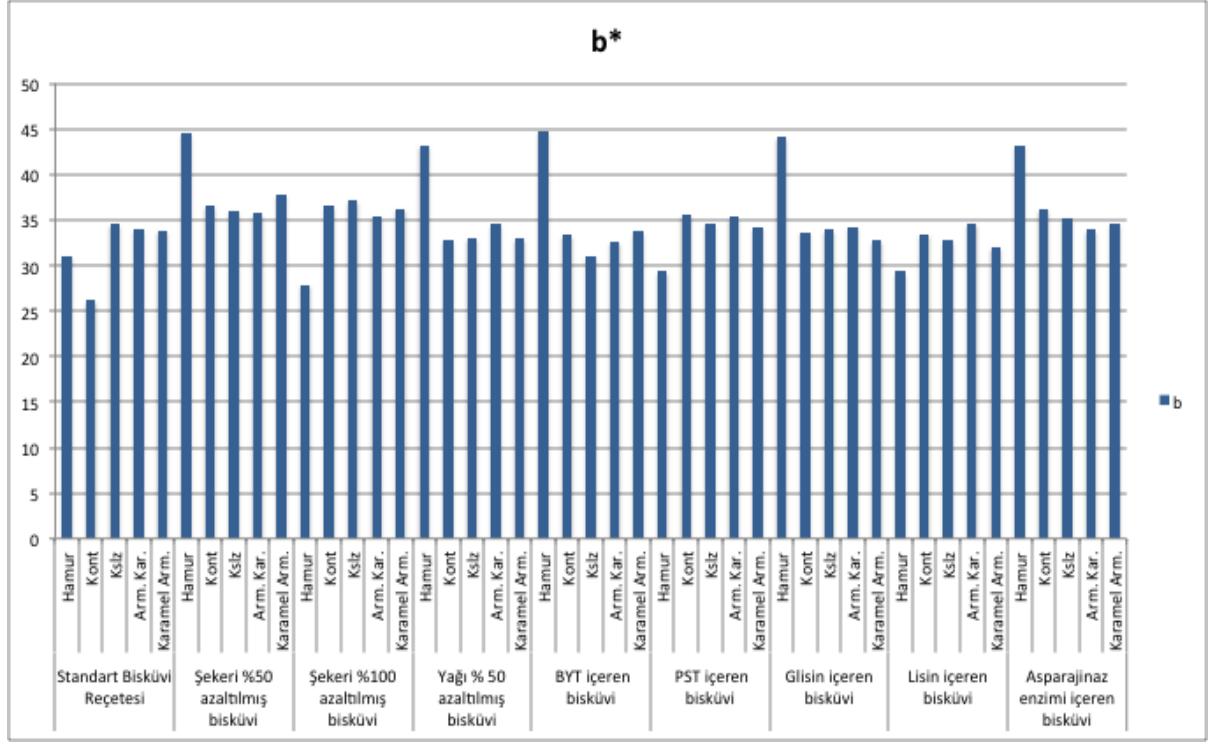
Şekil 4.11. L^* değerleri grafiği

Elde edilen a^* değerleri incelendiğinde ise kontrol örneklerinde asparajinaz enzimi içeren reçete dışındaki tüm reçetelerde negatif yönde değer belirlenmiştir. Karamel aroması uygulamalarında ise standart bisküvi reçetesi ve şekeri %50 azaltılmış reçete dışındaki diğer reçetelerde a^* değerleri negatif düzeyde tespit edilmiştir. Ksiloz ve aroma karışımı uygulamalarında, bütün reçetelerde kontrol örneklerine göre pozitif yönde artış belirlenmiştir. Hamur örneklerine ait a^* değerlerinde pozitif yönde en yüksek sonuçlar elde edilmiştir. Standart bisküvi reçetesi dışındaki tüm reçetelerde hamur örneklerine ait a^* değerlerinde pozitif yönde en yüksek sonuçlar elde edilmiştir. Renk analizi sonucu elde edilen a^* değerleri Şekil 4.12’de belirtilmiştir.



Şekil 4.12. a^* değerleri grafiği

b^* değerlerinde tüm reçeteler içinde en yüksek değer 44,82 olarak belirlenirken, en düşük değer 26,16 olarak tespit edilmiştir. Mavi (-)'den sarı ()'ya renk skalasını ifade eden b^* değerinin tüm reçetelerde pozitif yönde olduğu saptanmıştır. Sarılık tonunu ifade eden b^* değerinin tüm reçetelerin ksiloz ve aroma karışımı uygulamalarında birbirine çok yakın değerlerde ve kontrol uygulamalarından yüksek olduğu belirlenmiştir. Renk analizi sonucu elde edilen b^* değerleri Şekil 4.13'de belirtilmiştir.



Şekil 4.13. b^* değerleri grafiği

Dokuz farklı bisküvi reçetesinde yapılan L^*a^*b renk analiz sonuçları her bir renk skalası istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. L^*a^*b değerlerinin her biri için ayrı ayrı ANOVA testi uygulanmıştır. ANOVA tek değişkenli verilerde reçeteler arasında farklılık olup olmadığını belirlemek amacıyla uygulanmaktadır. Farklılığın hangi reçeteden kaynaklandığını belirlemek için de Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. L^* değerleri için yapılan ANOVA testine ait genel ortalamalar Çizelge 4.17’de belirtilmiştir.

Çizelge 4.17. Reçetelerde uygulanan L^* değişkenine ait genel ortalamalar

ANOVA					
Değişkenler	Kareler toplamı	df	Ortalama kareleri	F	Sig
Reçeteler arasında	70,734	8	8.842	0,292	0,963
Reçeteler içinde	817,501	27	30,278		
Toplam	888,235	35			

L^* değeri için yapılan ANOVA tablosundan elde edilen F testinde ($=0,292$) $p=0,963>0,5$ olduğu için reçeteler arasında fark yoktur.

Farklı reçetelerdeki kontrol, ksiloz, aroma karışımı ve karamel aroması için $p < 0,05$ önemlilik düzeyinde, uygulamalar arasındaki beyazlığı ifade eden L^* değeri arasındaki farklılık önemli bulunmuştur. Bu farklılığın kaynaklandığı uygulama grupları incelendiğinde, kontrol uygulama grubundaki bisküvi örnekleri ile ksiloz ve aroma karışımı uygulamaları arasında yapılan L^* değeri beyazlık değerinde anlamlı bir fark bulunmuştur. Ksiloz ve aroma karışımı bisküvilerin beyazlık tonuna etki ederken, karamel aromasının beyazlık tonuna etkisi yoktur. Ksiloz uygulanmış bisküvi örneklerine ait grup ile karamel aroması uygulanmış grup karşılaştırıldığında L^* değerleri arasındaki farklılık anlamlı bulunmuş, ancak ksiloz ve aroma karışımı arasındaki farklılık önemli düzeyde bulunmamıştır. Aroma karışımı uygulamaları ve karamel aroması uygulamasına ait bisküvi örnekleri grubu karşılaştırıldığında da L^* değerleri arasındaki farklılığın önemli düzeyde olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).

Renk analizi sonuçlarına göre belirlenen a^* değişkenine ait genel ortalamalar ise Çizelge 4.18'de görülmektedir. a^* değeri için yapılan ANOVA tablosundan elde edilen F testinde ($=0,290$) $p=0,963>0,5$ olduğu için reçeteler arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır.

Elde edilen a^* değerine ait veriler için, standart bisküvi reçetesi diğer tüm bisküvi reçeteleri ile karşılaştırıldığında ve ayrıca reçetelerin hepsi kendi içinde karşılaştırıldığında reçeteden reçeteye anlamlı bir farklılık göstermediği belirlenmiştir. Tüm reçeteler ve uygulamalarına ait a^* değeri değişim oranı hemen hemen aynı düzeydedir ($p < 0,05$).

Çizelge 4.18. Reçetelerde uygulanan a^* değişkenine ait genel ortalamalar

ANOVA					
Değişkenler	Karaler toplamı	df	Ortalama kareleri	F	Sig
Reçeteler arasında	35,703	8	4,463	0,290	0,963
Reçeteler içinde	415,515	27	15,389		
Toplam	451,218	35			

Farklı bisküvi reçetelerindeki kontrol, ksiloz, aroma karışımı ve karamel aromasına ait uygulamalar karşılaştırıldığında ise $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı bir farklılık olduğu belirlenmiştir. Bu farklılığın hangi uygulama grupları arasında olduğu incelendiğinde; kontrol grubu bisküvi örnekleri ile ksiloz ve aroma karışımı uygulamaları arasındaki a^* değerindeki farklılık anlamlı düzeyde olduğu tespit edilmiştir. Ksiloz ve aroma karışımı uygulamalarına ait a^* değerlerinde kontrol grubu bisküvi örneklerine göre farklılık belirlenmiş ancak karamel aroması uygulaması a^* değerindeki değişime etki etmemiştir.

Ksiloz uygulamalarına ait bisküvi örnekleri ile karamel aroması uygulamalarının a^* değerleri arasındaki fark da anlamlı bulunmuştur, ancak ksiloz ve aroma karışımı arasındaki fark önemli değildir. Aroma karışımı ve karamel aroması uygulamaları arasındaki a^* değerleri değişimi arasındaki farklılığın da anlamlı düzeyde olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$).

b^* değeri için yapılan ANOVA tablosundan elde edilen F testinde ($=3,397$) $p=0,003 < 0,5$ olduğu için reçeteler arasındaki fark önemli düzeydedir (Çizelge 4.19)

Çizelge 4.19. Reçetelerde uygulanan b^* değişkenine ait genel ortalamalar

Genel Ortalamalar					
Değişkenler	Kareler toplamı	df	Ortalama kareleri	F	Sig
Reçeteler arasında	78,169	8	9,771	3,937	0,003
Reçeteler içinde	67,012	27	2,482		
Toplam	145,182	35			

Sarılık renk tonunu ifade eden CIE b^* değerinin (Şekil 4.13) farklı bisküvi reçetelerine ait sonuçları karşılaştırıldığında, $p < 0,05$ önemlilik düzeyinde sonuçlar arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur. Standart bisküvi reçetesi, diğer tüm bisküvi reçeteleri ile karşılaştırıldığında ve tüm reçeteler kendi içlerinde karşılaştırıldığında b^* değeri renk değişimi reçeteden reçeteye anlamlı bir değişim göstermektedir. Bu farklılığın hangi reçeteler arasında olduğu incelendiğinde, standart bisküvi reçetesi ile şekeri %50 ve %100 azaltılmış bisküvi reçetesi, PST içeren, asparajinaz enzimi içeren bisküvi reçeteleri arasındaki farklılık

önemli bulunmuştur. Reçetenin şeker oranı, PST ve asparajinaz enziminin ilave edilmesi bisküvilerin b^* değeri sarılık tonundaki değişime etki etmektedir. Şekeri %50 azaltılmış reçete ile yağı %50 azaltılmış, BYT içeren, glisin ve lizin içeren bisküvi reçetelerinin b^* değerleri arasındaki farklılığın da önemli düzeyde olduğu tespit edilmiştir. BYT içeren ve asparajinaz enzimi kullanılmış reçete arasındaki b^* değerindeki farklılık da anlamlı bulunmuştur.

Tüm reçetelerde uygulama gruplarının b^* değerindeki değişimler arasındaki farklılık incelendiğinde aynı reçetedeki uygulamalar arasında anlamlı bir fark yoktur. Her bir bisküvi reçetesi içindeki ksiloz, aroma karışımı ve karamel aroması uygulamalarında, b^* değeri sarılık tonu kontrol grubu örneklerine göre anlamlı bir farklılık göstermemiştir ($p > 0,05$).

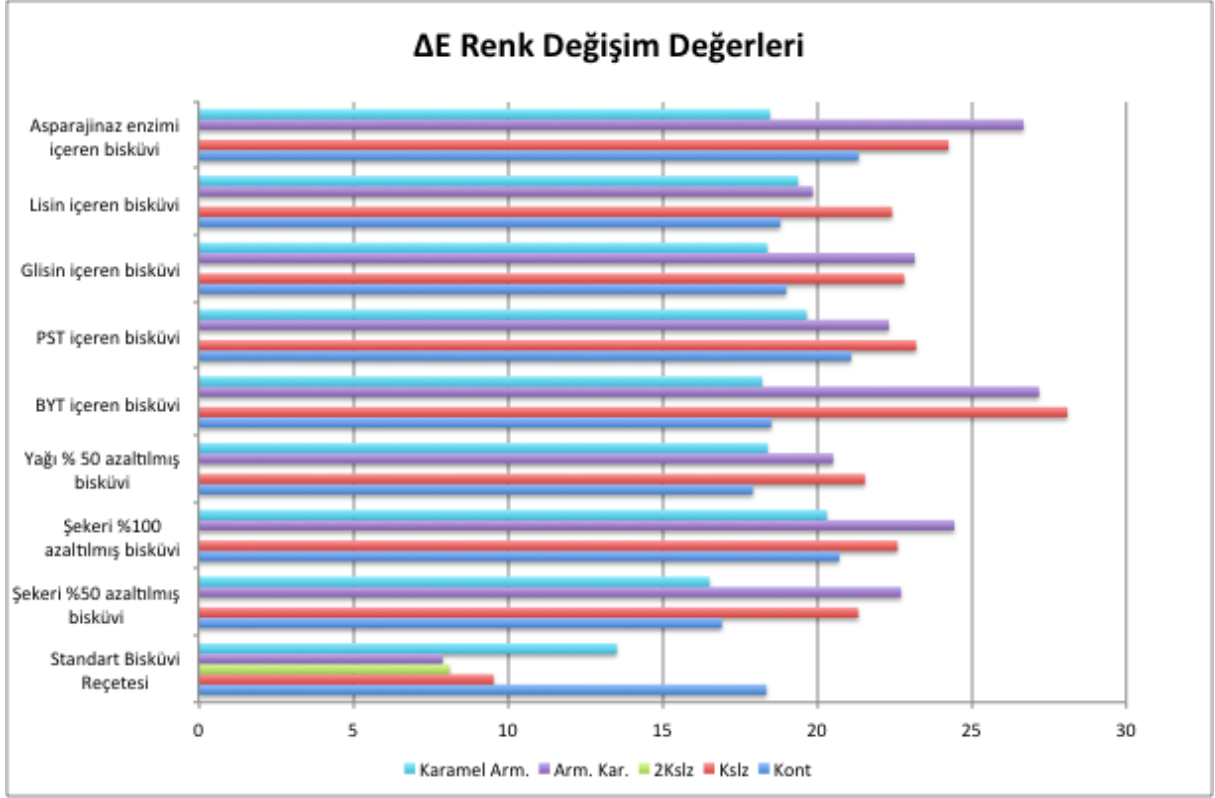
Bisküvilerde bu renk değişimini daha iyi anlamak için zamana bağlı değişimi ΔE (Euclidian distance) değeri ile belirlemek amacıyla aşağıdaki formülasyonu kullanılmıştır;

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L^* o)^2 + (a^* - a^* o)^2 + (b^* - b^* o)^2}$$

Belirlenen ΔE değerleri Çizelge 4.20’da ve Şekil 4.14’deki grafikte yer almaktadır.

Çizelge 4.20 Reçetelere ait ΔE renk değişim değerleri

Reçeteler	Kont.	Kslz.	2Kslz.	Arm. Kar.	Karamel Arm.
Standart Bisküvi Reçetesi	18,3630	9,5409	8,1150	7,8914	13,5210
Şekeri %50 azaltılmış bisküvi	16,9195	21,3328		22,7171	16,5179
Şekeri %100 azaltılmış bisküvi	20,7158	22,6037		24,4389	20,3133
Yağı % 50 azaltılmış bisküvi	17,9254	21,5490		20,5175	18,3969
BYT içeren bisküvi	18,5212	28,0961		27,1769	18,2241
PST içeren bisküvi	21,1025	23,2030		22,3236	19,6593
Glisin içeren bisküvi	19,0037	22,8154		23,1599	18,3856
Lizin içeren bisküvi	18,8119	22,4245		19,8634	19,3834
Asparajinaz enzimi içeren bisküvi	21,3412	24,2509		26,6779	18,4771



Şekil 4.14. Reçetelere ait ΔE renk değişim değerleri

Çizelge 4.20’de belirlenen ΔE renk değişimi değerlerinin reçeteler arasındaki farklılık düzeyini belirlemek için ANOVA çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Bu sonuçların ANOVA testi sonucu elde edilen genel ortalamalar Çizelge 4.21’de belirtilmiştir.

Çizelge 4.21. ΔE değerlerine ait ANOVA ortalama tablosu

ANOVA					
Değişkenler	Kareler toplamı	df	Ortalama kareleri	F	Sig
Reçeteler arasında	330,592	8	41,324	4,105	0,003
Reçeteler içinde	271,797	27	10,067		
Toplam	602,388	35			

P 0,05 önemlilik düzeyinde ΔE renk değişimi için reçeteler arasındaki farklılık anlamlı düzeydedir. Standart bisküvi reçetesi ile diğer tüm bisküvi reçeteleri arasındaki ΔE renk değişim değerleri arasındaki farklılık önemli düzeyde bulunmuştur. Her bisküvi reçetesindeki ΔE renk değişimi standart bisküvi reçetesinden farklı bir oranda olduğu belirlenmiştir. Ancak standart bisküvi reçetesi dışındaki diğer reçeteler kendi aralarında karşılaştırıldığında, ΔE renk değişiminde anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir.

Aynı reçetede farklı uygulama grupları arasındaki ΔE renk değişim değerleri incelendiğinde p 0,05 önemlilik düzeyinde anlamlı bir farklılık belirlenmemiştir. Kontrol grubu örnekleri diğer uygulamalar (ksiloz, aroma karışımı ve karamel aroması) ile karşılaştırıldığında, ve tüm uygulama grupları kendi içinde reçeteler arasında karşılaştırıldığında ΔE renk değişimi değeri anlamlı bir farklılık göstermemiştir.

4.3.1.1. L^* , a^* , b^* ve E renk değişimi değerleri ile akrilamid miktarları arasındaki ilişkinin belirlenmesi

Yapılan bu çalışmada belirlenen CIE renk değerleri $L^*a^*b^*$ ve renk değişimini ifade eden ΔE değerlerinin her biri ile akrilamid konsantrasyonu arasındaki ilişkinin derecesini ve yönünü belirlemek amacıyla korelasyon analizi yapılmıştır.

Korelasyon analizinde hesaplanan Pearson korelasyon katsayısı r ile ifade edilir ve -1 ile +1 arasında değerler alır ($-1 \leq r \leq 1$). Katsayı, ilişkinin olmadığı durumda 0, tam ve kuvvetli bir ilişki varsa 1, ters yönlü ve tam bir ilişki varsa -1 değerini alır. Aşağıdaki Çizelge 4.22.'de 9 bisküvi reçetesinde uygulanan kontrol, ksiloz, aroma karışımı ve karamel aroması uygulama grupları dikkate alınarak her bir renk değeri ve renk değişimi (ΔE) için korelasyon analizi sonucunda elde edilen Pearson korelasyon katsayıları (r) belirtilmiştir.

Çizelge 4.22. Uygulama grupları- akrilamid konsantrasyonu arasındaki Pearson korelasyon katsayıları

	L^*	a^*	b^*	ΔE
Kontrol	+0,364	-0,029	-0,440	-0,204
Ksiloz	-0,408	+0,284	-0,436	-0,01
Aroma Karışımı	-0,452	+0,647	-0,154	-0,374
Karamel Aroması	-0,491	+0,643	+0,353	-0,534

Bu çalışmada gözlem sayısı düşük olduğu için ($n=9$), az sayıda gözleme dayanan çalışmalarda korelasyon katsayısının 0,71 üzeri olması beklenir. Bu nedenle korelasyon katsayısı $0 < r < 0,49$ aralığında korelasyon zayıf, $0,5 < r < 0,74$ aralığında korelasyon orta derecede ve $0,75 < r < 1$ aralığında ise kuvvetli ilişki vardır şeklinde yorumlanır. Korelasyon katsayısı $-1 < r < 0$ aralığında iki değişken arasında negatif korelasyon vardır ve değişkenler arasında ters yönlü bir ilişki vardır şeklinde yorumlanır.

Bu durumda uygulama gruplarına ait L^* , a^* , b^* ve ΔE değerleri ile akrilamid konsantrasyonu arasındaki ilişki incelendiğinde $p < 0,01$ anlamlılık düzeyinde kontrol grubuna ait bisküvi örneklerinde L^* değeri $r=0,364$ pozitif yönde bir zayıf korelasyon bulunmaktadır. Kontrol grubu bisküvilerinde L^* değeri arttıkça aynı gruba ait örneklerdeki akrilamid konsantrasyonu da aynı yönde artış göstermiştir. Ancak aralarındaki korelasyon düşüktür. Kontrol grubuna ait diğer renk değerleri a^* ve b^* ile ΔE renk değişimi ile akrilamid konsantrasyonu arasındaki ilişki dikkate alındığında ise aralarındaki korelasyon negatif yönde belirlenmiştir.

L^* renk değerinde $p < 0,01$ anlamlılık düzeyinde diğer tüm uygulama grupları ile akrilamid konsantrasyonu arasındaki ilişki negatif yönde belirlenmiştir.

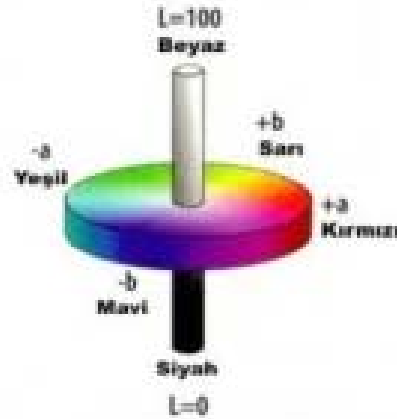
Kırmızıdan yeşile renk bileşenlerini ifade eden a^* değeri ile uygulama grupları ve akrilamid konsantrasyonu arasındaki ilişki $p < 0,01$ anlamlılık düzeyinde incelendiğinde, kontrol grubu uygulamaları ile akrilamid konsantrasyonu arasındaki korelasyon negatif yönde belirlenmiştir ($r=-0,029$). Diğer uygulama grupları ile akrilamid konsantrasyonu arasındaki ilişki ise pozitif yönde belirlenirken ksiloz uygulamaları ile akrilamid konsantrasyonu arasındaki korelasyon zayıf düzeyde ($r=0,264$), aroma karışımı ve karamel aromaları ile akrilamid konsantrasyonu arasındaki korelasyon katsayısı sırasıyla $r=0,647$ ve $r=0,643$ olarak orta derecede korelasyon belirlenmiştir.

Maviden sarıya renk bileşenleri ifade eden b^* değeri ise uygulama grupları ve akrilamid konsantrasyonu arasındaki ilişki $p < 0,01$ anlamlılık düzeyinde incelendiğinde, karamel aroması uygulaması dışında, kontrol, ksiloz ve aroma karışımı uygulamaları ile akrilamid konsantrasyonu arasındaki korelasyon negatif belirlenmiştir. Karamel aroması b^* değerleri ile akrilamid konsantrasyonu arasında ise zayıf bir korelasyon $r=0,35$ olduğu tespit edilmiştir.

Bisküvi hamurlarının pişirilmeden önceki resimlerine ait $L^*a^*b^*$ değerleri ile pişirildikten sonraki $L^*a^*b^*$ değerleri arasındaki fark dikkate alınarak hesaplanan tüm uygulamalara ait ΔE renk değişimi ve akrilamid konsantrasyonu arasında negatif yönde korelasyon olduğu belirlenmiştir ($p < 0,01$).

enk Analizleri ile İlgili Tartışma

İnsan gözü mavi, yeşil ve kırmızı olarak bilinen kısa, orta ve uzun dalga boylarını algılayan reseptörlere sahiptir. Bu da renk duyusunun tanımlanabilmesi için üç parametrenin gerektiğini göstermektedir. Bu üç parametre ile ilgili olarak, renk bilgilerinin nasıl temsil edildiğini belirten renk uzayı olarak geliştirilen spesifik metot kullanılmaktadır (Şekil 4.15). $L^*a^*b^*$ renk uzayı algısal olarak standarttır ve CIE tarafından 1976'da belirlenen en eksiksiz modeldir. L^* , a^* ve b^* arasında doğrusal olmayan ilişki insan gözünün logaritmik etkisini taklit etmek amacıyla tasarlanmıştır. Burada L^* 0-100 arası değişen parlaklık veya ışık bileşeni, a^* kırmızıdan yeşile, b^* maviden sarıya -120 ile 120 arasında değişen kromatik bileşenlerdir (Gökmen ve Sügüt 2007).



Şekil 4.15. CIE Lab renk uzayı

Melanoidinler olarak adlandırılan renk maddeleri Maillard reaksiyonunun üçüncü fazında oluşur. Melanoidinler yüksek molekül ağırlıklı maddelerdir. Melanoidinlerin yapısını araştırmak amacıyla ^{13}C - ve ^{15}N - işaretlenmiş reaktant olarak kullanıldığı D-ksiloz ve glisin içeren çalışmada melanoidinlerin yapısı hakkında çok az bilgi elde edilmiştir. Nitrojen genellikle amid formundadır ve glisine katılan kısmın yaklaşık %50'si dekarboksile olmuştur (Weenen ve Rooij 1998).

Tressl ve ark. (1998) yaptıkları çalışmada, Maillard reaksiyonuna bağlanan düşük molekül ağırlıklı öncüler ve geri dönüşümsüz renkli makromoleküller reaksiyon aşamaları boyunca yığılmamış, daha reaktif ara ürünlerle ilişkilendirilmeleri gerektiği belirtilmiştir. Pentoz ve tetrozların üstün esmerleşme aktivitelerinden dolayı, pentoz, heksoz ve disakkaritlerden kolayca oluşabilen, N-yerine geçen, C₄- ve C₅- pirol ve furan türevlerini kullanmışlardır. İşaretlenmiş veya işaretlenmemiş elementlerin kullanıldığı model çalışmalarda, ılımlı koşullarda iki tip melanoidin benzeri renkli polimer oluşturabilme imkınının yüksek olduğunu göstermişlerdir. Esmerleşme olayı ayrıca aminler ve lipid peroksidasyon ürünlerinde de N-alkil-2-(hidroksialkil), pirollerin oluşumuna dayandırılmıştır. Yapılan çalışmalarda melanoidin benzeri yapıların düşük molekül ağırlıklı renkli Maillard yoğunlaşma ürünleri ile çapraz bağlanma aktivitesi sonucu oluştuğu ileri sürülmüştür. Ancak Maillard yoğunlaşma ürünü olan düşük molekül ağırlıklı bazı ürünlerin, melanoidin oluşumu ve yapısı ile ilgili önemli rol oynadığı, yapılan çalışmalarda henüz açık değildir.

Bu çalışmada 9 reçetede 4 uygulamaya ait L^* , a^* ve b^* değerleri, reçeteler arasında ve kontrol, ksiloz, aroma karışımı ve karamel aroması uygulamaları arasında değerlendirilmiştir.

L^* değeri bakımından reçeteler arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Ksiloz, aroma karışımı ve karamel aroması uygulamaları kontrol uygulamaları ile karşılaştırıldığında ksiloz ve aroma karışımının kontrol uygulaması ile arasındaki fark önemli bulunurken, ksiloz uygulamalarına ait L^* değerleri ile karamel aroması uygulaması arasındaki fark önemli, aroma karışımı arasındaki L^* değerleri bakımından ise fark önemli bulunmamıştır. 0-100 skalasında siyahtan beyaza doğru renk dağılımını ifade eden CIE L^* değerinin ksiloz uygulaması ve aynı miktarda ksiloz içeren aroma karışımı uygulaması ile diğer uygulamalardan farklı bulunması ksilozun Maillard reaksiyonuna ve dolayısıyla renk oluşumuna etkisini desteklemektedir. Reçetelerdeki uygulama grupları L^* değerleri ile akrilamid konsantrasyonu arasındaki ilişki incelendiğinde, sadece kontrol uygulamalarında akrilamid konsantrasyonu ile L^* değerleri arasında zayıf pozitif korelasyon belirlenmiştir ($r=0,364$). Amrein ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada ise 180⁰C'de pişirilen ürünlerde L^* değeri ile akrilamid miktarı arasında korelasyon belirlenmiştir. rün rengi koyulaştıkça akrilamid konsantrasyonu artmıştır. Bu nedenle az miktarda akrilamid içeren ürünler için uzatılan pişirme süresi ve koyu renkli ürün oluşturulmasından kaçınılmalıdır. Summa ve ark. (2006) ise model bisküvilerde akrilamid oluşumu üzerine yaptıkları çalışmada L^* değeri ile akrilamid içeriği korelasyon içinde olduğu

belirtilmiştir. Eğer tüm kahverengileşme Maillard reaksiyonu sonucu oluştuğuna dayandırılacak olunursa, akrilamid içeriğinin, artan kahverengileşme oranına bağlı olarak güçlü şekilde tahmin edilebileceği belirtilmiştir.

Farklı reçetelerdeki 4 uygulamaya ait a^* renk değerleri değerlendirildiğinde ise yine 9 reçetede belirlenen a^* değerleri arasında anlamlı bir farklılık belirlenmemiştir ($p > 0,05$). Uygulama grupları CIE a^* değerleri incelendiğinde ise kontrol grubu örnekleri ile ksiloz ve aroma karışımı örneklerine ait a^* değerleri arasında anlamlı bir farklılık belirlenmiş, ancak kontrol grubu örnekleri ile karamel aroması uygulamasına ait örneklerin a^* değerleri arasındaki farklılık önemli düzeyde bulunmamıştır. Aroma karışımı uygulama grubu ile ksiloz uygulama grubuna ait a^* değerleri arasındaki farklılık da anlamlı düzeyde bulunmuştur. Aynı reçetede ksiloz uygulaması ve aynı miktarda ksiloz içeren aroma karışımı uygulaması -120 ve 120 aralığında yeşilden kırmızıya renk dağılımını ifade eden a^* değerine etkisi önemli bulunmuştur. Bu sonuçlar da yine ksilozun Maillard reaksiyonu ve dolayısıyla renk oluşumu üzerine etkisini göstermektedir. Ksiloz uygulama grubu ile aroma karışımı uygulama grubu arasındaki anlamlı farklılık incelendiğinde aroma karışımı uygulama grubunda tüm reçetelerde CIE a^* değeri artış göstererek renk dağılımını yeşilden kırmızıya doğru ilerlemiştir.

Reçeteler arasındaki uygulama gruplarının a^* değerleri ile akrilamid konsantrasyonu arasındaki ilişki incelendiğinde aroma karışımı ve karamel aroması uygulama gruplarının a^* değerleri ile aynı gruba ait akrilamid konsantrasyonu arasında orta derecede bir korelasyon belirlenmiştir ($r=0,647$ ve $r= 0,643$). Ksiloz uygulama gruplarına ait a^* değerleri ile aynı gruba ait akrilamid konsantrasyonu arasında belirlenen korelasyon ise zayıf düzeydedir ($r=0,284$). Gökmen ve ark. (2008a)'nın yaptıkları çalışmada, bazı durumlarda CIE kırmızılık parametresinde renk oluşumu, bisküvilerde akrilamid oluşumuyla benzerlik gösterdiği belirtilmiştir. Akrilamid ve renk oluşumu dört reçetede, reçete ve pişirme koşullarına bağlı olarak farklılık göstermekle birlikte, CIE kırmızılık parametresi ile akrilamid konsantrasyonu arasındaki korelasyon, esmerleşme oranından daha düşük olarak ($r=0,861$) belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre, kırmızılık parametresinin tek başına akrilamid konsantrasyonu ile ilgili güvenilir bir öngörü olmadığını sonucunu çıkartmışlardır.

Renk analizleri sonucu belirlenen b^* değerlerinde yapılan çoklu karşılaştırma testlerinde ise, standart bisküvi reçetesi ile şekeri %50 ve %100 azaltılmış bisküvi reçetesi, PST içeren, asparajinaz enzimi içeren bisküvi reçeteleri arasındaki farklılık önemli bulunmuştur.

Reçetelerin şeker oranı, PST ve asparajinaz enzimi ilave edilmesi bisküvilerin b^* değeri sarılık tonundaki değişime etki etmektedir. Şekeri %50 azaltılmış reçete ile yağı %50 azaltılmış, BYT içeren, glisin ve lizin içeren bisküvi reçetelerinin b^* değerleri arasındaki farklılık da önemli bulunmuştur. Uygulama gruplarına ait b^* değerleri ile akrilamid konsantrasyonu arasındaki ilişki incelendiğinde ise sadece karamel aroması uygulama grubuna ait sarılık tonunu ifade eden b^* değerleri ile akrilamid konsantrasyonu arasında zayıf bir korelasyon belirlenmiştir ($r=0,353$).

Ashoor ve Zent (1984) amino asitlerin Maillard reaksiyonundaki reaktivitelerini incelemek için renk yoğunluklarını karşılaştırmışlardır. Lizin, glisin, triptofan ve tirozin en yoğun kahverengiliği verirken, bunu pirolin, lösin, izolosin, alanin, hidroksipirolin, fenilalanin, metiyonin, valin ve amid içeren amino asitler glutamin ve asparajin izlemiştir ve sistein ise en düşük kahverengileşme oluşturan amino asit olarak belirlenmiştir.

Claeys ve ark (2005) yaptıkları çalışmada amino asitlerin glikoz ile 121°C 'de 10 dakika reaksiyonu sonucu amino asitleri artan kahverengileşme özelliklerine göre üç gruba ayırmışlardır. En reaktif grup lizin'i içermektedir. Asparajin, glutamin ve alanin orta derecede kahverengileşme sağlayan amino asitler arasında yer alırken, üçüncü en düşük kahverengileşme sağlayan amino asit grubunun içinde sistein bulunmaktadır.

Her bir reçete için hazırlanan hamur örneklerine ait resimlerde belirlenen L^*a^*b değerleri dikkate alınarak renk değişimini ifade eden ΔE değerleri hesaplanmıştır. Belirlenen ΔE renk değişim değerleri Çizelge 4.20 ve Şekil 4.14'de belirtilmiştir. Bu değerler ile akrilamid konsantrasyonu arasındaki ilişkiyi belirlemek üzere yapılan çalışmada kontrol, ksiloz, aroma karışımı ve karamel uygulamaları gruplarına ait ΔE renk değişim değerleri ile akrilamid konsantrasyonu arasında negatif korelasyon belirlenmiştir. Bu çalışmada renk değişiminin yüksek olması ile akrilamid konsantrasyonunun yüksek olması arasında bir ilişki yoktur.

ΔE renk değişim değerleri reçeteler arasında incelendiğinde kontrol uygulama grubunda şekerin ve yağın %50 azaltılması renk değişimini azaltırken, şekeri %100 azaltılmış ve PST kullanılmış reçetelerde renk değişimi artmıştır. Ksiloz ve aroma karışımı uygulama grubundaki renk değişimi kontrol ve karamel aroması uygulamalarından daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ksiloz ve aroma karışımı uygulamalarındaki renk değişimi tüm reçetelerde

standart bisküvi reçetesinden daha yüksek olup, en yüksek ΔE renk değişimi BYT kullanılmış reçetede belirlenmiştir.

Capuano ve ark. (2008) ekmek gevreklerinde yaptıkları çalışmada glisin ilavesinin kahverengi renk gelişimi üzerine büyük etkisi olduğu, glisin içeren gevreklerin L^* değerinin büyük ölçüde azaldığı ve ΔE değerinin her sıcaklıkta diğer örneklerden daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

Sonuç olarak bu çalışmada kırmızılık dağılımını ifade eden a^* renk değerlerinde karamel aroması ve aroma karışımı uygulamalarının akrilamid konsantrasyonu arasında orta dereceli korelasyon ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Karamel aroması ve aroma karışımı uygulama gruplarında kırmızılık arttıkça akrilamid konsantrasyonunun da arttığı belirlenmiştir. Yapılan diğer çalışmaların (Gökmen ve ark. 2008b, Capuano ve ark. 2008, Lorenzo ve ark. 2009) aksine bu çalışmada ΔE renk değişim değerleri ile akrilamid konsantrasyonu arasında bir ilişki belirlenememiştir. Bunun nedeni renk analizlerindeki örnek sayısının az olması ile açıklanabilir.

4.4. pH ve Su aktivitesi (a_w) Analizleri Araştırma Bulguları ve Tartışma

Hamur Örneklerinde pH Analizleri Araştırma Bulguları

Dokuz bisküvi reçetesi ile hazırlanan hamur örneklerinin pH analizleri sonucu elde edilen değerler Çizelge 4.23 ve Şekil 4.16’da verilmiştir.

pH analiz sonuçlarında elde edilen değerlere göre hamur örneklerinde en düşük pH değeri 7,62 (PST içeren reçetenin kontrol uygulaması), en yüksek pH değeri ise 8,14 (şekeri %100 azaltılmış reçetenin kontrol uygulaması) olarak belirlenmiştir.

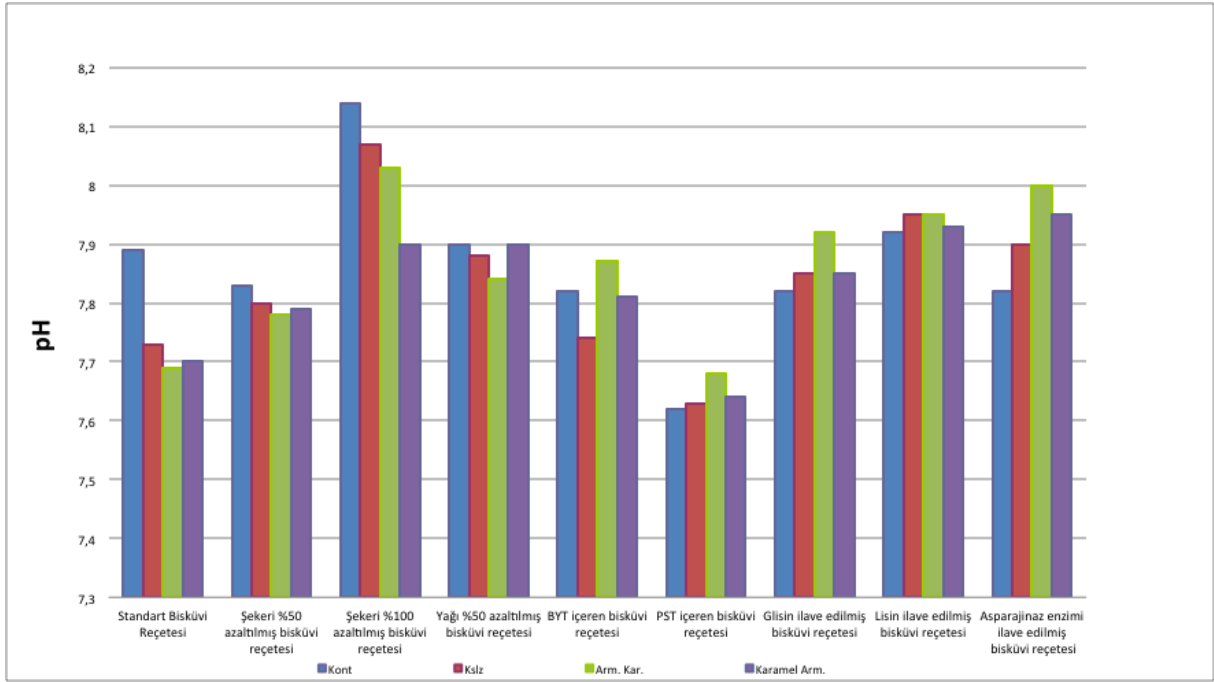
Şeker miktarının düşürülmesi genel olarak hamurda pH değerinin artmasına neden olmuştur. En yüksek pH değerleri şekeri %100 azaltılmış reçeteye ait uygulamaların hamurlarında tespit edilmiştir. PST kullanılan reçeteye ait uygulamaların hamur örneklerinde ise en düşük pH değerleri belirlenmiştir. Yağın %50 azaltılması, BYT kullanılması, glisin, lizin veya asparajinaz enzimi ilaveleri hamurun pH değerinin düşmesine neden olmuştur.

Çizelge 4.23. Hamur örneklerine ait ortalama pH değerleri

Reçeteler	PH				
	Kont.	Kslz.	2Kslz.	Arm. Kar.	Karamel Arm.
Standart Bisküvi Reçetesi	7,89	7,73	7,67	7,69	7,70
Şekeri %50 azaltılmış bisküvi reçetesi	7,83	7,80		7,78	7,79
Şekeri %100 azaltılmış bisküvi reçetesi	8,14	8,07		8,03	7,90
Yağı %50 azaltılmış bisküvi reçetesi	7,90	7,88		7,84	7,90
BYT içeren bisküvi reçetesi	7,82	7,74		7,87	7,81
PST içeren bisküvi reçetesi	7,62	7,63		7,68	7,64
Glisin ilave edilmiş bisküvi reçetesi	7,82	7,85		7,92	7,85
Lizin ilave edilmiş bisküvi reçetesi	7,92	7,95		7,95	7,93
Asparajinaz enzimi ilave edilmiş bisküvi reçetesi	7,82	7,90		8,0	7,95

Aynı reçete içinde belirlenen pH değerlerinde standart bisküvi reçetesi, şekeri %50 ve %100 azaltılan bisküvi reçeteleri ve yağı %50 azaltılmış bisküvi reçetesinde aroma karışımı

uygulamalarının pH değeri kontrol uygulamasından daha düşük belirlerken, BYT içeren, PST içeren, glisin, lisin ve asparajinaz enzimi kullanılmış diğer reçetelerde aroma karışımı uygulaması pH değerini arttırmıştır. Şekil 4.16'da hamur örneklerine ait pH değerleri görülmektedir.



Şekil 4.16. Bisküvi hamurlarının pH değerleri

Dokuz farklı bisküvi reçetesinde yapılan pH analiz sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesi yapılmıştır. Dokuz reçetenin ortalama vektörleri arasında farklılık olup olmadığını anlamak için MANOVA testi, farklılığın hangi ingredienden kaynaklandığını araştırmak için de Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır.

Reçeteler için yapılan Wilks' Lambda testinde ($p < 0,05$) grup ortalama vektörleri arasında fark tespit edilmiştir ve reçeteler arasındaki farklılık önemli bulunmuştur. Reçeteler arasında farklılığa neden olan değişkenlerin hangileri olduğunu belirlemek için yapılan testlerde (Test of Between-Subjects Effects) farklı reçetelerde uygulanan kontrol, ksiloz, karamel aroması ve aroma karışımı uygulamalarının reçeteler arasında farklılığa etkisi olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$). Reçetelerde uygulanan değişkenlere ait genel ortalamalar Çizelge 4.24'de verilmiştir.

Çizelge 4.24. Reçetelerde uygulanan değişkenlere ait pH genel ortalamaları

Değişkenler	Genel Ortalama		%95 Güven Aralığı	
	Ortalama	Std. Sapma	Alt sınır	st sınır
Kontrol	7,862	0,019	7,822	7,903
Ksiloz	7,839	0,019	7,798	7,879
Karamel aroması	7,862	0,019	7,822	7,903
Aroma Karışımı	7,830	0,019	7,790	7,870

Farklılığın hangi uygulamadan kaynaklandığını araştırmak için yapılan Tukey testine göre kontrol uygulaması için standart bisküvi reçetesi, şekeri %50 azaltılmış reçete, yağı %50 azaltılmış reçete, BYT kullanılmış reçete, PST kullanılmış reçete, glisin ve asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçete arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır. Bunlar pH değerleri açısından birbirine benzerdir.

Standart bisküvi reçetesi, şekeri %50 azaltılmış reçete, yağı %50 azaltılmış reçete, BYT kullanılmış reçete, glisin ve lisin kullanılmış reçete ve asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçeteler arasındaki farklılık önemli değildir.

Standart bisküvi reçetesi, şekeri %50 azaltılmış reçete, yağı %50 azaltılmış reçete ve lisin kullanılmış reçete arasındaki farklılık önemli değildir (p 0,05).

Şekeri %50 ve %100 azaltılmış reçeteler arasındaki fark önemlidir. Şekeri %100 azaltılmış reçete ile BYT kullanılmış, PST kullanılmış, glisin kullanılmış ve asparajinaz enzimi kullanılmış reçeteler arasındaki fark önemlidir. PST kullanılmış reçete ile lisin kullanılmış reçete arasındaki farklılık önemlidir (p 0,05).

pH değerleri ksiloz uygulaması için değerlendirildiğinde; standart bisküvi reçetesi, şekeri %50 azaltılmış reçete, yağı %50 azaltılmış reçete, BYT kullanılmış reçete, PST kullanılmış reçete, glisin kullanılan reçete ve asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçete arasındaki farklılık önemli değildir.

Standart bisküvi reçetesi, şekeri %50 azaltılmış, yağı %50 azaltılmış, BYT kullanılmış, glisin kullanılmış, lisin kullanılmış ve asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçeteler arasındaki farklılık önemli değildir. Şekeri %50 azaltılmış, şekeri %100 azaltılmış, yağı %50 azaltılmış, glisin ve lisin ilave edilmiş ve asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçeteler arasındaki farklılık önemli değildir (p 0,05).

Standart bisküvi reçetesi ile şekeri %100 azaltılmış reçete arasındaki fark önemlidir. Şekeri %50 azaltılmış reçete ile BYT ve PST kullanılmış reçete arasındaki farklılık önemlidir. PST kullanılmış reçete ile lisin kullanılmış reçete arasındaki farklılık önemlidir (p 0,05).

pH değerleri aroma karışımı uygulaması için değerlendirildiğinde; Standart bisküvi reçetesi, şekeri %50 azaltılmış reçete, yağı %50 azaltılmış reçete, BYT kullanılmış reçete, PST kullanılmış reçete, glisin ve lisin kullanılmış reçete arasındaki farklılık önemli değildir.

Şekeri %50 azaltılmış reçete, şekeri %100 azaltılmış reçete, yağı %50 azaltılmış reçete, BYT kullanılmış reçete, glisin ve lisin kullanılmış reçete, asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçete arasındaki farklılık önemli değildir (p 0,05).

Standart bisküvi reçetesi ile şekeri %50 azaltılmış ve asparajinaz enzimi kullanılmış reçete arasındaki farklılık önemlidir. Şekeri %100 azaltılmış ve PST kullanılmış reçete arasındaki farklılık önemlidir. PST kullanılmış reçete ile asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçete arasındaki farklılık önemlidir (p<0,05).

pH değerleri karamel aroması uygulaması için değerlendirildiğinde; standart bisküvi reçetesi, şekeri %50 ve %100 azaltılmış reçete, yağı %50 azaltılmış, BYT kullanılmış, PST kullanılmış, glisin kullanılmış reçeteler arasındaki farklılık önemli düzeyde değildir.

Standart bisküvi reçetesi, şekeri %50 azaltılmış, şekeri %100 azaltılmış, yağı %50 azaltılmış, BYT kullanılmış, glisin ve lisin kullanılmış, asparajinaz enzimi ilave edilmiş bisküvi reçeteleri arasındaki farklılığın önemli olmadığı tespit edilmiştir (p<0,05).

Sadece PST kullanılmış reçete ile lizin kullanılmış reçete ve asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçete arasındaki farklılık önemli bulunmuştur (p 0,05). Hamur örneklerine ait ortalama pH değerleri Çizelge 4.23’de görülmektedir.

Hamur Örneklerinde Su Aktivitesi (a_w) Analizleri Araştırma Bulguları

Dokuz bisküvi reçetesi ile hazırlanan hamur örneklerine ait su aktivitesi (a_w) değerleri Çizelge 4.25’te belirtilmiştir.

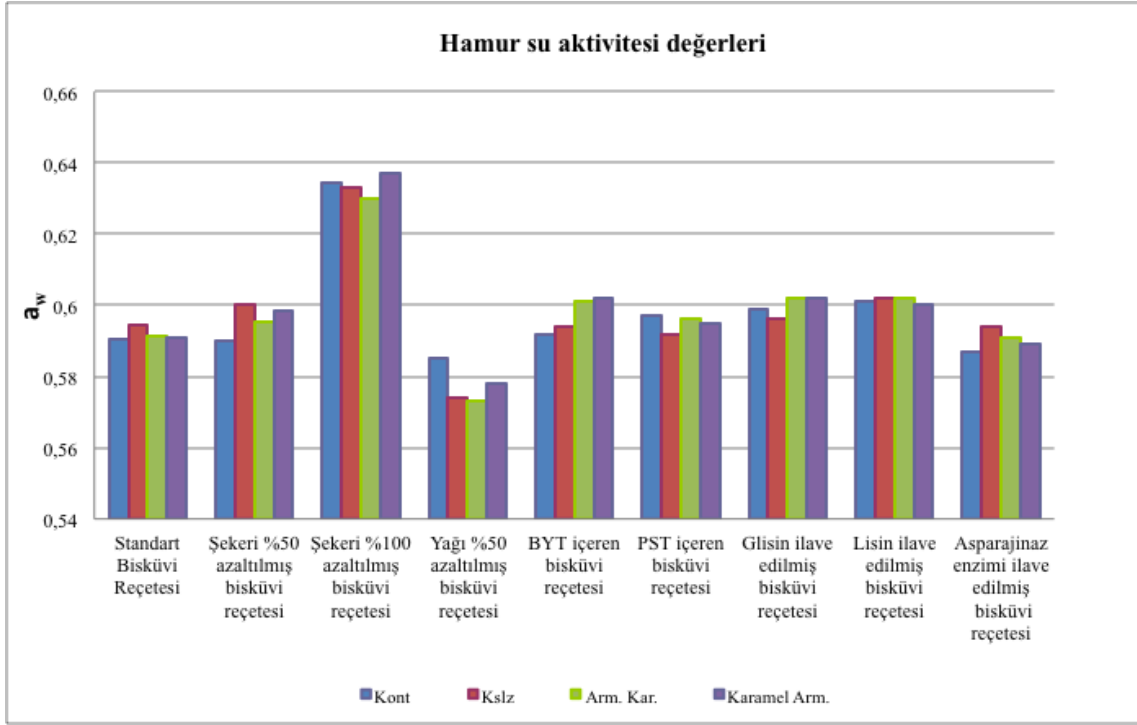
Hamur örneklerinde yapılan su aktivitesi analizlerine göre en yüksek su aktivitesi değeri 0,64 olarak şekeri azaltılmış reçetenin kontrol ve karamel aroması uygulamalarında belirlenirken, en düşük su aktivitesi değeri 0,57 olarak yağı %50 azaltılmış reçetenin ksiloz ve aroma karışımı uygulamalarında tespit edilmiştir.

Çizelge 4.25. Hamur örneklerine ait ortalama su aktivitesi (a_w) değerleri

Reçeteler	Su aktivitesi (a_w)				
	Kont.	Kslz.	2Kslz.	Arm. Kar.	Karamel Arm.
Standart Bisküvi Reçetesi	0,59	0,60	0,59	0,59	0,60
Şekeri %50 azaltılmış bisküvi reçetesi	0,59	0,6		0,60	0,60
Şekeri %100 azaltılmış bisküvi reçetesi	0,64	0,63		0,63	0,64
Yağı %50 azaltılmış bisküvi reçetesi	0,59	0,57		0,57	0,58
BYT içeren bisküvi reçetesi	0,59	0,59		0,60	0,60
PST içeren bisküvi reçetesi	0,60	0,59		0,60	0,60
Glisin ilave edilmiş bisküvi reçetesi	0,60	0,60		0,60	0,60
Lizin ilave edilmiş bisküvi reçetesi	0,60	0,60		0,60	0,6
Asparajinaz enzimi ilave edilmiş bisküvi reçetesi	0,59	0,59		0,59	0,59

Hazırlanan tüm reçeteler arasında şekeri %100 azaltılmış bisküvi reçetesine ait hamur örneklerinin analiz sonuçlarında en yüksek su aktivitesi değerleri belirlenmiştir. Yağın %50 azaltıldığı reçeteye ait hamur örneklerinin su aktivitesi değerleri ise 9 reçete içindeki en düşük

su aktivitesi değerleri olarak saptanmıştır. Aynı reçete içindeki farklı uygulamalara ait hamur örnekleri arasındaki su aktivitesi değerlerinin birbirine çok yakın olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.17. Hamur örneklerine su aktivitesi değerleri grafiği

Dokuz (9) farklı bisküvi reçetesinde yapılan su aktivitesi analiz sonuçlarının istatistik değerlendirilmesi yapılmıştır. Dokuz reçetenin ortalama vektörleri arasında farklılık olup olmadığını anlamak için MANOVA testi kullanılmıştır. Farklılığın hangi ingredienden kaynaklandığını araştırmak için de Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır.

Reçeteler için yapılan Wilks' Lambda testinde (p 0,05) grup ortalama vektörleri arasında fark tespit edilmiş ve reçeteler arasındaki farklılık önemli bulunmuştur. Reçeteler arasında farklılığa neden olan değişkenlerin hangileri olduğunu belirlemek için yapılan testlerde (Test of Between-Subjects Effects) farklı reçetelerde uygulanan kontrol, ksiloz, karamel aroması ve aroma karışımı uygulamalarının reçeteler arasında farklılığa etkisi olduğu belirlenmiştir (p 0,05). Reçetelerde uygulanan değişkenlere ait genel ortalamalar Çizelge 4.26'de belirtilmiştir.

Çizelge 4.26. Reçetelerde uygulanan değişkenlere ait hamur örneklerinin su aktivitesi (a_w) genel ortalamaları

Genel Ortalama				
Değişkenler	Ortalama	Std. Sapma	%95 Güven Aralığı	
			Alt sınır	st sınır
Kontrol	0,597	0,000	0,596	0,598
Ksiloz	0,598	0,001	0,596	0,599
Karamel aroması	0,600	0,001	0,598	0,601
Aroma Karışımı	0,598	0,001	0,595	0,601

Farklılığın hangi uygulamadan kaynaklandığını araştırmak için yapılan Tukey testine göre kontrol uygulaması için standart bisküvi reçetesi, şekeri %50 azaltılmış reçete, yağı %50 azaltılmış reçete ve asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçetelere ait hamur su aktivitesi değerleri arasındaki farklılık önemli değildir. Standart bisküvi reçetesi, şekeri %50 azaltılmış reçete, BYT kullanılmış ve asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçetelere ait hamur su aktivitesi değerleri arasındaki farklılık da önemli düzeyde bulunmamıştır. BYT kullanılmış ve PST kullanılmış reçete arasında fark yoktur. PST, glisin ve lisin kullanılmış reçetelere ait hamur su aktivitesi değerleri arasındaki farklılığın da anlamlı düzeyde olmadığı tespit edilmiştir ($p < 0,05$).

Ksiloz uygulaması için farklı reçetelere ait hamur su aktivitesi değerleri karşılaştırıldığında yağı %50 azaltılmış ve şekeri %100 azaltılmış reçetenin her ikisinin de diğer tüm reçetelerle aralarındaki farklılık önemli bulunmuştur. BYT ve PST kullanılan reçete, standart bisküvi reçetesi, şekeri %50 azaltılmış reçete, glisin kullanılmış reçete ve asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçeteler arasındaki farklılık önemli değildir. Standart bisküvi reçetesi, şekeri %50 azaltılmış, BYT kullanılmış, glisin ve lisin kullanılmış, asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçeteler arasındaki farklılık da önemli düzeyde değildir.

Karamel aroması uygulaması için reçetelere ait hamur su aktivitesi değerleri değerlendirildiğinde ise, yağı %50 azaltılmış reçete ve şekeri %100 azaltılmış reçetelerin su aktivitesi değerleri ile diğer tüm reçeteler arasındaki farklılık önemli bulunmuştur. Standart bisküvi reçetesi, şekeri %50 azaltılmış reçete, PST kullanılmış, lisin kullanılmış ve

asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçeteler arasındaki farklılık ise önemli değildir. Şekeri %50 azaltılmış reçete, BYT ve PST kullanılmış, glisin ve lizin kullanılmış, asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçetelerin her birinin birbirleri arasındaki farklılığın önemli olmadığı belirlenmiştir.

Aroma karışımı için yapılan Tukey testi sonuçlarına göre ise; şekeri %100 azaltılmış reçeteye ait su aktivitesi değerleri diğer tüm reçetelerden farklıdır. Yağı %50 azaltılmış, standart bisküvi reçetesi ve asparajinaz enzimi kullanılmış reçetelerin hamur su aktivitesi değerleri arasındaki farklılık önemli değildir. Standart bisküvi reçetesi, şekeri %50 azaltılmış reçete, BYT ve PST kullanılmış, glisin ve lizin kullanılmış, asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçetelerin arasındaki farklılığın da önemli düzeyde olmadığı saptanmıştır. Hamur örneklerine ait su aktivitesi ortalama değerleri Çizelge 4.25’de ve Şekil 4.17’de görülmektedir.

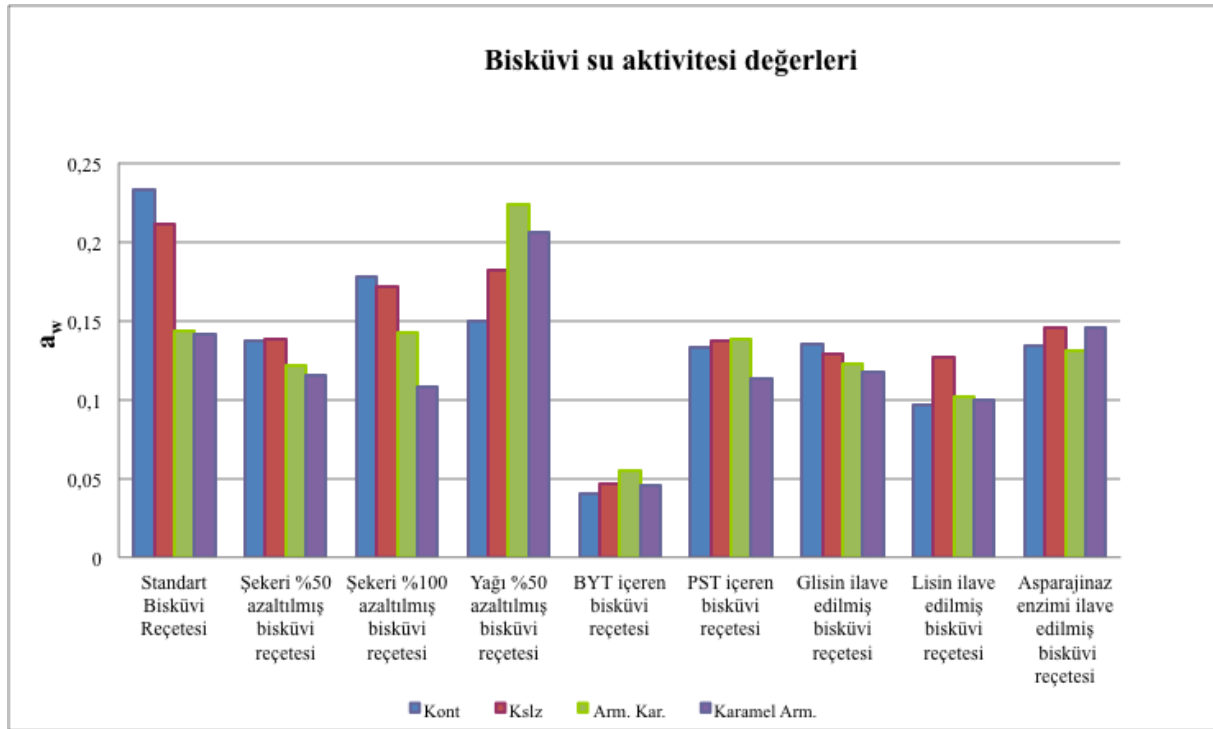
4.4.3 Bisküvi Örneklerinde Su Aktivitesi (a_w) Analizleri Araştırma Bulguları

Dokuz bisküvi reçetesi ile hazırlanan bisküvi örneklerine ait su aktivitesi (a_w) değerleri Çizelge 4.27 ve Şekil 4.18’de görülmektedir.

Bisküvi örneklerinde yapılan su aktivitesi analizlerinde en yüksek değer 0,23 olarak standart bisküvi reçetesinin kontrol örneklerinde belirlenirken, en düşük değer 0,04 olarak BYT içeren reçetenin kontrol örneklerinde tespit edilmiştir. Kontrol ve ksiloz uygulamalarında en yüksek su aktivitesi değeri standart bisküvi reçetesinde tespit edilmiştir. Aroma karışımı ve ksiloz uygulamalarına ait en yüksek su aktivitesi değeri ise yağı %50 azaltılmış reçeteye ait örneklerde belirlenmiştir.

Çizelge 4.27. Bisküvi örneklerine ait ortalama su aktivitesi (a_w) değerleri

Reçeteler	Su aktivitesi (a_w)				
	Kont.	Kslz.	2Kslz.	Arm. Kar.	Karamel Arm.
Standart Bisküvi Reçetesi	0,233	0,211	0,179	0,1435	0,141
Şekeri %50 azaltılmış bisküvi reçetesi	0,137	0,138		0,121	0,115
Şekeri %100 azaltılmış bisküvi reçetesi	0,178	0,171		0,142	0,108
Yağı %50 azaltılmış bisküvi reçetesi	0,15	0,182		0,224	0,206
BYT içeren bisküvi reçetesi	0,04	0,047		0,055	0,045
PST içeren bisküvi reçetesi	0,133	0,137		0,138	0,113
Glisin ilave edilmiş bisküvi reçetesi	0,135	0,129		0,123	0,117
Lisin ilave edilmiş bisküvi reçetesi	0,097	0,127		0,102	0,1
Asparajinaz enzimi ilave edilmiş bisküvi reçetesi	0,134	0,145		0,131	0,145



Şekil 4.18. Bisküvi örneklerine su aktivitesi değerleri grafiği

Dokuz farklı bisküvi reçetesinde yapılan su aktivitesi analiz sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesi yapılmıştır. Dokuz reçetenin ortalama vektörleri arasında farklılık olup olmadığını anlamak için MANOVA testi kullanılmıştır. Farklılığın hangi ingredienden kaynaklandığını araştırmak için de Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır.

Reçeteler için yapılan Wilks' Lambda testinde ($p < 0,05$) grup ortalama vektörleri arasında fark tespit edilmiş ve reçeteler arasındaki farklılık önemli bulunmuştur. Reçeteler arasında farklılığa neden olan değişkenlerin hangileri olduğunu belirlemek için yapılan testlerde (Test of Between-Subjects Effects) farklı reçetelerde uygulanan kontrol, ksiloz, karamel aroması ve aroma karışımı uygulamalarından ksiloz, ve aroma karışımının farklılığa etkisi yokken, kontrol ve karamel aromasının reçeteler arasında farklılığa etkisi olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$). Reçetelerde uygulanan değişkenlere ait bisküvi su aktivitesi genel ortalamaları Çizelge 4.27'de belirtilmiştir.

Çizelge 4.28. Reçetelerde uygulanan değişkenlere ait bisküvi örnekleri su aktivitesi genel ortalamalar

Genel Ortalama				
Değişkenler	Ortalama	Std. Sapma	%95 Güven Aralığı	
			Alt sınır	st sınır
Kontrol	0,136	0,002	0,132	0,140
Ksiloz	0,153	0,010	0,131	0,174
Karamel aroması	0,119	0,000	0,118	0,120
Aroma Karışımı	0,134	0,000	0,134	0,135

Farklılığın hangi uygulamadan kaynaklandığını araştırmak için yapılan Tukey testine göre kontrol uygulaması için BYT kullanılmış ve lisin kullanılmış reçetelerin her ikisinin de diğer reçetelerle arasındaki farklılık önemli bulunmuştur. Şekeri %50 azaltılmış, PST kullanılmış, glisin kullanılmış ve asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçeteler arasındaki farklılık önemli değildir. Şekeri %50 azaltılmış, yağı %50 azaltılmış, glisin kullanılmış ve asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçeteler arasındaki farklılık da önemli düzeyde değildir. Şekeri %100 azaltılmış

ve yağı%50 azaltılmış reçete arasında fark yoktur. Şekeri %100 azaltılmış ve standart bisküvi reçetesi arasındaki farklılık da kontrol uygulaması bakımından önemli değildir (p 0,05).

Ksiloz uygulamalarının farklı reçetelerine ait su aktivitesi (a_w) değerleri karşılaştırıldığında, şekeri %50 azaltılmış, şekeri %100 azaltılmış, yağı %50 azaltılmış, BYT ve lisin kullanılan reçeteler ve asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçeteler arasındaki farklılık önemli bulunmuştur. Standart bisküvi reçetesi, şekeri %50 azaltılmış, şekeri%100 azaltılmış, yağı %50 azaltılmış, PST kullanılmış, lisin kullanılmış ve asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçeteler arasındaki farklılık da önemli düzeyde değildir (p 0,05).

Karamel aroması uygulamalarına ait su aktivitesi değerleri karşılaştırıldığında BYT kullanılmış reçete, lisin kullanılmış reçete, yağı %50 azaltılmış reçete ve asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçetelerin her birinin diğer reçetelerle arasındaki farklılığı önemli bulunmuştur. Şekeri %100 azaltılmış reçete ile PST kullanılmış reçete arasında fark yoktur. Standart bisküvi reçetesi, şekeri %50 azaltılmış, PST kullanılmış ve glisin kullanılmış reçeteler arasındaki farklılık önemli değildir (p 0,05).

Aroma karışımı uygulamalarına ait su aktivitesi değerleri reçeteler arasında karşılaştırıldığında ise; PST kullanılmış reçete, lisin kullanılmış reçete, asparajinaz enzimi kullanılmış reçete, standart bisküvi reçetesi ve yağı %50 azaltılmış reçetelerin her birinin diğer reçetelerden farkı önemli bulunmuştur. Şekeri %50 azaltılmış reçete ile glisin kullanılmış reçetelerin su aktivitesi değerleri arasındaki farklılık önemli değildir. Şekeri %100 azaltılmış reçete ile PST kullanılmış reçete arasında fark yoktur (p<0,05).

Aroma karışımı uygulamaları için su aktivitesi değerlerinde değişkenliğe neden olan reçeteler standart bisküvi reçetesi, yağı %50 azaltılmış reçete, BYT kullanılmış reçete ve lisin kullanılmış reçete olarak tespit edilmiştir.

4.4.4 pH ve Su Aktivitesi Analizleri İle İlgili Tartışma

Dokuz bisküvi reçetesinde 4 farklı uygulamaya ait hamur örneklerinin pH ve su aktivitesi analizlerinin yanı sıra , bisküvi örneklerinde de su aktivitesi analizi yapılarak elde edilen sonuçlar incelenmiştir. Bisküvi reçetelerine ait hamurun pişirilmeden önce yapılan pH analizinde en düşük değer PST içeren reçetenin kontrol uygulamalarında pH 7,62 olarak

belirlenirken, en yüksek değer ise şekeri %100 azaltılmış reçetenin kontrol uygulamalarında pH 8,14 olarak belirlenmiştir. Ksilozun iki katına çıkarıldığı standart bisküvi reçetesinde pH 7,89'dan 7,67'ye düşerken pirazinlerin alan değerleri yaklaşık iki katına çıkmıştır.

pH'in pirazin oluşumu üzerine etkisi sıcaklıkla ilişkilidir. Yüksek sıcaklıkta (180°C) pirazin oluşumu pH'dan kısmen etkilenir. Daha düşük sıcaklıklarda ise (140°C ve 100°C) alkali reaksiyon sisteminde (pH 8,5), nötr sistemden daha yüksek pirazin miktarı belirlenmiştir. Ancak reaksiyon sıcaklığı ve pH, iki farklı amin grubunun (veya) pirazin oluşumu için reaksiyona katılımına hiçbir zaman etki etmemektedir (Hwang ve ark. 1994).

Bu çalışmada ise 190°C'de pişirilen bisküvilerden tüm pirazinlerin en yüksek alan değerinin belirlendiği reçeteler BYT içeren (pH 7,74-7,87; $a_w = 0,04-0,055$) örneklere ait iken pirazinlerin alan değerinin en düşük olduğu reçete asparajinaz enzimi içeren reçetede (pH 7,82-8,0; $a_w = 0,131-0,145$) belirlenmiştir.

Cerny ve Briffod (2007) ise pH'in 4,0-7,0 aralığında 13C5 ksiloz, sistein ve tiamin model sisteminde Maillard reaksiyonu sonucu sülfür oluşumunu inceledikleri çalışmada genel olarak pH'in hangi uçucu molekülün, hangi miktarda oluşacağını belirleyen faktör olduğunu belirtmişlerdir.

Cremer ve Eicher (2000)'in glikoz ve lösinin Maillard reaksiyonu sırasında pH'ın 3-metilbutanal oluşumu üzerine etkisini incelemişler ve aldehidin oluşum oranının pH 7'de, pH 3 ve pH 5'de daha yüksek olduğunu göstermişlerdir.

Bu çalışmada ise kontrol uygulamaları karşılaştırıldığında 3-metilbutanal değerinin en yüksek alan değerleri BYT içeren reçetede (pH 7,74-7,87), en düşük alan değeri ise asparajinaz enzimi kullanılan reçetede (pH 7,82-8,0) belirlenmiştir.

Gökmen ve ark. (2008b) kabartıcı ajanların ve şekerin pişirme sırasında bisküvilerde hidroksimetilfurfural oluşumuna etkisini inceledikleri çalışmada, farklı reçeteler arasında kabartıcı ajanların etkisiyle, pH değerleri arasında da büyük fark belirlenmiştir. Sukroz ve sodyum bikarbonat içeren reçetenin pH değeri, 220°C'de 25 dk pişirilen örneğin dışındaki tüm sıcaklıklarda pişirilen örneklere pH 9,0'un üzerinde belirlenmiştir. Amonyum bikarbonat kullanılması pişirme prosesinden sonra bisküvilerin asitliğini yükselttiği

belirtilmiştir. Sodyum bikarbonatın kullanıldığı reçetede sukrozun stabilitesinin yüksek olması, sükroz hidrolizinin alkali koşullarda sınırlandırılmış olabileceği şeklinde değerlendirilmiştir. Amonyum bikarbonat yerine sodyum bikarbonat kullanılması bisküvilerin pH değerini 9,0-10,0 arasında olmasına neden olarak sükroz hidrolizini sınırlandırmıştır. Reaktif şekerlerin sınırlandırılması bir Maillard ara ürünü olan HMF oluşumunu da sınırlandırmıştır.

Hamur ve bisküvi örneklerinin su aktivitesi analiz sonuçları değerlendirildiğinde en yüksek su aktivitesi değeri 0,64 (şekeri %100 azaltılmış reçete) olarak belirlenirken, en düşük su aktivitesi değeri ise 0,57 (Yağı % 50 azaltılmış reçete) olarak belirlenmiştir. Hamur örneklerinde yapılan su aktivitesi analiz sonuçlarına göre sadece şekeri %100 azaltılmış reçete ve yağı %50 azaltılmış reçeteler arasındaki fark önemli iken, diğer tüm reçeteler arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur (p 0,05).

Bisküvi örneklerinde yapılan su aktivitesi analizlerinde ise en yüksek değer a_w 0,23 olarak belirlenirken, en düşük değer a_w 0,04 olarak belirlenmiştir.

Leahy (1985) a_w ve pH'nin pirazin oluşu üzerine etkisini araştırmış ve a_w 'nin 0,75 kadar çıkmasıyla pirazin oluşumunun doğrusal olarak arttığını ve 0,84 civarında da pirazin çeşidine bağlı olarak azaldığı veya değişmediğini belirlemiştir. a_w 0,75 civarındaki maksimum reaksiyon oranının Maillard esmerleşmesi ile tutarlı olduğu belirlenmiştir. Leahy (1985) pirazin oluşumun her 0,1 birimlik a_w artışında 1,37 kat arttığını belirtmiştir. Benzer olarak pH 5-9 aralığında pirazin oranı ile 2-metilpirazin oluşumu arasında doğrusal bir ilişki belirlenmiştir.

Bu çalışmada ise pirazinlere ait en yüksek alan değeri kontrol örnekleri arasında en düşük su aktivitesi değerine sahip (a_w 0,04) BYT kullanılmış reçetede belirlenmiştir. Pirazinlerin alan değerinin en düşük olarak belirlendiği asparajinaz enzimi kullanılan reçetenin su aktivitesi değeri a_w 0,134 olarak belirlenmiştir. Leahy (1985)'nin yaptığı çalışmanın aksine artan su aktivitesi ile pirazin oluşumu azalmıştır.

Lipid oksidasyonuna etki eden faktörler sıcaklık, su aktivitesi, metal iyonları ve ışıktır. Birçok lipid oksidasyon reaksiyonu su aktivitesi düştükçe (a_w 0,2) artmaktadır. Ransidite özellikle kurutulmuş gıdalarda ana sorunlardandır. Sıcaklık arttıkça da oksidasyon oranı artar. Enzimler

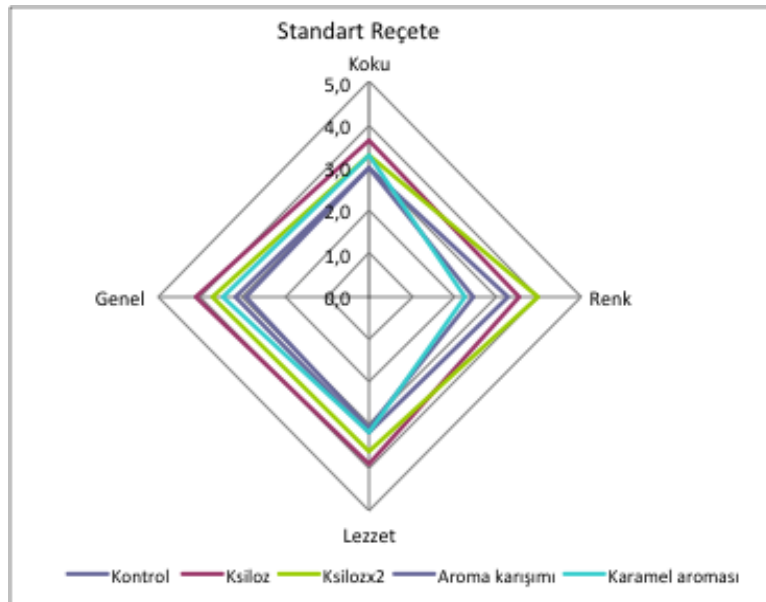
tarafından katalize edilen oksidasyon reaksiyonu, 30-45°C'de en yüksek oranına ulaşmıştır (Anonim 2010a, Reineccius 2006). Bu çalışmada ise kontrol örneklerinde lipid oksidasyon ürünlerinin en az olduğu şekeri %50 ve %100 azaltılmış reçetelerde su aktivitesi sırasıyla a_w 0,137 ve 0,178 olarak belirlenmiştir. Lipid oksidasyon ürünlerinin en fazla olduğu yağı %50 azaltılmış reçetede ise su aktivitesi değeri a_w 0,15 olarak belirlenmiştir.

Gökmen ve ark. (2008b)'nin yaptıkları çalışmada ise bisküvilere ait su aktivitesi değerleri belirlenmiştir. Bisküvilerin su aktivitelerinin ilk 15 dk'lık pişirme süresince hızla 0,4 veya daha az su aktivitesi değerine ulaştığı belirtilmiştir. Suyun sıcaklıkla uzaklaşarak, su aktivitesi değerinin 0,4 e ulaştığı aşama, bisküvi sıcaklık değerinin 100°C'nin üzerine çıkıp HMF oluşumunun başladığı seviye olarak değerlendirilmiştir. Bu aşamadan sonra amonyum bikarbonatın kullanıldığı reçetede, sukroz 200°C'nin üzerindeki sıcaklıkta hızla dekompoze olmuştur.

Duyusal Analiz Sonu larına Ait Araştırma Bulguları ve Tartışma

Dokuz bisküvi reçetesi ile hazırlanan bisküvi örnekleri ile 11 panelistle yapılan duysal analizde örnekler koku, lezzet, renk ve genel duysal özellikleri dikkate alınarak 1-5 skalası kullanılmış ve elde edilen verilerin ortalama değerleri belirlenmiştir. Tespit edilen ortalama değerler ve standart sapma değerleri birlikte Çizelge 4.29 (1) ve (2)'de belirtilmiş ve bu değerler her bir reçete için duysal analiz örümcek grafiğinde gösterilmiştir.

Şekil 4.19, 11 panelist tarafından değerlendirilen standart bisküvi reçetesine ait duysal analiz tablosunu göstermektedir. Şekil 4.19'da da görüldüğü üzere değerler birbirine yakın olmakla birlikte, ksiloz, 2 kat ksiloz uygulaması lezzet yoğunluğu en yüksek olarak değerlendirilmiş, bunu, aralarında belirgin bir fark algılanamayan aroma karışımı, karamel aroması ve kontrol örnekleri izlemiştir. Kontrol uygulamasına ait bisküvi örneklerinde lezzet yoğunluğu açısından belirgin fark algılanamamasına rağmen, genel değerlendirmelerde en düşük ortalama puan kontrol örneklerinde belirlenmiştir. Renk değerlendirmesinde ise en yüksek puanı 2 kat ksiloz kullanılan uygulama almış, bunu ksiloz, aroma karışımı, kontrol ve karamel aroması izlemiştir.



Şekil 4.19. Standart Bisküvi Reçetesine ait Duyusal Analiz Örümcek Grafiği

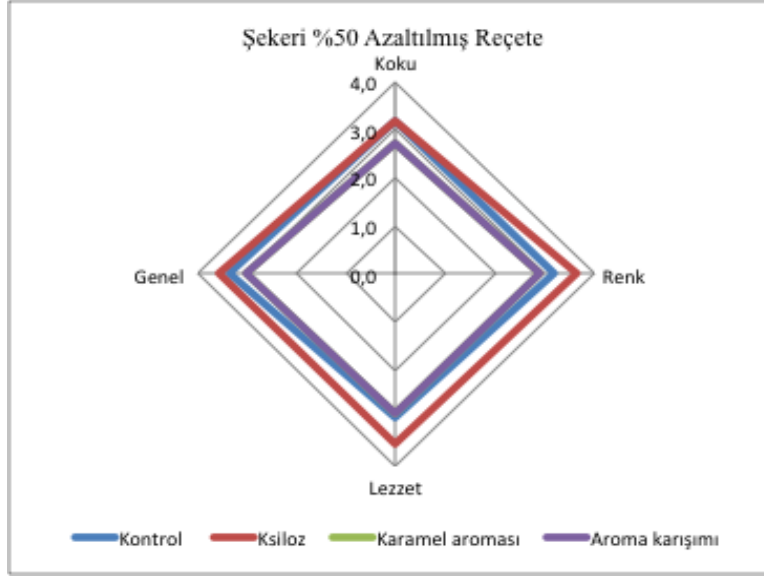
Çizelge 4.29. Reçetelere ait duyu analizi değerlendirmeleri (1)

		Standart Bisküvi Reçetesi		Şekeri %50 Azaltılmış Bisküvi Reçetesi		Şekeri %100 Azaltılmış Bisküvi Reçetesi		Yağı %50 Azaltılmış Bisküvi Reçetesi		BYT içeren Bisküvi Reçetesi	
		Ortalama	Std. Sapma	Ortalama	Std. Sapma	Ortalama	Std. Sapma	Ortalama	Std. Sapma	Ortalama	Std. Sapma
Kontrol	Koku	3,00	1,34	3,00	1,10	2,73	0,90	1,91	0,70	2,36	0,92
	Renk	2,45	1,57	3,00	1,00	2,45	0,93	2,27	0,65	2,64	0,92
	Lezzet	3,09	1,04	3,00	0,89	2,27	0,47	2,27	0,65	2,55	0,93
	Genel	2,91	1,14	3,18	1,08	2,64	0,81	2,00	0,77	2,64	0,81
Ksiloz	Koku	3,64	1,03	3,18	1,25	3,18	1,08	2,55	1,21	3,36	0,92
	Renk	3,55	1,04	3,55	0,82	3,64	1,21	3,55	0,93	4,09	0,83
	Lezzet	3,91	1,04	3,64	0,92	3,09	0,70	3,00	0,63	3,45	0,52
	Genel	4,09	0,83	3,55	1,04	3,09	0,83	3,18	0,75	3,73	0,65
Aroma Karışımı	Koku	3,00	0,77	3,82	0,87	3,27	1,27	2,82	0,98	3,00	1,00
	Renk	3,27	1,01	4,18	0,75	3,55	1,04	3,27	1,10	3,91	1,04
	Lezzet	3,18	1,08	3,73	0,90	3,18	0,98	3,00	1,10	3,82	0,60
	Genel	3,18	0,98	3,82	0,98	3,36	0,81	3,18	1,25	3,55	0,69
Karamel Aroması	Koku	3,27	1,27	2,73	1,19	3,09	0,83	2,82	0,98	2,73	1,10
	Renk	2,27	1,56	2,91	1,14	3,00	1,00	2,55	0,93	2,45	0,69
	Lezzet	3,18	1,33	2,91	0,94	3,18	0,87	2,45	0,82	3,00	0,63
	Genel	3,45	1,21	3,00	1,10	3,45	0,69	2,64	0,67	3,00	0,63
Ksiloz x 2	Koku	3,27	0,65								
	Renk	4,00	1,10								
	Lezzet	3,64	1,12								
	Genel	3,73	1,10								

Çizelge 4.29. Reçetelere ait duyuusal analiz değerlendirmeleri (2)

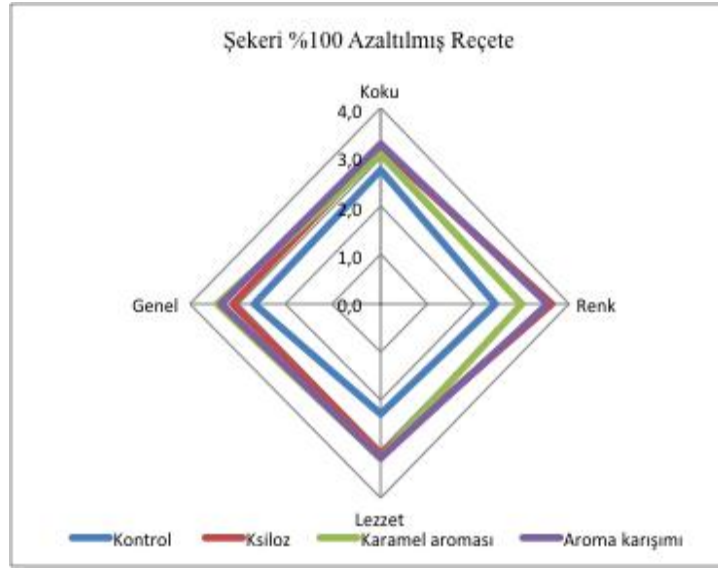
		PST içeren Bisküvi Reçetesi		Glisin içeren Bisküvi Reçetesi		Lisin içeren Bisküvi Reçetesi		Asparajimaz enzimi içeren Bisküvi Reçetesi	
		Ortalama	Std. Sapma	Ortalama	Std. Sapma	Ortalama	Std. Sapma	Ortalama	Std. Sapma
Kontrol	Koku	2,45	0,82	1,73	0,79	1,82	0,75	2,55	1,13
	Renk	2,64	1,12	1,73	1,01	2,73	1,01	2,82	0,98
	Lezzet	2,82	0,87	1,73	0,79	2,64	1,03	3,27	1,10
	Genel	3,00	0,77	1,73	0,65	2,64	0,81	3,00	1,18
Ksiloz	Koku	3,09	1,14	3,27	1,01	3,55	1,13	2,91	0,94
	Renk	3,55	1,04	3,82	0,98	4,09	0,83	4,00	0,89
	Lezzet	3,55	0,69	3,36	1,03	3,73	1,01	3,91	0,83
	Genel	3,73	0,90	3,36	0,92	3,91	0,94	3,55	0,82
Aroma Karışımı	Koku	3,36	0,92	3,36	1,21	3,18	0,98	2,91	0,70
	Renk	3,36	1,12	3,82	0,87	3,73	0,79	3,55	0,93
	Lezzet	3,73	0,90	3,55	1,04	3,73	1,10	4,09	0,30
	Genel	3,73	1,01	3,55	1,04	3,55	0,82	3,55	0,82
Karamel Aroması	Koku	3,09	1,22	2,27	0,90	2,27	0,79	3,00	1,18
	Renk	2,73	1,35	2,18	1,33	2,64	0,81	3,09	0,94
	Lezzet	3,27	1,01	3,00	1,10	2,91	0,83	3,73	1,10
	Genel	3,00	1,18	2,55	1,13	2,73	0,79	3,27	0,90

Şekeri %50 azaltılmış reçetede ise ksiloz uygulaması renk, lezzet ve koku değerlendirmesi açısından diğer uygulamalardan ayrılırken; kontrol, aroma karışımı ve karamel aroması uygulaması lezzet değerlendirmesi olarak birbirine yakın puanlar almıştır. Bu reçetede genel değerlendirmede en iyi sonuç ksiloz uygulamasında belirlenmiştir (Şekil 4.20).



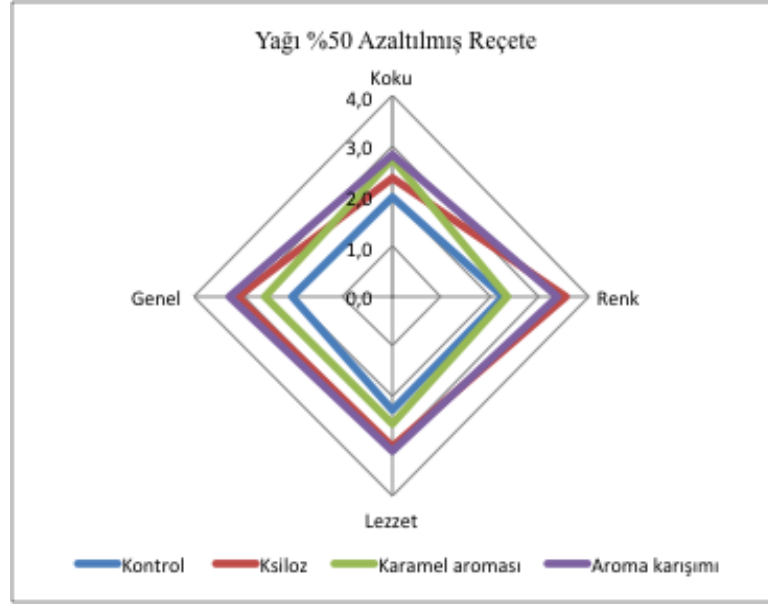
Şekil 4.20. Şekeri %50 Azaltılmış Bisküvi Reçetesine ait Duyusal Analiz Örümcek Grafiği

Şekeri %100 azaltılmış bisküvi örneklerinde ise tüm duyu analiz değerlendirmelerinde kontrol uygulamasına ait örnekler en düşük performansı göstermiştir. Ksiloz, karamel aroması ve aroma karışımı uygulamalarına ait lezzet değerlendirmesinde birbirine çok yakın sonuçlar elde edilirken, genel değerlendirmede en iyi performans aroma karışımı ve karamel aroması uygulamalarına ait örneklerde belirlenmiştir. Bu reçeteye ait uygulamaların renk değerlendirmesinde ksiloz ve aroma karışımı birbirine çok yakın (ortalama 3,55-3,64) kabul edilebilir düzeydeyken, bunu karamel aroması izlemiştir. Kontrol uygulaması örneklerine ait renk değerleri (2,45) yeterli düzeyde bulunmamıştır (Şekil 4.21.).



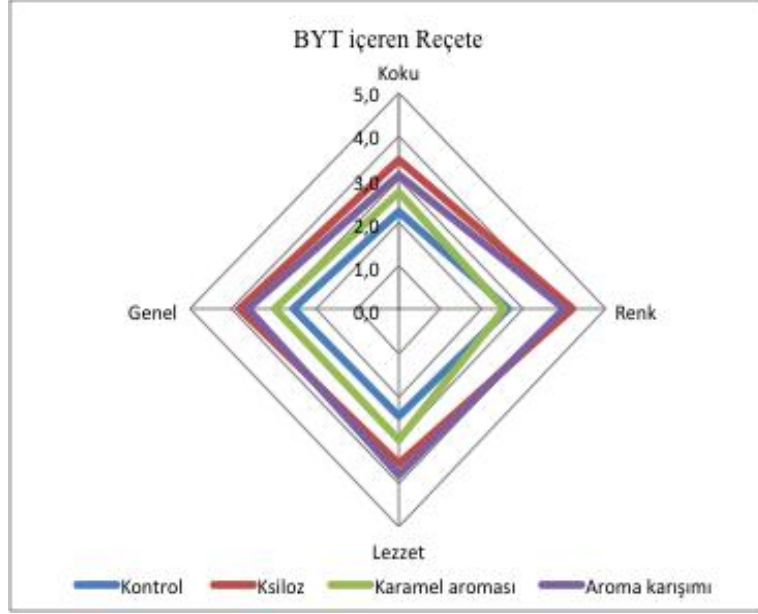
Şekil 4.21.Şekeri %100 Azaltılmış Bisküvi Reçetesine ait Duyusal Analiz Örümcek Grafiği

Yağı %50 azaltılmış bisküvi reçetesinde yapılan duyusal analiz sonuçlarına göre ise aroma karışımı ve ksiloz uygulamalarına ait lezzet değerleri birbirine çok yakın kabul edilebilir düzeyde belirlenirken, bunu karamel aroması, kontrol uygulamalarına ait örnekler izlemiş ve lezzet açısından yetersiz bulunmuştur. Renk değerlendirmesinde ksiloz ve aroma karışımı uygulamaları belirgin bir farkla kontrol ve karamel aroması uygulamalarından ayrılmış ve iyi olarak değerlendirilmiştir. Kontrol ve karamel aroması uygulamaları ise renk değerlendirmelerinde yetersiz bulunmuştur. Genel olarak aroma karışımı ve ksiloz uygulamaları kabul edilebilir bulunurken, kontrol ve karamel aroması uygulamaları yetersiz bulunmuştur (Şekil 4.22).



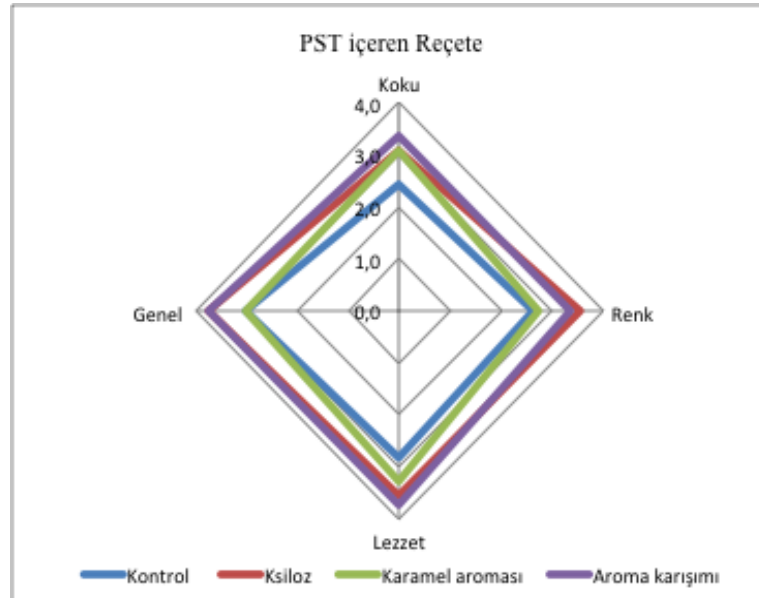
Şekil 4.22. Yağı %50 Azaltılmış Bisküvi Reçetesine ait Duyusal Analiz Örumcek Grafiği

BYT içeren bisküvi reçetesinin duyusal analiz değerlendirmelerine göre aroma karışımı ve ksiloz lezzeti iyi olarak değerlendirilmiş, karamel aroması ve kontrol uygulamalarına ait örneklerin lezzeti ise yetersiz bulunmuştur. Örneklerin koku değerlendirmesinde ise en yüksek puanlama, sırasıyla ksiloz, aroma karışımı, karamel aroması ve kontrol örneklerinde tespit edilmiştir. Aroma karışımı ve ksilozun kokusu kabul edilebilir bulunurken, karamel aroması ve kontrol yetersiz bulunmuştur. Aroma karışımı ve ksilozun renk değerlendirmeleri iyi, kontrol ve karamel aromasının rengi ise yetersiz olduğu belirlenmiştir. Genel değerlendirme sonuçlarında ise benzer sonuçlar elde edilmiş, aroma karışımı ve ksiloz uygulamaları iyi olarak değerlendirilirken, karamel aroması ve kontrol uygulamaları ise sırasıya kabul edilebilir ve yetersiz olarak belirlenmiştir (Şekil 4.23).



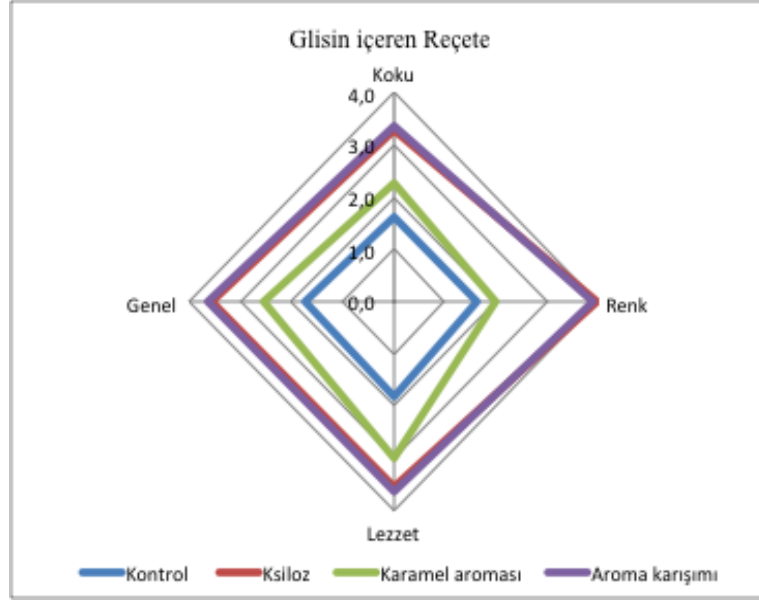
Şekil 4.23. BYT içeren Bisküvi Reçetesine ait Duyusal Analiz Örümcek Grafiği

PST kullanılan reçetede de benzer sonuçlar elde edilmiş, aroma karışımı ve ksiloz uygulaması renkleri iyi ve ksiloz uygulaması örneklerinin lezzeti kabul edilebilir bulunurken, aroma karışımı kullanılan örneklerin lezzeti iyi olarak değerlendirilmiştir. Kontrol örneklerinin kokusu yetersiz, genel olarak ise kabul edilebilir bulunmuştur. Aroma karışımı, ksiloz ve karamel aroması örneklerinin kokusu kabul edilebilir olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.24).



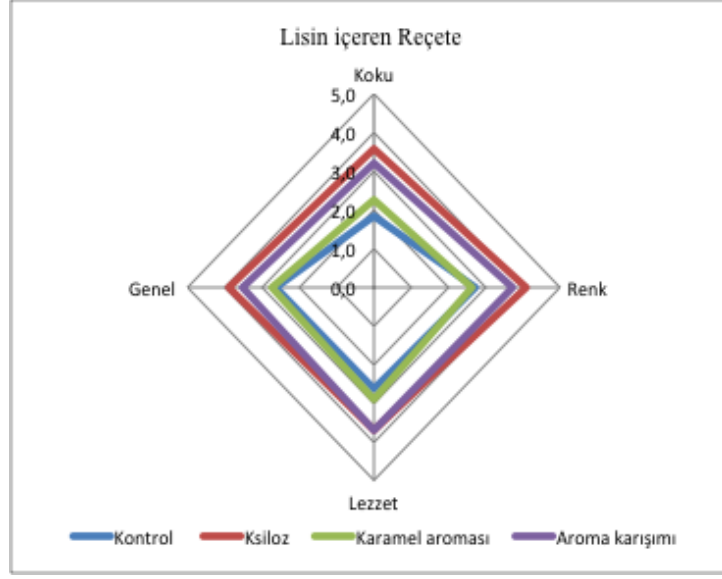
Şekil 4.24. PST içeren Bisküvi Reçetesine ait Duyusal Analiz Örümcek Grafiği

Glisin kullanılan reçetede aroma karışımı ve ksiloz örnekleri duysal değerlendirmeleri birbirine çok yakın, koku, lezzet ve genel olarak kabul edilebilir, renkleri iyi olarak değerlendirilmiştir. Karamel aroması uygulamasının lezzeti kabul edilebilir, kokusu, rengi ve genel değerlendirmesi yetersiz bulunmuştur. Kontrol örnekleri ise tüm kriterlerde kötü olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.25).



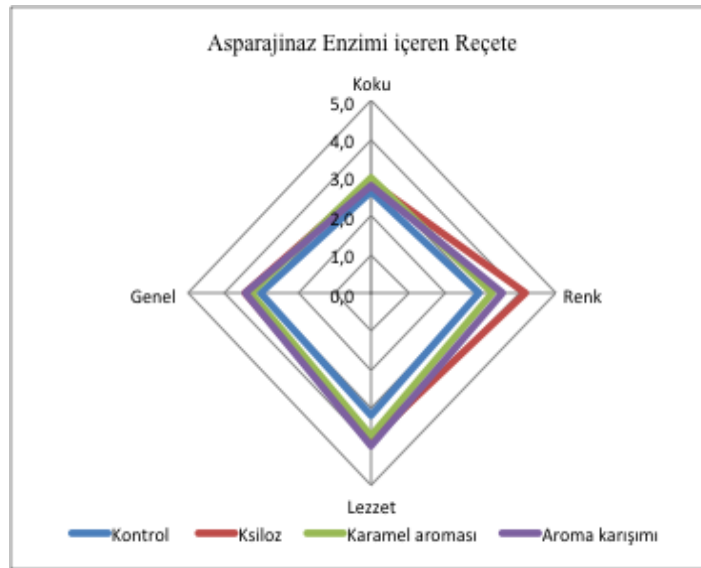
Şekil 4.25. Glisin içeren Bisküvi Reçetesine ait Duyusal Analiz Örümcek Grafiği

Lisin kullanılan reçetede aroma karışımı ve ksiloz için de yakın değerler belirlenmiş, lezzeti, kokusu, rengi ve genel değerlendirilmesinde kabul edilebilir bulunmuştur. Karamel aroması örnekleri koku, renk, lezzet ve genel olarak yetersiz bulunurken, kontrol örneklerinin kokusu kötü, renk, lezzet ve genel olarak yetersiz bulunmuştur (Şekil 4.26).



Şekil 4.26. Lisin içeren Bisküvi Reçetesine ait Duyusal Analiz Ömücek Grafiği

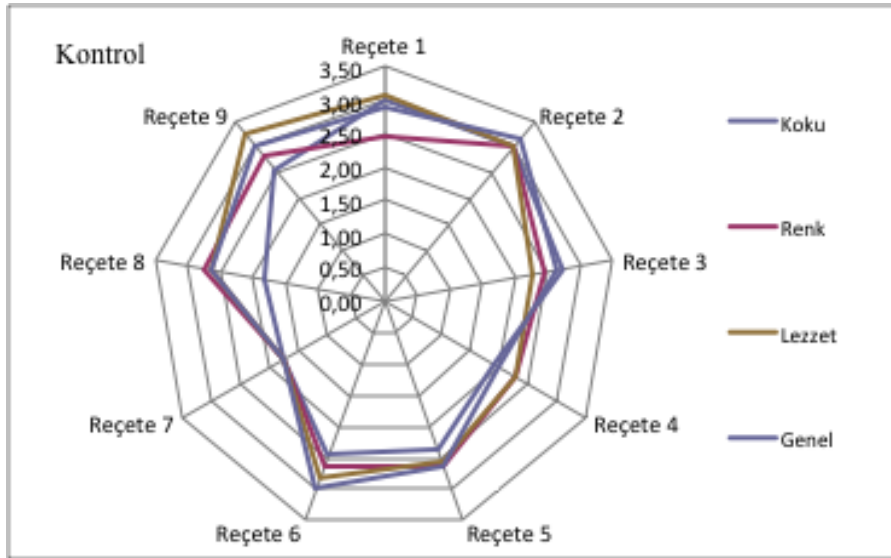
Asparajinaz enzimi kullanılan reçetede duysal değerlendirme sonuçları diğer reçetelere göre daha düşük düzeylerde belirlenmiştir. Ksiloz uygulamasına ait örneklerin rengi ve lezzeti iyi olarak değerlendirilirken, kokusu ve genel değerlendirmesi kabul edilebilir bulunmuştur. Tüm uygulamaların kokusu birbirine çok yakın kabul edilebilir düzeyde değerlendirilmiştir. Lezzet değerlendirmelerinde en iyi sonuç sırasıyla aroma karışımı, ksiloz ve karamel aroması örneklerinde iyi olarak belirlenirken, kontrol örnekleri yetersiz bulunmuştur. Genel değerlendirmelerde ise tüm uygulamalar kabul edilebilir düzeyde bulunmuştur (Şekil 4.27).



Şekil 4.27. Asparajinaz enzimi içeren Bisküvi Reçetesine ait Duyusal Analiz Ömücek Grafiği

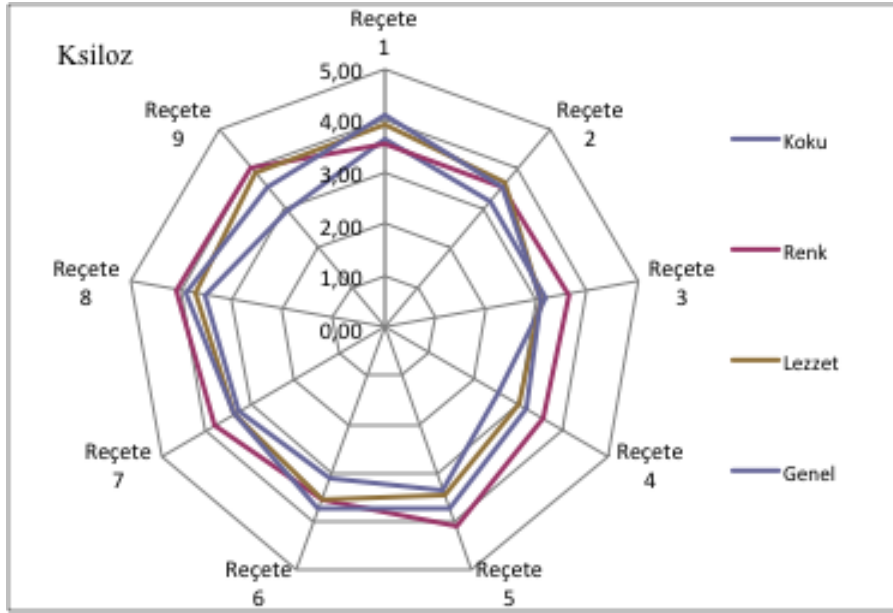
Dokuz bisküvi reçetesinde 11 panelist ile yapılan duyu analizi sonuçlarına ait ortalama puan değerleri ve standart sapma değerleri Çizelge 4.29 (1) ve Çizelge 4.29 (2) belirtilmiştir. Yapılan duyu analizi sonuçlarına göre aroma karışımı ve ksiloz uygulamaları için tüm reçetelerde birbirine çok yakın puanlar verilirken, kontrol uygulaması tüm reçetelerde ve tüm değerlendirme değişkenlerine göre belirgin farkla en az puanı almıştır.

Duyu analizi sonuçlarına göre reçeteler arasındaki farklılığı incelemek için her bir uygulama grubuna ait sonuçlar Şekil 4.28, Şekil 4.29, Şekil 4.30 ve Şekil 4.31.'de gösterilmiştir. Şekil 4.28'de gösterilen kontrol uygulamasında tüm duyu analizi kriterleri dikkate alındığında tüm reçeteler arasında en iyi sonuç sırasıyla standart bisküvi reçetesi, şekeri %50 azaltılmış reçete, PST içeren reçete ve asparajinaz enzimi içeren reçetede belirlenmiştir. En kötü sonuç ise glisin içeren reçete, lisin içeren reçete ve yağı %50 azaltılmış reçetede belirlenmiştir. Glisin kullanılan reçetenin kontrol uygulaması duyu değerlendirme kötü düzeyinde, lisin içeren reçetede kabul edilebilir ve yağı %50 azaltılmış reçetede yeterli düzeyde olmadığı tespit edilmiştir.



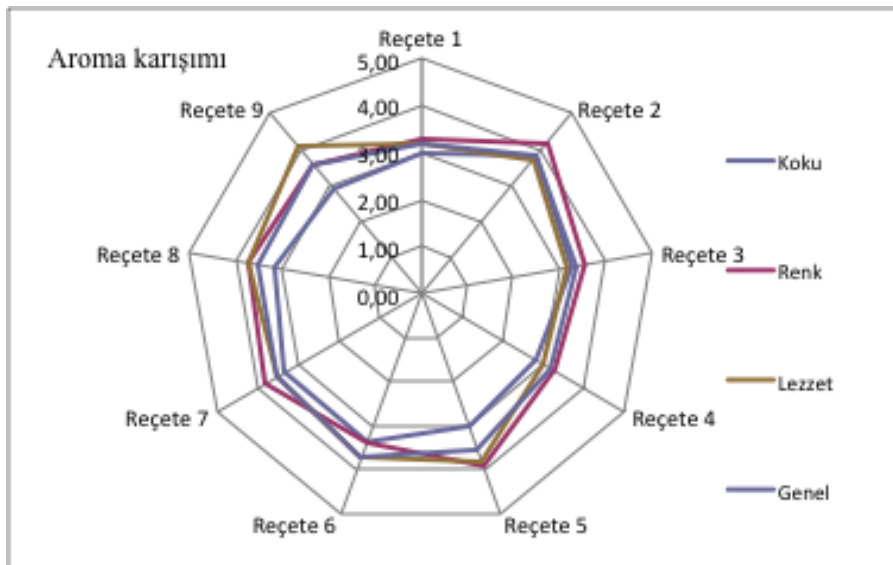
Şekil 4.28. Kontrol uygulamasına ait duyu analizi değerlendirme grafiği

Ksiloz uygulamaları tüm reçeteler arasında incelendiğinde ksiloz ilavesinin tüm reçetelerde duyu analizi sonuçlarına olumlu etkisi açıkça görülmüştür. Sonuçların tümü kabul edilebilir ve iyi düzey aralığında belirlenmiştir. Ksilozun duyu değerlendirmede en belirgin etkisi glisin içeren reçetede belirlenmiştir (Şekil 4.29).



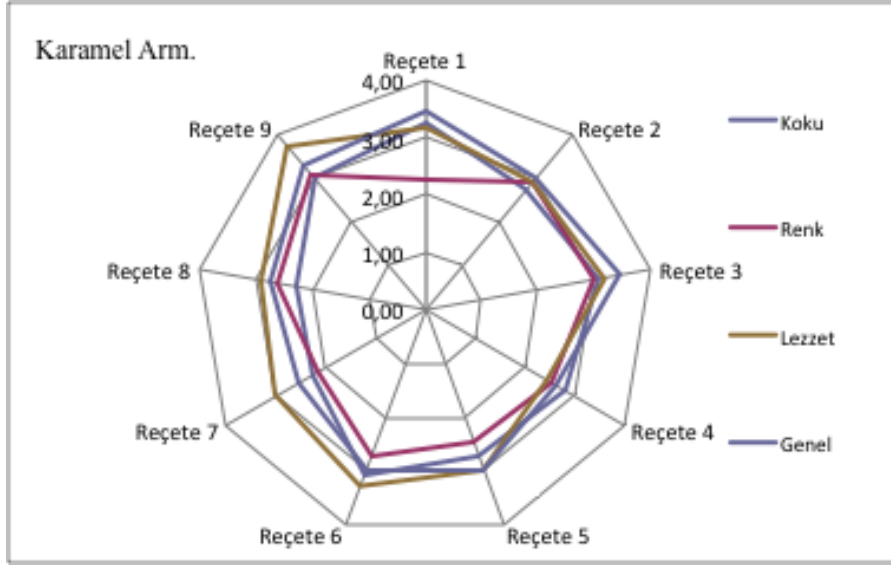
Şekil 4.29.Ksiloz uygulamasına ait duyu analizi değerlendirilmesi

Aroma karışımı uygulamaları da ksiloz ile benzer sonuçlar göstermekle birlikte, ksiloz uygulamalarına ait duyu değerlendirme sonuçları genel olarak aroma karışımından daha iyidir. Standart bisküvi reçetesi ve yağı %50 azaltılmış reçetede sonuçlar kabul edilebilir düzeyde belirlenirken, diğer reçeteler iyi olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.30).



Şekil 4.30. Aroma karışımı uygulamasına ait duyu analizi değerlendirilmesi

Karamel aroması uygulamaları ise duyuusal değerlendirmede tüm reçetelerde aroma karışımı ve ksiloz uygulamalarından daha az, kontrol örneklerinden daha iyi performans göstermiştir. En iyi sonuç Asparajinaz enzimi ilave edilmiş reçetede kabul edilebilir - iyi düzey aralığında belirlenmiştir (şekil 4.31.)



şekil 4.31. Karamel aroması uygulamasına ait duyuusal analiz değerlendirmesi

Dokuz farklı bisküvi reçetesinde yapılan duyuusal analiz sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesi yapılmıştır. Dokuz reçetenin ortalama vektörleri arasında farklılık olup olmadığını anlamak için MANOVA testi kullanılmıştır. Farklılığın hangi uygulamadan kaynaklandığını araştırmak için de Tukey oklu karşılaştırma testi uygulanmıştır.

Reçeteler için yapılan Wilks'Lambda testinde ($p < 0,05$) grup ortalama vektörleri arasında fark vardır ve reçeteler arasındaki farklılık önemlidir. Uygulamalar için yapılan Wilks'Lambda testinde ($p < 0,05$) de ortalama vektörleri arasında fark önemli bulunmuştur.

Reçeteler arasında farklılığa neden olan değişkenlerin hangileri olduğunu belirlemek için yapılan testlerde (Test of Between-Subjects Effects) duyuusal analiz sonuçlarına göre reçeteler arasındaki farklılığa koku, renk, lezzet ve genel değişkenlerinin hepsinin etkisi olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$). Aynı test reçetelerde uygulanan kontrol, ksiloz, aroma karışımı ve karamel aroması değişkenleri için yapıldığında, reçetelerdeki bu uygulamalar arasındaki

farklılığa koku, renk, lezzet ve genel duyu analizi değişkenlerinin hepsinin etkisinin olduğu tespit edilmiştir (p < 0,05). Reçetelerde uygulanan değişkenlere ait genel ortalamalar Çizelge 4.30'da belirtilmiştir.

Çizelge 4.30 Duyusal analizde reçetelerde uygulanan değişkenlere ait genel ortalamalar

Genel Ortalama				
Değişkenler	Ortalama	Std. Sapma	%95 Güven Aralığı	
			Alt sınır	st sınır
Koku	2,904	0,051	2,803	3,005
Renk	3,162	0,052	3,059	3,265
Lezzet	3,207	0,046	3,116	3,298
Genel	3,177	0,047	3,084	3,269

Dokuz reçetede bulunan 4 uygulama arasında (kontrol, ksiloz, karamel aroması ve aroma karışımı) farklılığın hangi uygulamadan kaynaklandığını araştırmak için yapılan Tukey testine göre, yapılan duyu analizi sonuçlarına göre 4 farklı uygulamaya ait değerler koku değişkeni dikkate alınarak karşılaştırıldığında kontrol uygulaması ile ksiloz, aroma ve aroma karışımı arasındaki fark önemli bulunmuştur. Ksiloz ile aroma arasındaki fark önemli değil iken aroma ile aroma karışımı arasındaki fark önemli bulunmuştur (p < 0,05).

Uygulamalara ait değerler renk değişkeni dikkate alınarak karşılaştırıldığında, kontrol uygulamasının, ksiloz ve aroma karışımı ile arasındaki fark önemli bulunmuştur. Buna karşın kontrol uygulamasıyla karamel aroması arasındaki fark önemli değildir. Ksiloz uygulamasının karamel aroması ile arasındaki fark önemli iken aroma karışımı arasındaki fark önemli düzeyde olmadığı tespit edilmiştir. Bunun yanında karamel aroması ve aroma karışımı arasındaki farklılık önemli bulunmuştur (p < 0,05).

Lezzet değişkeni dikkate alınarak karşılaştırıldığında, ise kontrol uygulaması diğer uygulamaların hepsinden farklı olduğu tespit edilmiştir. Ksiloz uygulamasının karamel aroması ile arasındaki fark önemli düzeyde olduğu belirlenirken, aroma karışımı arasındaki

farklılık önemli değildir. Karamel aroması ve aroma karışımı arasındaki farklılık ise önemli bulunmuştur ($p < 0,05$).

Uygulamalar genel değişkeni dikkate alınarak karşılaştırıldığında, kontrol uygulaması ile ksiloz ve aroma karışımı arasındaki fark önemli bulunmuştur. Bunun yanında kontrol uygulaması ile karamel aroması arasındaki fark önemli bulunmamıştır. Ksiloz uygulaması ile karamel aroması arasındaki fark önemli iken aroma karışımı arasındaki farklılık önemli düzeyde değildir. Karamel aroması ve aroma karışımı arasındaki farklılığın da önemli düzeyde olmadığı tespit edilmiştir ($p < 0,05$).

Dokuz reçetede yapılan duyu analizi sonuçlarına göre farklılığın hangi reçeteden kaynaklandığını belirlemek için yapılan Tukey çoklu karşılaştırma testine göre; koku değişkeni dikkate alınarak karşılaştırıldığında standart bisküvi reçetesinin, yağı %50 azaltılmış reçete dışındaki tüm reçetelerle arasındaki farklılığın önemli düzeyde olmadığı belirlenmiştir. Yağı %50 azaltılmış bisküvi reçetesinin, standart bisküvi reçetesiyle ve şekeri %50 azaltılmış bisküvi reçetesiyle arasındaki fark önemli bulunmuşken, şekeri %100 azaltılmış, BYT, PST, glisin ve lisin kullanılmış, asparajinaz enzimi ilave edilmiş bisküvi reçeteleri arasındaki farklılık önemli düzeyde değildir ($p < 0,05$).

Renk değişkeni dikkate alındığında ise reçeteler arasındaki farklılığın önemli düzeyde olmadığı tespit edilmiştir ($p < 0,05$).

Lezzet değişkeni dikkate alınarak karşılaştırıldığında standart bisküvi reçetesinin, asparajinaz enzimi kullanılan reçete dışındaki diğer reçetelerle arasındaki farklılığın önemli düzeyde olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında asparajinaz enzimi kullanılmış bisküvi reçetesinin; şekeri %100 azaltılmış, yağı %50 azaltılmış ve glisin kullanılmış bisküvi reçeteleri ile arasındaki farklılık ise önemli bulunmuştur ($p < 0,05$).

Genel değişkeni dikkate alındığında ise şekeri %100 azaltılmış, yağı %50 azaltılmış, BYT, glisin, lisin kullanılmış ve asparajinaz enzimi ilave edilmiş bisküvi reçeteleri arasında önemli bir fark yoktur. Yağı %50 azaltılmış bisküvi reçetesinin standart bisküvi reçetesi, şekeri %50 azaltılmış bisküvi reçetesi ve PST kullanılmış bisküvi reçetesi ile arasındaki farklılık önemli bulunmuştur. Buna karşın standart reçete, şekeri %50 azaltılmış, şekeri %100 azaltılmış,

BYT, PST, glisin ve lizin kullanılmış, asparajinaz enzimi ilave edilmiş bisküvi reçeteleri arasındaki farklılığın önemsiz olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$).

Geçmiş yıllarda duyu analizlerle ilgili çok fazla benzer çalışmalar bulunmasa dahi akrilamid miktarını düşürmeye yönelik yapılan çalışmaların duyu özellikleri nasıl etkilediğine dair çalışmalar yapılmıştır. Akrilamid miktarını düşürmeye yönelik yapılan çalışmalardan, asparajinaz enziminin (Acrylaway) temin edildiği Novozymes unlu mamullerinin AIB (American Institute of Baking)'de endüstriyel olarak yaptığı denemelerde, asparajinaz enzimi kullanılarak, yarı tatlandırılmış bisküvilerde akrilamid'i %90'a kadar düşürülmüştür. Yapılan denemelerde asparajinaz enzimi sadece asparajin amino asidine etki ederek ortadan kalkmasını sağlarken, diğer amino asitlere etki etmediği bu nedenle de ürün aromasının değişmediği belirtilmiştir (Anonim 2010b). Bu çalışmada asparajinaz enzimi ilave edilen reçete duyu özelliklerine göre değerlendirildiğinde kontrol ve karamel aroması uygulamalarında renk, koku ve genel değerlendirmeleri kabul edilebilir düzeyde tespit edilmiştir. Lezzet değerlendirmelerinde, kontrol örnekleri kabul edilebilir belirlenirken, karamel aroması uygulaması iyi olarak değerlendirilmiştir. Ksiloz ve aroma karışımı uygulamasının ise lezzeti ve rengi iyi, kokusu ise kabul edilebilir olarak değerlendirilmiştir. Genel olarak duyu değerlendirme sonuçları standart bisküvi reçetesine yakın seviyelerde bulunmuştur.

Amrein ve ark. (2004) ise zencefilli keklerde serbest asparajin miktarını pişirme öncesi parçalanmasını sağlamak için hamura asparajinaz enzimi ilave etmişlerdir. Bu hamur ile hazırlanan zencefilli keklerde akrilamid miktarı %55 azalırken, tat ve rengin standart ürün ile aynı kaldığını belirtmişlerdir.

Sonuç olarak yapılan bu çalışmada bisküvilerin duyu değerlendirmelerinde aroma karışımı ve ksiloz uygulamalarının tüm reçetelerde lezzet ve renk üzerine etkisi iyi ve ya kabul edilebilir düzeyde belirlenmiştir. Kontrol ve karamel aroması uygulamaları da tüm reçetelerde birbirine yakın sonuçlar göstermiş, genel olarak yetersiz veya kötü olarak değerlendirilmişlerdir.

5. SONU E ÖNE İ E

Maillard reaksiyonuna önemli katkısı olduğu bilinen 5 karbonlu şeker ksilozun ve ksiloz içeren aroma karışımının farklı bisküvi reçetelerinde aroma ve akrilamid oluşumuna etkisinin incelendiği bu çalışmada, farklı şeker ve yağ oranlarının, farklı protein kaynaklarının ve asparajinaz enziminin, aroma ve akrilamid oluşuma etkisi, aroma ve akrilamid analizi ile belirlenirken, diğer analizler su aktivitesi, pH, renk ve duyu analizler bu sonuçların yorumlanmasına katkıda bulunmuştur.

Aroma analizleri sonucunda Maillard reaksiyonu oluşumunu en belirgin olarak ortaya koyan aroma molekülleri pirazinler, ksilozun aroma oluşumuna katkısını açıkça göstermiştir. Yapılan faktör analizi sonucu varyansdaki değişimin büyük kısmını Maillard reaksiyonu sonucu oluşan pirazinler ve Strecker aldehidleri oluşturmuştur. Ksilozun 2 katına çıkarılarak uygulandığı standart bisküvi reçetesinde pirazin oluşumuna etkisi de açıkça görülmüştür. Bazı pirazinlerin ksiloz uygulamasıyla, şekeri %50 ve şekeri %100 azaltılmış reçete örneklerinde daha belirgin alan değeri ortaya çıkmıştır. Bu durum da ksilozun bu reçetelerdeki etkisinin standart bisküvi reçetesinden daha yüksek olduğunu göstermektedir. Yapılan duyu analiz sonuçları da, şekeri %100 azaltılmış reçete ve yağı %50 azaltılmış reçetede ksilozun etkisinin bu reçetelerde standart reçeteden daha belirgin olduğunu desteklemiştir. Bu durumda, ksiloz ve aynı miktarda ksiloz içeren aroma karışımı, özellikle yağı ve şekeri azaltılmış ürünlerdeki tat kayıplarını gidererek, bu ürünlerin tüketici tarafından tat beğenisini arttırmak için kullanılması önerilebilir. Şekeri ve yağı azaltılmış ürünlerde, azalan şeker ve daha az yağ içeren üründeki azalan lipid oksidasyonuna bağlı olarak oluşan akrilamid miktarı da azalmıştır. Bu ürünlerde yapılan renk analizinde L^* ve a^* değerlerinde anlamlı bir fark ortaya koymazken, şekeri %50 ve %100 azaltılmış reçetede sarılık renk tonunu ifade eden b^* değerinin standart bisküvi reçetesi ile arasındaki fark önemli bulunmuştur. Yapılan duyu analiz sonuçlarına göre ise ksiloz uygulamalarında şekeri %50 ve %100 azaltılmış reçeteler genel olarak kabul edilebilir olarak belirlenirken, yağı %50 azaltılmış reçete genel anlamda yetersiz olarak değerlendirilmiştir. Bu reçetelerdeki aroma karışımı uygulamalarında ise şekeri %100 ve %50 azaltılmış bisküvi örnekleri genel olarak kabul edilebilir düzeyde, yağı %50 azaltılmış reçete ise iyi olarak değerlendirilmiştir.

Farklı protein kaynaklarının ksiloz ve aroma karışımı ile aroma ve akrilamid oluşumu üzerine etkisini incelemek üzere hazırlanan PST ve BYT kullanılan reçetelerde pirazin ve Strecker aldehidleri alan değerleri incelendiğinde; Strecker aldehidleri ksiloz uygulaması ile BYT içeren reçetede artarken, PST içeren reçetede azalma göstermiştir. Aroma karışımının Strecker aldehidleri üzerine etkisi, her iki reçetede de ksilozdan daha fazladır. Pirazinler ise ksiloz uygulaması ile BYT içeren örneklerde standart reçetenin 3 katına çıkarken, PST içeren örneklerde 2,5 katına çıkmıştır. Aroma karışımı pirazinlerin oluşumunu, PST içeren reçetede çok az arttırırken, BYT içeren reçetede pirazinlerin alan değerleri 2 katına çıkmıştır. Bu iki reçete akrilamid konsantrasyonlarına göre değerlendirildiğinde ise kontrol uygulama grubunda BYT kullanımı, akrilamid konsantrasyonunu aynı miktarda yağsız süt tozu kullanılan standart bisküvi reçetesine göre %60, PST kullanımı ise %50 oranında düşürmüştür. Bu miktarlar ksiloz uygulanınca, BYT kullanılan reçetede akrilamid konsantrasyonu % 40, PST kullanınca ise yağsız süt tozuna göre %6 oranında arttırmıştır. Aroma karışımı uygulamaları, BYT içeren reçetede akrilamid konsantrasyonunu %6 arttırırken, PST içeren reçetede %25 azaltmıştır. Yağsız süt tozu (standart bisküvi reçetesi), BYT ve PST kullanılan reçeteler arasında akrilamid içeriğine göre en iyi sonuç kontrol uygulama grubunda BYT kullanılan reçetede belirlenmiş, ancak bu reçetede ksiloz ve aroma karışımı uygulandığında aynı reçete içinde akrilamid miktarı artmış, aynı zamanda pirazinler ve Strecker aldehidleri için belirlenen alan değerlerinde de artış meydana gelmiştir. Akrilamid içeriği daha düşük belirlenen BYT içeren bisküvi örneklerinin kontrol grubu uygulamalarında da pirazinler ve Strecker aldehidlerine ait alan değerleri yağsız süt tozu kullanılan reçeteden daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Bu reçetelerin duyuşal değerlendirmeleri incelendiğinde, genel değerlendirmelerinde her iki reçetede de kontrol uygulamaları kabul edilebilir düzeyde iken, ksiloz ve aroma karışımı uygulaması ise genel anlamda iyi olarak değerlendirilmiştir. Yağsız süt tozu kullanılan reçetenin genel değerlendirmesi ise ksiloz uygulamalarında BYT ve PST kullanılan reçeteden daha iyi sonuç göstermiştir. Yağsız süt tozu, BYT ve PST gibi farklı protein kaynaklarının kullanıldığı reçetelerde, akrilamid içeriği, duyuşal özellikleri ve aroma analizleri bütün olarak değerlendirildiğinde BYT kullanılan reçetede en iyi sonuç elde edilirken, ksiloz ve aroma karışımı kullanılması akrilamid içeriğini yağsız süt tozundan daha yüksek seviyeye çıkarmıştır.

Ksiloz ve aroma karışımının akrilamid oluşumuna etkisini incelerken, akrilamid oluşumunu düşürmeye yönelik hazırlanan reçeteler; glisin içeren, lisin içeren ve asparajinaz enzimi içeren bisküvi reçeteleri değerlendirildiğinde, pirazinlerin toplam alan değerleri glisin kullanılan

reçetede sadece ksiloz uygulaması ile artarken; glisin, lisin ve asparajinaz enzimi kullanılan reçetelerin tümünde pirazinlerin ve Strecker aldehidlerinin alan değerleri toplamı azalmıştır. Bu reçetelerin akrilamid içerikleri incelendiğinde ise asparajinaz enzimi içeren reçete, tüm reçeteler içinde akrilamidin en çok düşürüldüğü reçete olmuştur. Kontrol uygulamalarında bunu glisin ve lisin içeren bisküvi reçeteleri izlemiştir. Ksiloz Maillard reaksiyonunda reaktivitesi yüksek bir şeker olduğu için, ksiloz ve aynı miktarda ksiloz içeren aroma karışımı uygulamaları glisin, lisin ve asparajinaz enzimi içeren reçetelerde akrilamid miktarını, aynı reçete içinde kontrol uygulama gruplarına göre arttırmıştır. Bu reçeteler duyuşal özellikleri bakımından değerlendirildiğinde ise glisin içeren reçetenin kontrol uygulaması genel olarak kötü şekilde değerlendirilirken, ksiloz ve aroma karışımı uygulamaları kabul edilebilir olarak değerlendirilmiştir. Lisin içeren reçete ise kontrol örnekleri yetersiz, aroma karışımı örnekleri kabul edilebilir-iyi ve ksiloz örnekleri ise iyi olarak değerlendirilmiştir. Akrilamid içeriğinin düşürülmesinde en başarılı reçete çalışması olan asparajinaz enzimi içeren reçetede ise kontrol ve aroma karışımı örnekleri kabul edilebilir – iyi olarak, ksiloz örnekleri ise kabul edilebilir olarak değerlendirilmiştir. Asparajinaz enzimi içeren reçetenin her ne kadar aroma analiz sonuçları standart bisküvi reçetesinden daha düşük sonuçlar gösterse de, yapılan duyuşal analiz değerlendirmelerinde lezzet, tat, koku ve genel olarak kabul edilebilir düzeyde bulunmuştur.

Yapılan bu çalışmada, tüm reçetelerde ksiloz ve aroma karışımının Maillard reaksiyonu sonucu oluşan aroma ve akrilamid oluşumu üzerine etkisi açıkça görülmüştür. Ayrıca sadece karamel aroması uygulamasının da akrilamid miktarını arttırıcı etkisinin olduğu belirlenmiştir. Aroma karışımı içerisinde de aynı miktarda kullanılan karamel aroması, aroma karışımında ksilozun yanı sıra akrilamid içeriğini arttırıcı etkilerinden biridir. Ayrıca karamel aroması, içeriğindeki aroma molekülleri ile ürünlerin tadına olumlu etki ederken, Maillard reaksiyonu sonucu oluşan bazı pirazinlerin oluşumunu engellediği tespit edilmiştir.

Maillard reaksiyonu gıdalarda renk oluşumu, aroma oluşumu gibi arzu edilen özelliklerinin yanı sıra akrilamid gibi kanserojen maddelerin oluşumuna da öncülük etmektedir. Farklı bisküvi reçetelerinde, Maillard reaksiyonunun arzu edilen özellikleri renk ve aroma oluşumunu arttırmaya yönelik ksiloz ve aroma karışımı ilave edilmesinin, aynı zamanda akrilamid oluşumunu nasıl etkileyeceğini incelemek için yapılan bu çalışmada sonuç olarak, şeker ve yağ azaltılmasının akrilamid miktarı ile birlikte aroma oluşumunu da azalttığı, BYT, PST ve yağsız süt tozu kullanılan reçetelerde en iyi sonucun PST’da elde edildiği, akrilamid

oluşumunu azaltmada asparajnaz enzimi içeren bisküvi reçetesinin en iyi sonuç verdiği belirlenmiştir.

Maillard reaksiyonundan en verimli şekilde faydalanabilmek için, konu ile ilgili çalışmalar, ksilozun asparajnaz enzimi veya glisin içeren karışımlarıyla geliştirilebilir.

6. KAYNAKLAR

- Ahrne L, Andersson CG, Globerg P, Rosen J, Lignert H (2007). Effect of crusttemperature and water content on acrylamide formation during baking of white bread : Steam and falling temperature baking, *Swiss Society of Food Science and Technology*, 40: 1708-1715.
- Akoh CC, Min DB (2002). *Food lipids, Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*. Marcel Dekkel Inc, New York, Basel.
- Alder Va, Fulcher JG, Leung H, Topor MG (2004). Method for reducing acrylamide inthermally processed foods. Patent US20040058045.
- Ames JM, Apriyantono A, Arnoldi A (1993). Low molecular weight coloured compoundsformed in xylose-lysine model systems. *Food Chemistry*, 46:121-127.
- Amrani-Hemaimi M, Cerny C, Fay LB (1995). Mechanism of the formation of alkylpyrazinesin the Maillard Reaction. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 43: 2818-2822.
- Amrein TM, Andres L, Manzardo GG, Amado R (2006). Investigation on the promotingeffect of ammonium hydrogencarbonate on the formation of acrylamide in model systems. *Food Chemistry*, 54: 10253-10261.
- Amrein TM, Schönbacher B, Escher F, Amado R (2004). Acrylamide in gingerbread: criticalfactors for formation and possible ways for reductions. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 52: 4282-4288.
- Anese M, Quarta B, Frias J (2011a). Modelling the effect of asparaginase in reducing acrylamide formation in biscuits. *Food Chemistry*, 126: 435-440.
- Anese M, Quarta B, Peolux L, Calligans S (2011b). Effect of formation on the capacity of asparaginase to minimize acrylamide formation in short dough biscuits. *Food Research International*, do:10.1016/j.foodres.2011.06.025.
- Anonim (1960). *Standarts Methods of the International Association for Cereal Chemistry Standart No:104*. ICC, Detmold, Germany.
- Anonim (1968). *Standarts Methods of the International Association for Cereal Chemistry Standart No:107*. ICC, Detmold, Germany.
- Anonim (1972). *Standarts Methods of the International Association for Cereal Chemistry Standart No:116*. ICC, Detmold, Germany.
- Anonim (1976). *Standarts Methods of the International Association for Cereal Chemistry Standart No:110/1*. ICC, Detmold, Germany.
- Anonim (1980a). *Standarts Methods of the International Association for Cereal Chemistry Standart No:105-1*. ICC, Detmold, Germany.
- Anonim (1980b). *Official Methods of the International Association of Analytical Communities. Standart No: 980-13*. AOAC, USA.

- Anonim (1984). Standarts Methods of the International Association for Cereal Chemistry Standart No:106-2. ICC, Detmold, Germany.
- Anonim (2007). Baked Goods Turkey, Euromonitor International: Coutry Sector Briefing.
- Anonim (2010a). Wheat flour, durum, Nutrient Values. <http://www.fineli.fi/food.php?foodid=28905&lang=en> (Erişim tarihi: 10.08.2011)
- Anonim (2010b). Acrylaway applications, Biscuits and cookies. <http://www.acrylaway.novozymes.com/en/acrylaway-applications/Pages/biscuits-and-cookies.aspx> (Erişim tarihi: 01.03.2010)
- Anonim (2011). Maillard Reaksiyonları. <http://www.food-info.net/tr/colour/maillard.htm> (Erişim tarihi: 05.05.2011)
- Anonim (2012). Odour Thresold Refeences. <http://www.cschi.cz/odour/files/world/Thresholds%20table.pdf>. (Erişim tarihi: 27.02.2012)
- Ashoor A, Zent J (1984). Maillard browning of common amino acids and sugars. Journal of Food Science, 49: 1206-1207.
- Becalski A, Lau BPY, Lewis D, Seaman SW (2003). Acrylamide in foods: occurrence, sources, and modelling. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51:802–80.
- Belitz HD, Grosch W, Schieberle P (2004). Food Chemistry, 3rd revised edition, Springer, Germany.
- Blank I, Mark J, Polien P, Lindirge C, Mark T (2006). The Maillard reaction in food and Medicine, Centro Congress: Ateneo Federico II, Cost Action 927-IMARS, Joint Workshop, S25, s34, Napoli.
- Brathen E, Kita A, Knutsen SH, Wicklind T (2005). Addition of glycine reduces the content of acrylamide in cereal and potato product. Journal of Agricultural Food Chemistry, 52: 3259-3264.
- Bredie WLP, Mottram DS, Guy RCE (1998). Aroma volatiles generated during extrusion cooking of maize flour. Journal of Agricultural Food Chemistry, 46:1479-1487.
- Bressa F, Tesson N, Rosa MD, Sensidoni A, Tubaro F (1996). Antioxidant effect of Maillard reaction products: Application to a butter cookie of a competition kinetics analysis. Journal of Agricultural Food Chemistry, 44: 692-695.
- Capuano E, Ferrigno A, Acampa I, Afit-Ameur L, Fogliano V (2008). Characterization of the Maillard reaction in bread crisps. European Food Research and Technology, 228: 311-319.
- Capuano E, Ferrigno A, Acampa I, Serpen A, Açar ÖÇ, Gökmen V, Fogliano V (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.
- Capuano E, Olivero T, Acar ÖÇ, Gökmen V, Fagliano V (2010). Lipid oxidation promotes acrylamide formation in fat-rich model systems. *Food Research International*, 43: 1021-1026.
- Cerny C (2008). The aroma side of Maillard reaction. *Annals of New York Academy of Sciences*, 1126: 66-71.
- Cerny C (2010). Thermal generation of aroma active volatiles in food. *The Chemistry and Biology of Volatiles*. A John Wiley & Sons Ltd., 386, Geneva.
- Cerny C, Briffod M (2007). Effect of pH on the Maillard reaction of [¹³C₅] xylose, cysteine and thiamin. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 55: 1552-6.
- Claeys WL, Uleeschouwer KD, Hendricks ME (2005). Effect of amino acids on acrylamide formation and elimination. *Biotechnology Pro.* 21: 1525-1530.
- Claus A, Carle R, Schieber A (2007). Acrylamide in cereal products: A Review. *Journal of Cereal Science*, 47: 118-133.
- Claus A, Weisz GM, Kammerer DR, Carle R, Schieber A (2005). A method for the determination of acrylamide in bakery products using ion trap LC-ESI-MS/MS. *Molecular Nutrition and Food Research*, 49:918-925.
- Claus A, Schreiter P, Weber A, Graeff S, Hermann W, Claupein W, Schieber A, Carle R (2006). Influence of agronomic factors and extraction rate on acrylamide contents in yeast leavened breads. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 8968-8976.
- Cook DJ, Taylor AJ (2005). On-line MS/MS monitoring of acrylamide generation in potato- and cereal-based systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 8926-8933.
- Cremer, DR, Eichner K (2000). The influence of the pH value on the formation of Strecker aldehydes in low moisture model systems and in plant powders. *European Food Research and Technology*, 211: 247-251.
- Ehling S, Hengel M, Shibamoto T (2005). Formation of acrylamide from lipids. *Chemistry and safety of acrylamide*, Friedman M, Mottram DS (eds), Springer, New York, pp 223-233.
- Ehling S, Shibamoto T (2005). Correlation of acrylamide generation in thermally processed model systems of asparagine and glucose with colour formation, amounts of pyrazines formed and antioxidant properties of extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 4813-4819.
- Eicher K, Karel M (1972). The influence of water content and water activity on the sugar-amino browning reaction in model systems under various conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 20: 218-223.
- Elder VA (2005). Method for enhancing acrylamide decomposition. Patent US20050118322.

- Fink M, Andersson R, Rosen J, Aman P (2006). Effect of added asparagine and glycine on acrylamide content in yeast-leavened bread. *Cereal Chemistry*, 83: 218-222.
- Fiselier K, Grob K, Pfefferle A (2004). Brown potato croquettes low in acrylamide by coating with egg/breadcrumbs. *European Food Research and Technology*, 219:111-115.
- Gökmen V, Acar ÖÇ, Arribas-Lorenzo G, Morales FJ (2008a). Investigation the correlation between acrylamide content and browning ratio of model cookies. *Journal of Food Engineering*, 87: 380-385.
- Gökmen V, Acar ÖÇ, Serpen A, Morales FJ (2008b). 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, Çetinkaya Acar Ö, Köksel H, Acar J (2006a). Effects of dough formula and baking conditions on acrylamide and hydroxymethylfurfural formation in cookies. *Food Chemistry*, 104: 1136-1142.
- Gökmen V, Morales FJ, Atac B, Serpen A, Arribas-Lorenzo G (2008c). Multiple-stage extraction strategy for the determination of acrylamide in foods. *Journal of Food Composition, Anal*, doi:10.1016/j.jfca.2008.09.007.
- Gökmen V, Palazoğlu TK (2007). Acrylamide formation in foods during thermal process with a focus on frying. *Food Bioprocess Technology*, 1: 35-42.
- Gökmen V, Palazoğlu TK, Şenyuva HZ (2006b). Relation between the acrylamide formation and time-temperature history of surface and core regions of French fries. *Journal of Food Engineering*, 77: 972-976.
- Gökmen V, Sügüt İ (2007). A non-contact computer vision based analyses of colours in foods. *International Journal Food Engineering*, 3: 1-13.
- Gökmen V, Şenyuva HZ (2006). 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, Şenyuva HZ (2007). Acrylamide formation is prevented by divalent cations during the Maillard reaction, *Food Chemistry*, 103: 196-203.
- Guth H, Grosch W (1990) Comparison of stored soya-bean and rapeseed oils by aroma extract dilution analysis. *Lebensmittel- Wissenschaft und-Technologie*, 23:59-65.
- Gray M, Amrein TM, Graf S, Szalay R, Escher F, Amado R (2005). Reducing the acrylamide the content of a semi-finished biscuit on industrial scale. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 39: 724-728.
- Haase NU, Matthaus B, Vosmann K (2003). Acrylamide in backwaren ein Sachstandbericht. *Getreide, Mehl und Brot*, 57:180-184.

- Hedegaard RU, Fradsen H, Graby K, Apostolopoulou A, Skilosted LH (2007). Model studies on acrylamide generation from glucose/asparagine in aqueous glycerol. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 50 (2): 486-492.
- Hedriksen HV, Kornbrust BA, Qstergaard PR, Stringer MA (2009). Evaluation the potential for enzymatic acrylamide mitigation in a range of food products using on asparaginase from *Aspergillus oryzae*. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 57: 4168-4176.
- Heiniö RL (2006). Sensory attributes of bakery products. *Bakery products: science and Technology*, Hui VH, Blackwell Publishing, 285-298.
- Ho CT, Chen Q (1994). Lipids in food flavours. ACS Symposium Series; American Chemical Society: Washington, DC.
- Ho CT, Shahidi F (2005). Flavour Components of fats and Oils. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Sixth Edition, Six Volume Set.*, Shahidi F. John Wiley & Sons, Inc. Canada, 387-411.
- Hoffman T, Schieberle P (2007). Thermal processing: more than extending the shelf life of food. *Thermal Processing of Foods: Potential health benefits and risks*, Eisenbrand G, Engel KH, Hartwing A, Knorr D, Knutsen IB, Schlatter J, Schreier P, Steinberg P, Vieths S, Wiley VCH, Verlag GmbH&CoKGaA, Germany, 26-49.
- Hwang H, Hartman TG, Ho C (1995). Relative reactivities of amino acids in pyrazine formation. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 43: 179-184.
- Hwang H, Hartman TG, Rosen RT, Ho C (1994). Formation of pyrazines from the Maillard reaction of glucose and lysine- α -amine- ^{15}N . *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 42: 1000-1004.
- Jalbout AF, Shipar AH (2007). Formation of pyrazines in hydroxyacetaldehyde and glycine nonenzymatic browning Maillard reaction: A computationed study. *Food Chemistry*, 103: 1208-1216.
- JECFA (2005). Joint Expert Committee on Food Additives. http://www.who.int/ipcs/food/summaries/summary_report_64_final.pdf.1.October2006. (Erişim tarihi: 09.09.2011)
- Khanbari OS, Thompson AK (1993). Effects of amino acids and glucose on the fry colour of potato crisps. *Biomedical and Life Sciences*, 36: 359-364.
- Kim SK, Yon HN, Rhee JS (2000). The effects of roasting temperatures on the formation of headspace volatile compounds in perilla seed oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77:451-156
- Kita A, Bråthen E, Knutsen SH, Wicklund T (2004). Effective ways of decreasing acrylamide content in potato crisps during processing. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 52: 7011- 6.
- Koutsidis G, Simons SPJ, Thong YH, Haldoupis Y, Monica-Lazaro J, Wedzicha BL, Mottram DS (2009). Investigation on the effects of amino acids on acrylamide,

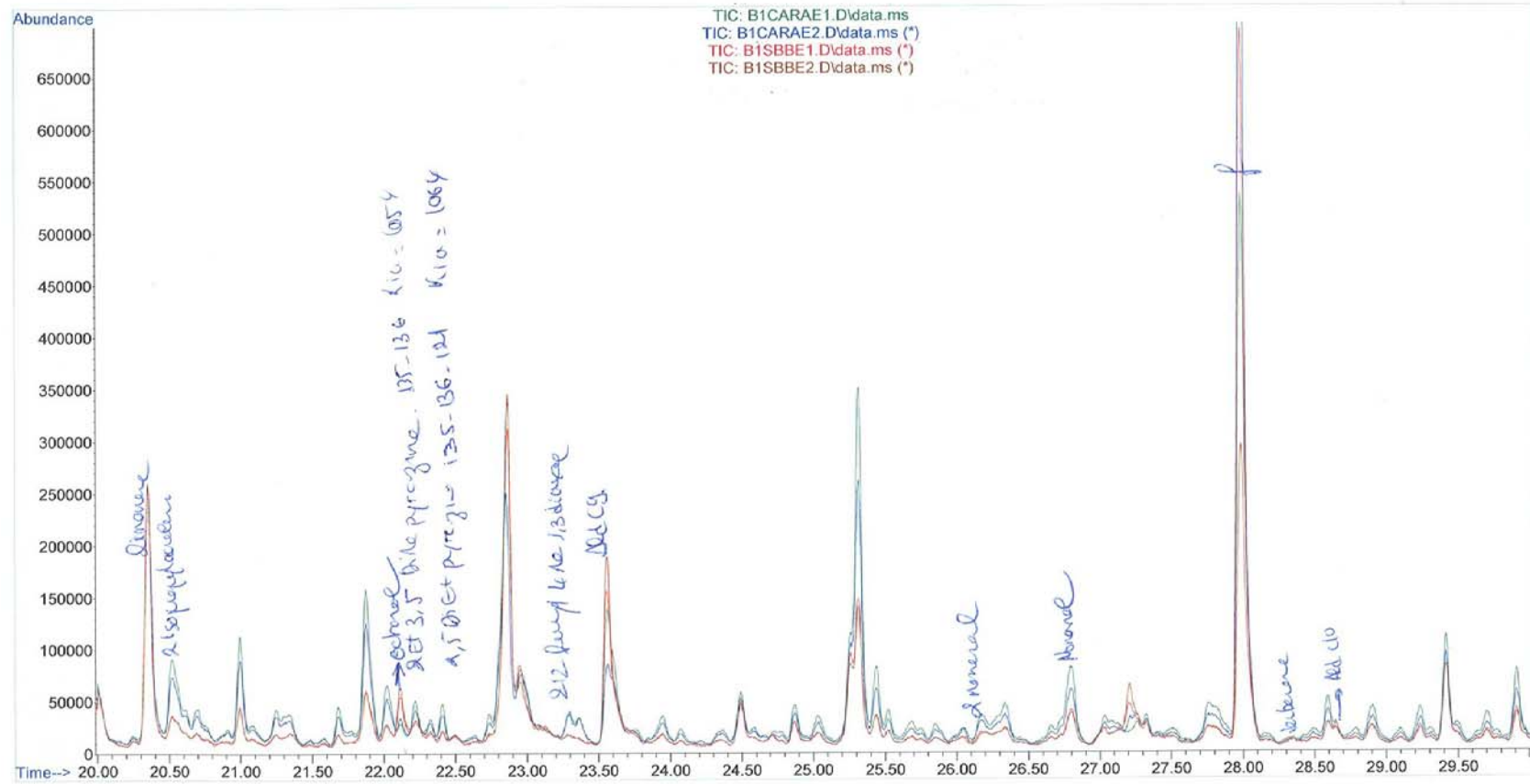
- pyrazines and Michael addition products in model systems. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 57: 9011-5.
- Kolek E, Simko P, Simon P (2006). Inhibition of acrylamide formation in asparagine/D-glucose model systems by NaCl addition, *European Food Research and Technology*, 224: 283-284.
- Labuza TP, Tannenbaum SR, Karel M (1970). Water content and stability of low moisture and intermediate moisture foods. *Journal of Food Technology*, 24: 543-550.
- Lambert I, Kokini J (2001). Effect of L-cysteine on the rheological properties of wheat flour. *Cereal Science*, 78: 226-230.
- Leahy MM (1985). The Effects of pH, Types of Sugar and Amino Acid, and Water Activity on the Kinetics of the Formation of Alkyl Pyrazines, Ph.D. Thesis, University of Minnesota, Minneapolis, p. 116.
- Leahy MM, Reineccius GA (1989). In thermal generation of aromas, Parliment TH, McCorrin and Ho. CT, Ed; American Chemical Society, Washington, 196-208.
- Levine RA, Smith RA (2005). Sources of variability of acrylamide levels in a cracker model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 4410-4416.
- Lorenzo GA, Fogliano V, Morales FJ (2009). Acrylamide formation in cookie system as influenced by the oil phenol profile and degree of oxidation. *European Food Research and Technology*, 229:63-72.
- Low MY, Koutsidis G, Parker JK, Elmore JS, Dodson AT, Mottram DS (2006). Effect of citric acid and glycine addition on acrylamide and flavour formation in potato model systems. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 54: 5976-5983.
- Madruga MS, Mottram DS (1998). The effect of pH on the formation of volatile compounds produced by heating a model system containing 5'Imp and Cysteine. *Journal of Brazilian Chemical Society*, 9: 261-271.
- Matsakidou A, Blekas G, Paraskevopoulou A (2010). Aroma and physical characteristics of cakes prepared by replacing margarine with extra virgin olive oil. *Food Science and Technology*, 43: 949-957.
- Mlotkiewickz JA (1998). Role of Maillard Reaction in Food Industry. The Maillard Reaction and Medicine, O'Brien J, Nursten HE, James M, Crabbe C, Ames JM. The Royal Society of Chemistry, UK, 19-27.
- Mottram DS (1994). Flavour compounds formed during the Maillard reaction. Thermally Generated Flavours: Maillard microwave and extrusion process, Parliment TH, Morello MJ, McGarrin RJ. American Chemical Society, Michigan, 104-125.
- Mottram R (2011). The LRI & Odour Database, <http://www.odour.org.uk/information.html>. (Erişim tarihi: 18.08.2011)

- Mundt S, Wedzicha BL (2005). Role of glucose in Maillard browning of maltose and glycine: A Radiochemical Approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 6798-6803.
- Mundt S, Wedzicha BL (2003). A kinetic model for the Glucose-Fructose- Glycine browning reaction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 3651-3655.
- Negrone M, D'Agostina A, Arnoldi A (2001). Effects of Olive, Canola and Sunflower Oil on the formation of volatiles from the Maillard reaction of lysine with xylose and glucose. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 49: 439-445.
- Nicolau LP, Revel G, Bertrand A, Maujean A (2000). The formation of flavour components by the reaction of amino acid and carbonyl compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 3761-3766.
- Nilsson U, Jagerstad M (1987). Hydrolysis of lactitol, maltitol and Palatinin by human intestinal biopsies. *British Journal of Nutrition*, 58:199-206.
- Pawliszyn J (1999). *Application of Solid Phase Microextraction*. The Royal Society of Chemistry, UK.
- Pedreschi F, Kaack K, Granby K (2008). The effect of asparaginase on acrylamide formation in French fries. *Food Chemistry*, 109: 386-392.
- Poinot P, Arvisenet G, Grua-Priol J, Colas D, Fillionneau C, Bail AL, Prost C (2008). Influence of formulation and process on the aromatic profile and physical characteristics of bread. *Journal of Cereal Science*, 48: 686- 697.
- Pozo- Bayon MA, Ruiz- Rodriguez KP, Cayot N (2007). Influence of eggs on the aroma composition of a sponge cake and on the aroma release in model studies on flavored sponge cakes. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 55: 1418-1426.
- Reineccius G (2006). *Flavour Chemistry and Technology*, Taylor & Francis Group LLC, USA.
- Robert F, Vuataz G, Pllien P, Saucy F, Alonso M-I, Bauwens I (2004). Acrylamide formation from asparagine under low moisture Maillard reaction conditions. 1. Physical and chemical aspects in crystalline model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 6837-42.
- Rydeberg P, Eriksson S, Tareke E, Karlsson P, Ehrenberg L, Tornqvist M (2003). Investigation of factors that influence the acrylamide content of heated foodstuffs. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 51: 7012-7018.
- Sadd PA, Hamlet CG, Liang L (2008). Effectiveness of methods for reducing acrylamide in bakery products. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 56: 6154-6161.
- Scarpello R, Soukup RJ (1993). Key flavours from heat reactions of food ingredients. *Flavour Science: Sensible principles and Techniques*, Acree TE, Teranishi R, ACS Professional Reference Book, Washington DC, USA, 309-335.

- Sertakan SG (2006). Bisküvi ve kraker üretiminde tritikale ununun kullanım olanakları. Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Tekirdağ.
- Souci SW, Fachman W, Kraut H (2008). Food Composition and Nutrition Tablets 7th. revised and completed addition. Medharm, Scientific Publishers, Taylor & Francis, A CRC Press Book, 1300, Germany.
- Sudryk N, Rosen J, Andersson R, Aman P (2004). Effects of asparagine, fructose and baking conditions on acrylamide content in yeast leavened bread. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 2047-2051.
- Summa C, Wenzl T, Brohee M, Callie B, Kalam E (2006). Investigation of the correlation of the acrylamide content and the antioxidant activity of model cookies. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 54: 853- 859.
- Sun-Pan B, Kua JM, Wu CM (2007). Flavour compounds in Foods. Chemical and Functional Properties of Food Components, Sikorski ZE, CRC Press, Poland, 296-318.
- Stadler RH, Blank I, Varga N, Robert F, Hau J, Guy, PA (2002). Acrylamide from Maillard reaction products. *Nature*, 419: 449-450
- Taeymans D, Wood J, Ashby P, Blank I, Studer A, Stadler RH, Gonde P, Van Eijck P, lalljie S, Lingnert H, Lindblom M, Matissek R, Muller D, Tallmadge D, O'Brien J, Thompson S, Silvian D, Whitmore T (2004). A review of acrylamide; an industry perspective on research analysis, formation and control. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44: 323-347.
- Taylor AJ, Linforth RST (2010). Food Flavour Technology, Wiley-Blackwell, UK.
- Tressl R, Rewicki D (1998). Heat Generated Flavours and Precursors. The Flavour Chemistry: 30. Years of Progress, Teranishi R, Wick EL, Harnestein I. Kluwer Academic, Plenum Publisher, New York, 305-325.
- Vass M, Amrein TM, Schonbacher B, Echer F, Amado R (2004). Ways to reduce acrylamide formation in cracker products. *Czech Journal of Food Science*, 22: 19-21.
- Voelker L (2005). Interactions of baker's yeast with dough substances. *Getreidetechnologie*, 59: 10-14.
- Wagner R, Czerny M, Bielohradsky J, Grosch W (1999). Structure-odour-activity relationships of alkylpyrazines. *Z Lebensm Unters Forsch A*, 208:308-316.
- Warner K, Orr P, Glynn M (1997). Effect of fatty acid composition of oils on flavor and stability of fried food. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 74: 347-356.
- Weenen H, Rooij JFM (1998). Process Flavorings. Flavorings, Ziegler E, Ziegler H. Wiley VHH, Germany, 233-260.
- Weenen H, Van der Ven JGM (2001). The formation of Strecker Aldehydes. American Chemical Society, Netherlands, 183-195.

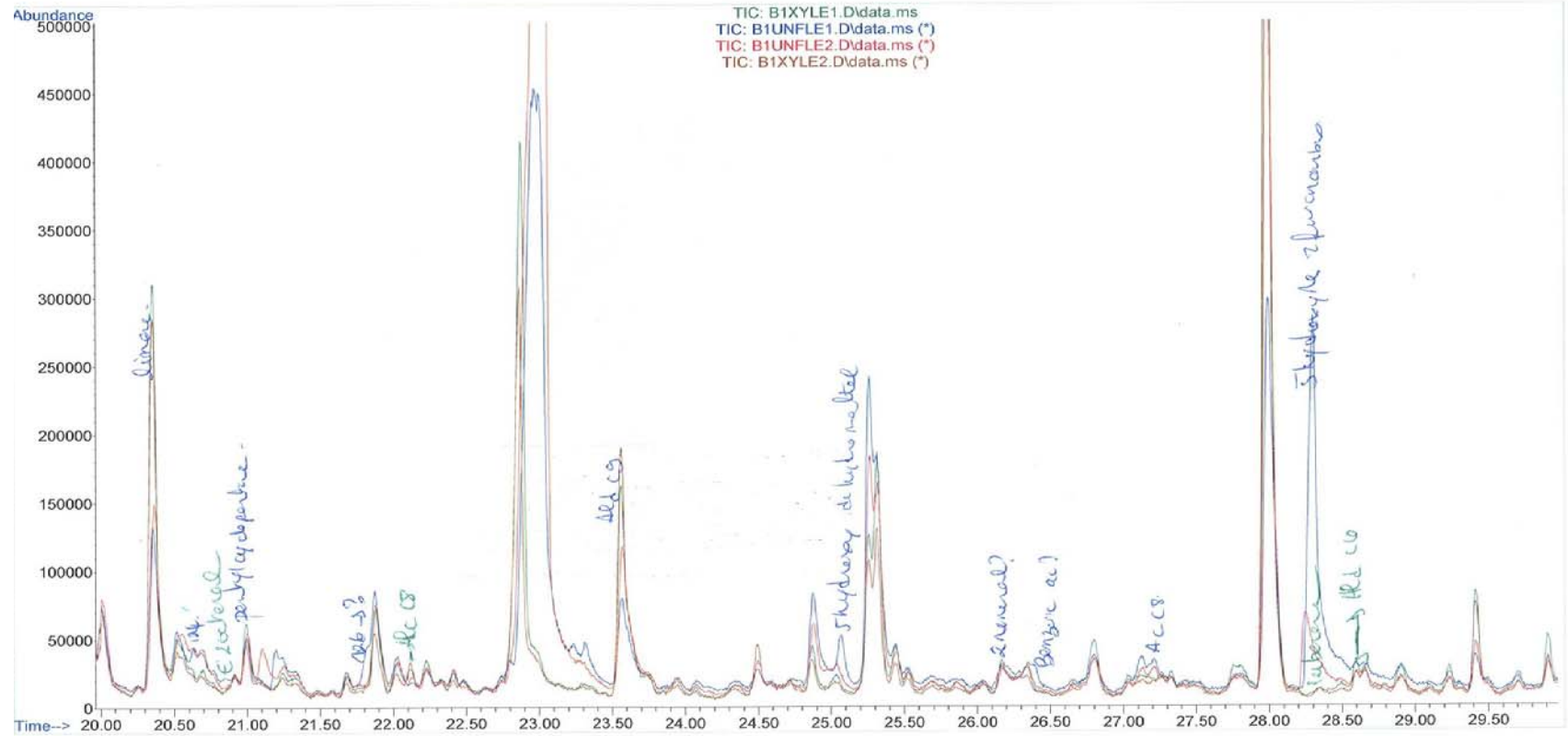
- Weisshaar R (2004). Acrylamid in Backware- Ergebnisse von Modell-versuchen. Deutsche lebensmittel- Rundschau, 100: 341-344.
- Zhang Y, Yiping R, Zang Y (2009). New research developments on acrylamide: Analytical chemistry, formation mechnaism and mitigation recipies. Chemistry Review, 109: 4375- 4397.

File :O:\HPCHEM\ptm\GCMSSPME\1\Z-Biscuits\B1CARAE1.D
Operator : 080609
Acquired : 9 Jun 2009 13:15 using AcqMethod SPMEHP1
Instrument : GCMS-ENC
Sample Name: Biscuit n°1-CaramE1-2.4g+8.3gwater-grey fiber
Misc Info :
Vial Number: 20



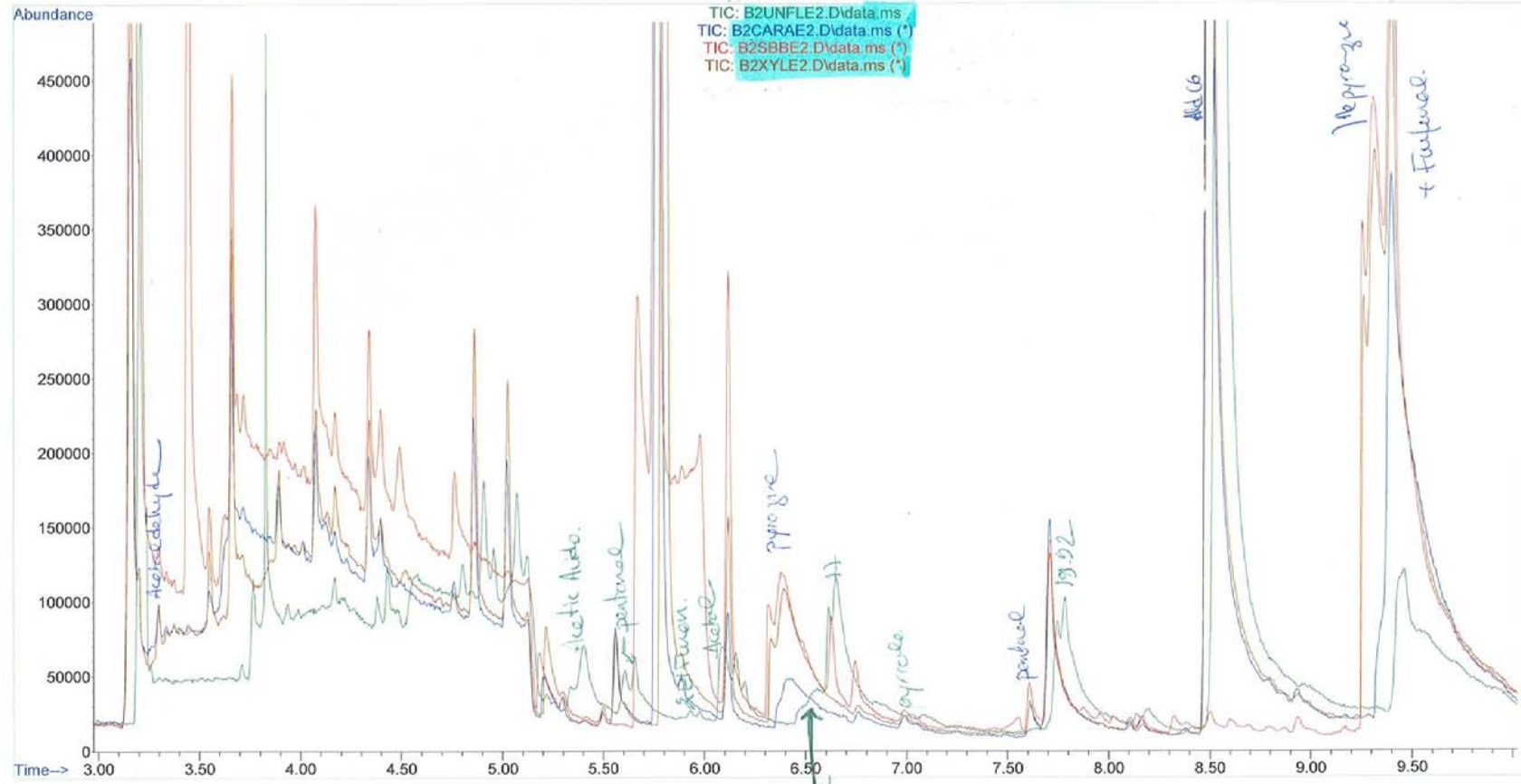
Resim 3. Standart bisküvi reçetesine ait karamel ve aroma karışımı uygulamaları kromatogramları (3)

File :O:\HPChem\ptm\GCMSSPME\1\Z-Biscuits\B1XYLE1.D
Operator : 080609
Acquired : 9 Jun 2009 3:25 using AcqMethod SPMEHP1
Instrument : GCMS-ENC
Sample Name: Biscuit n°1-XylosE1-2.4g+8.3gwater-grey fiber
Misc Info :
Vial Number: 15



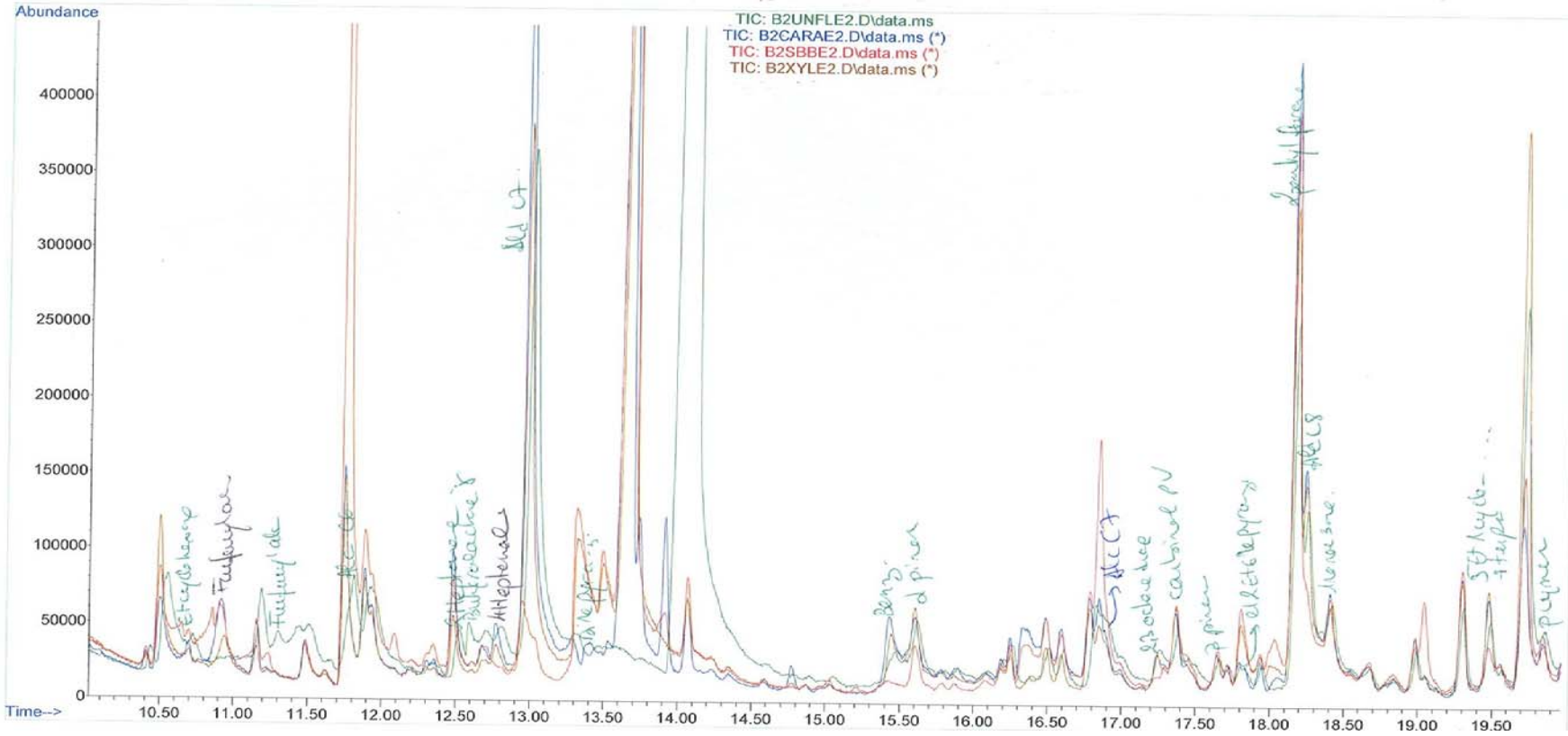
Resim 6. Standart bisküvi reçetesine ait kontrol ve ksiloz uygulamaları kromatogramları (3)

File :O:\HPChem\ptm\GCMSSPME\1\Z-Biscuits\B2UNFLE2.D
Operator : 100609
Acquired : 10 Jun 2009 18:49 using AcqMethod SPMEHP1
Instrument : GCMS-ENC
Sample Name: Biscuit n°2-Unfl E2-2.4g+8.3gwater-grey fiber
Misc Info :
Vial Number: 3



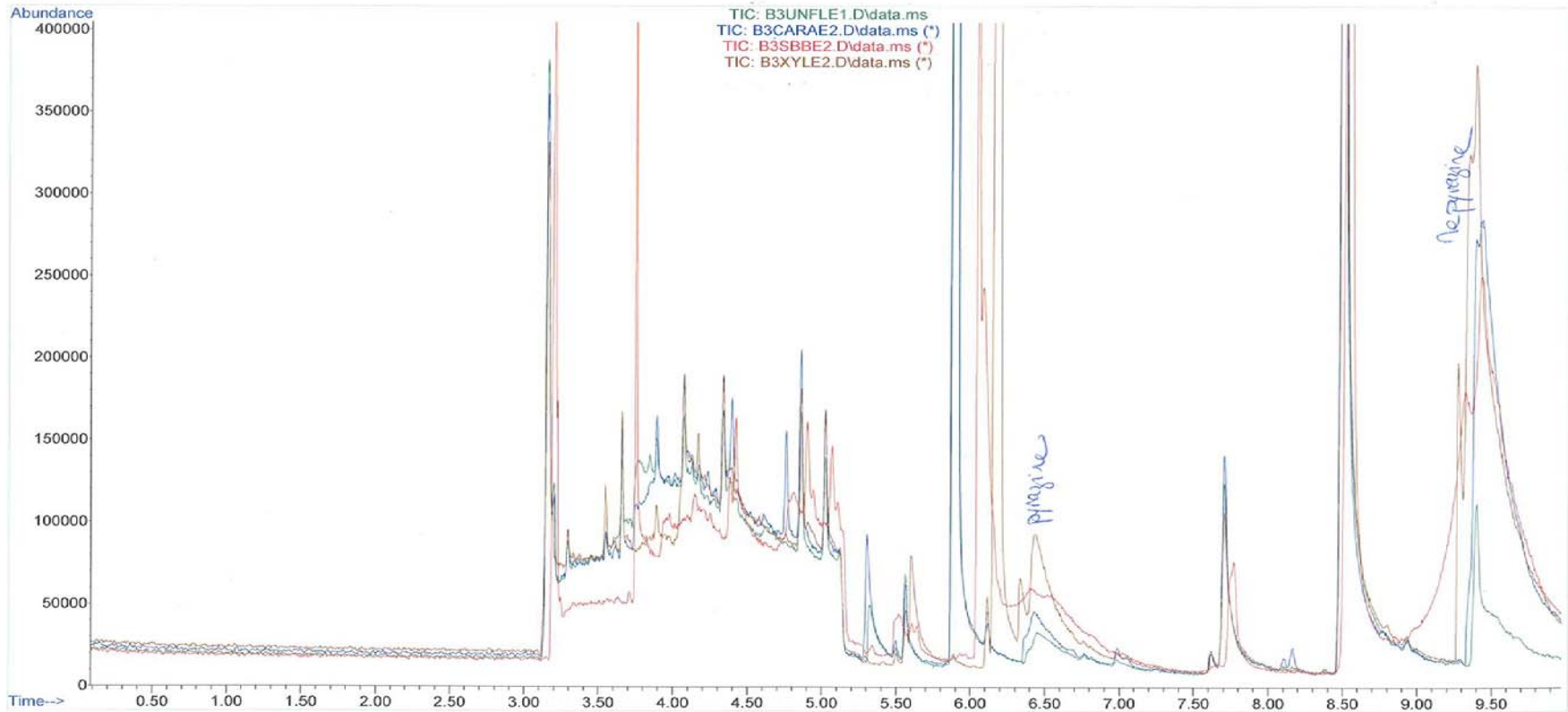
Resim 7. Şekeri %50 azaltılmış bisküvi reçetesine ait kromatogramlar (1)

File :O:\HPChem\ptm\GCMSSPME\1\Z-Biscuits\B2UNFLE2.D
Operator : 100609
Acquired : 10 Jun 2009 18:49 using AcqMethod SPMEHP1
Instrument : GCMS-ENC
Sample Name: Biscuit n°2-Unfl E2-2.4g+8.3gwater-grey fiber
Misc Info :
Vial Number: 3



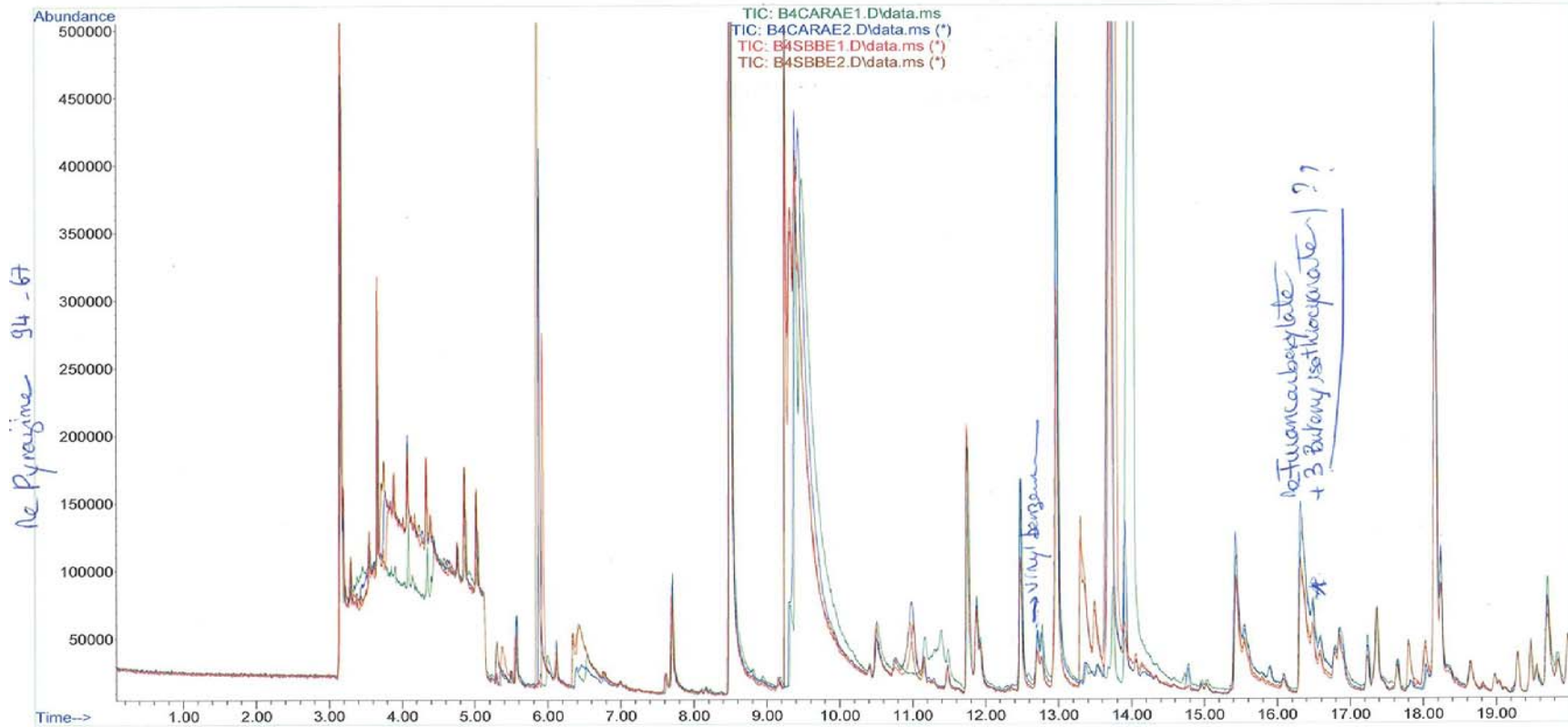
Resim 8. Şekeri %50 azaltılmış bisküvi reçetesine ait kromatogramlar (2)

File :O:\HPChem\ptm\GCMSSPME\1\Z-Biscuits\B3UNFLE1.D
Operator : 150609
Acquired : 15 Jun 2009 18:50 using AcqMethod SPMEHP1
Instrument : GCMS-ENC
Sample Name: Biscuit n°3-Unfl E1-2.4g+8.3gwater-grey fiber
Misc Info :
Vial Number: 6



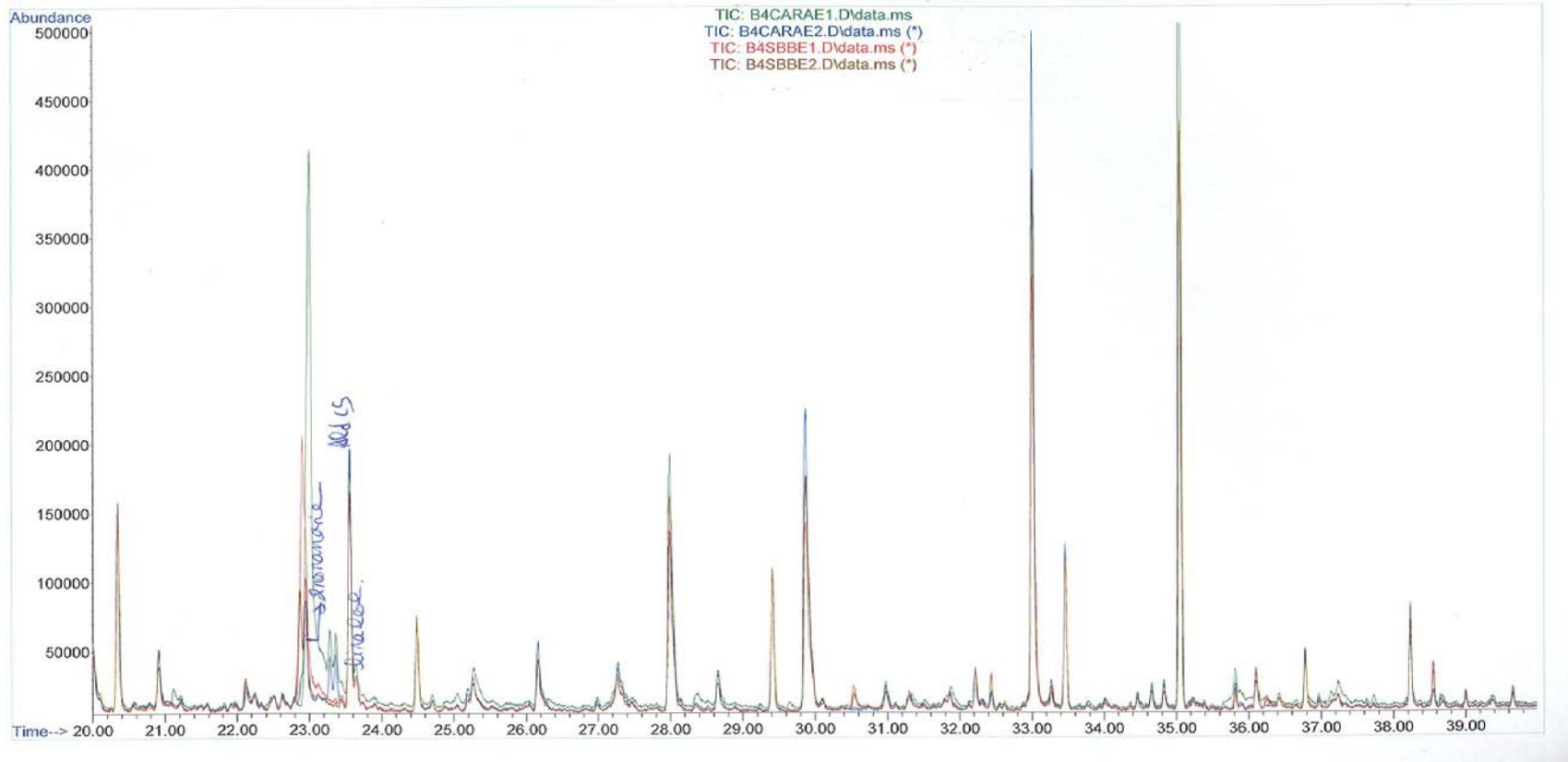
Resim 9. Şekeri % 100 azaltılmış bisküvi reçetesine ait kromatogramlar (1)

File :O:\HPChem\ptm\GCMSSPME\1\Z-Biscuits\B4CARAE1.D
Operator : 250609
Acquired : 25 Jun 2009 14:06 using AcqMethod SPMEHP1
Instrument : GCMS-ENC
Sample Name: Biscuit n°4-CaraE1-2.4g+8.3gwater-grey fiber
Misc Info :
Vial Number: 6



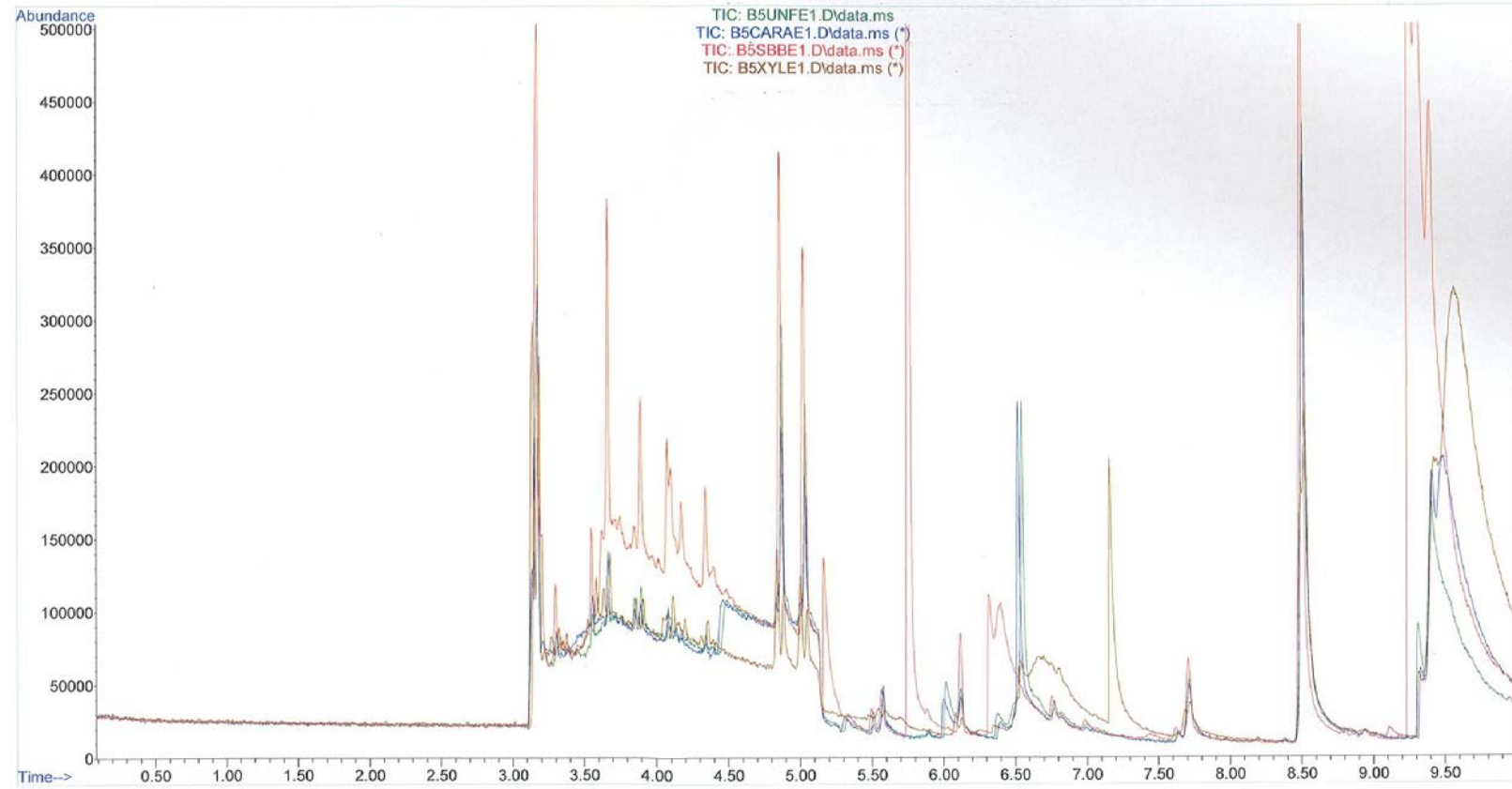
Resim 10. Yağı %50 azaltılmış bisküvi reçetesine ait kromatogramlar (1)

File :O:\HPChem\ptm\GCMSSPME\1\Z-Biscuits\B4CARAE1.D
Operator : 250609
Acquired : 25 Jun 2009 14:06 using AcqMethod SPMEHPI
Instrument : GCMS-ENC
Sample Name: Biscuit n°4-CaraE1-2.4g+8.3gwater-grey fiber
Misc Info :
Vial Number: 6



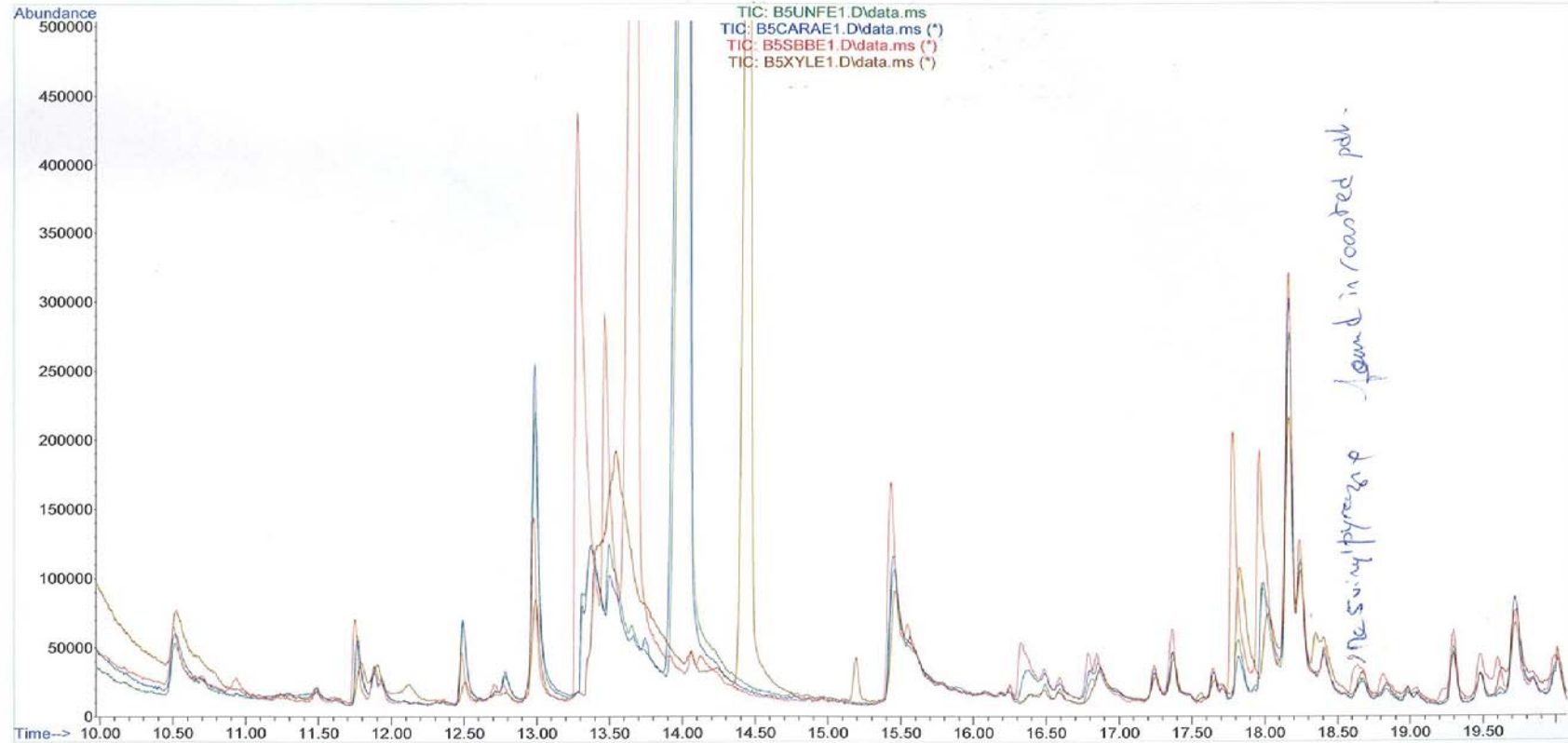
Resim 11. Yağı %50 azaltılmış bisküvi reçetesine ait kromatogramlar (2)

File :O:\HPChem\ptm\GCMSSPME\1\Z-Biscuits\B5UNFE1.D
Operator : 300609
Acquired : 30 Jun 2009 17:24 using AcqMethod SPMEHP1
Instrument : GCMS-ENC
Sample Name: Biscuit n°5-UNFE1-2.4g+8.3gwater-grey fiber
Misc Info :
Vial Number: 2



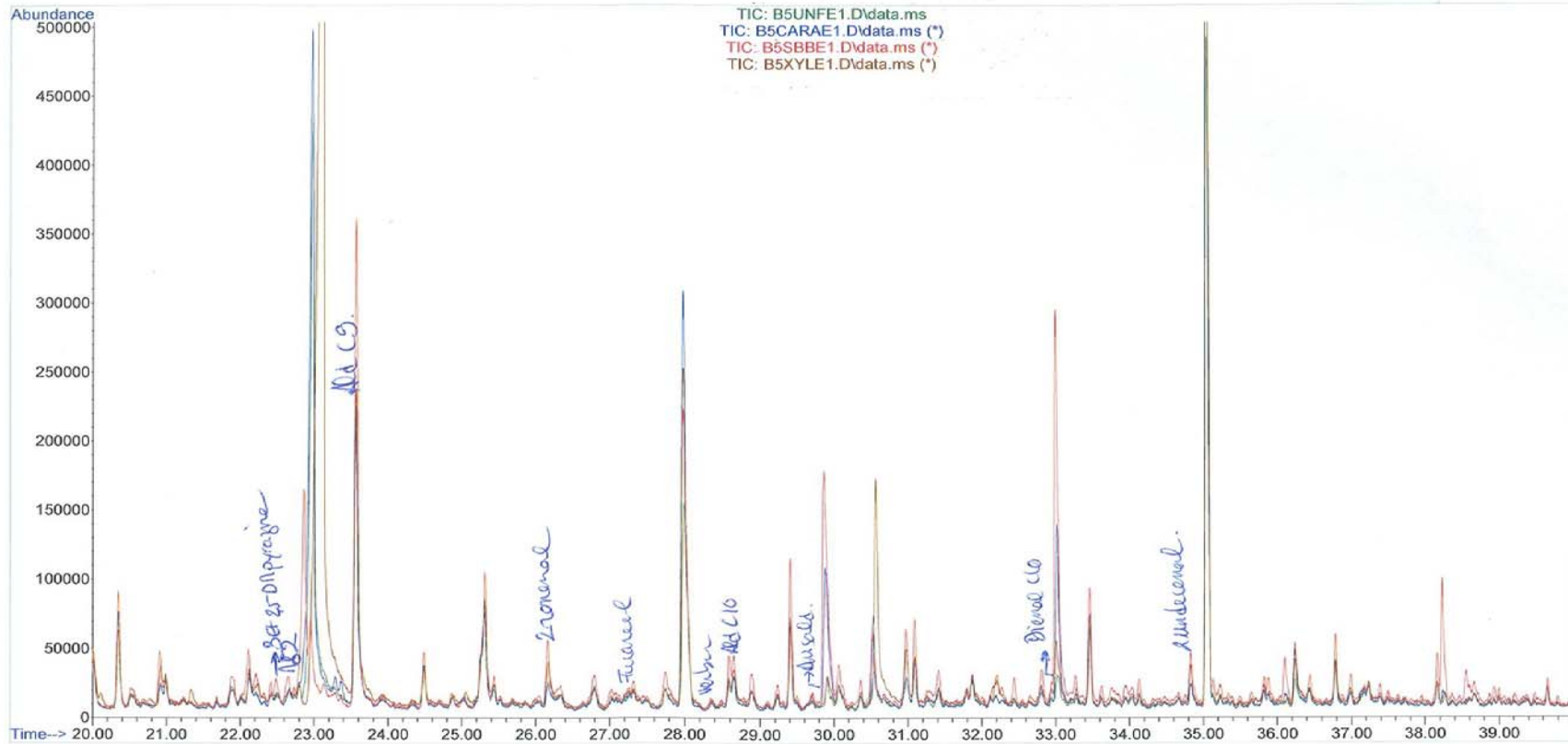
Resim 12. BYT içeren bisküvi reçetesine ait kromatogramlar (1)

File :O:\HPChem\ptm\GCMSSPME\1\Z-Biscuits\B5UNFE1.D
Operator : 300609
Acquired : 30 Jun 2009 17:24 using AcqMethod SPMEHP1
Instrument : GCMS-ENC
Sample Name: Biscuit n°5-UNFE1-2.4g+8.3gwater-grey fiber
Misc Info :
Vial Number: 2



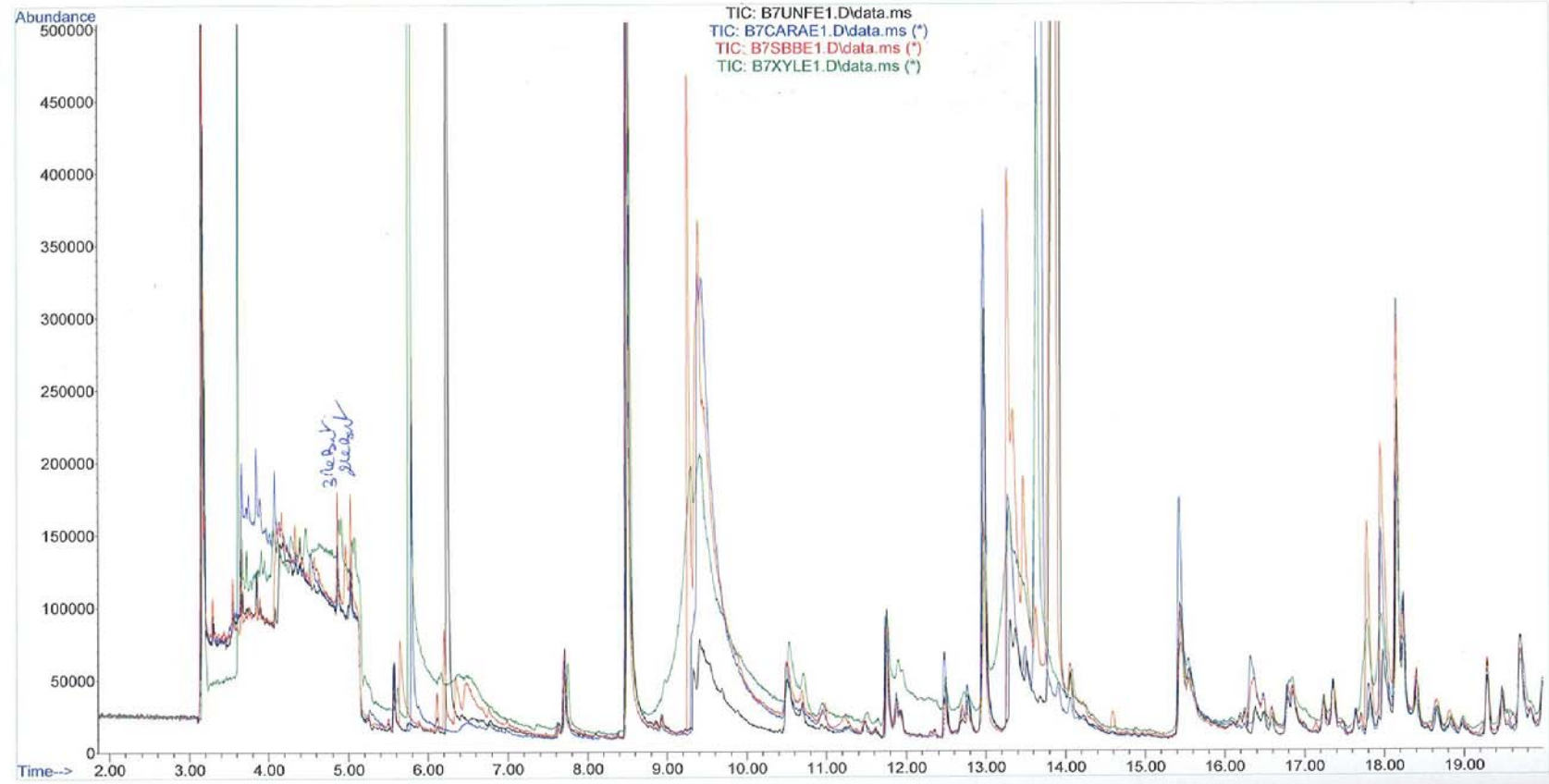
Resim 13. BYT içeren bisküvi reçetesine ait kromatogramlar (2)

File :O:\HPChem\ptm\GCMS\SPME\1\Z-Biscuits\B5UNFE1.D
Operator : 300609
Acquired : 30 Jun 2009 17:24 using AcqMethod SPMEHP1
Instrument : GCMS-ENC
Sample Name: Biscuit n°5-UNFE1-2.4g+8.3gwater-grey fiber
Misc Info :
Vial Number: 2



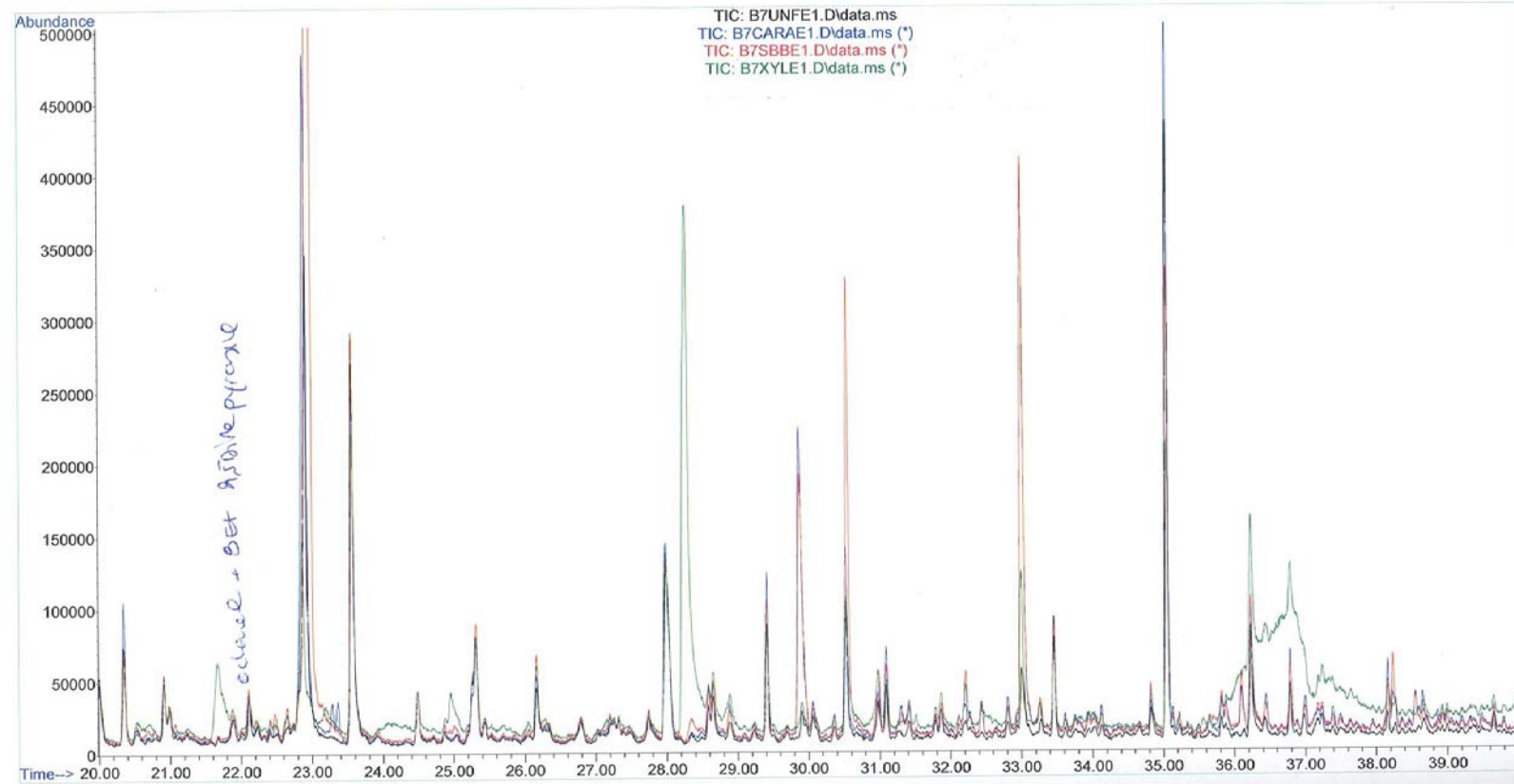
Resim 14. BYT içeren bisküvi reçetesine ait kromatogramlar (3)

File :O:\HPCHEM\ptm\GCMSSPME\1\Z-Biscuits\B7UNFE1.D
Operator : 080709
Acquired : 9 Jul 2009 17:30 using AcqMethod SPMEHP1
Instrument : GCMS-ENC
Sample Name: Biscuit n°7-UNFE1-2.4g+8.3gwater-grey fiber
Misc Info :
Vial Number: 2



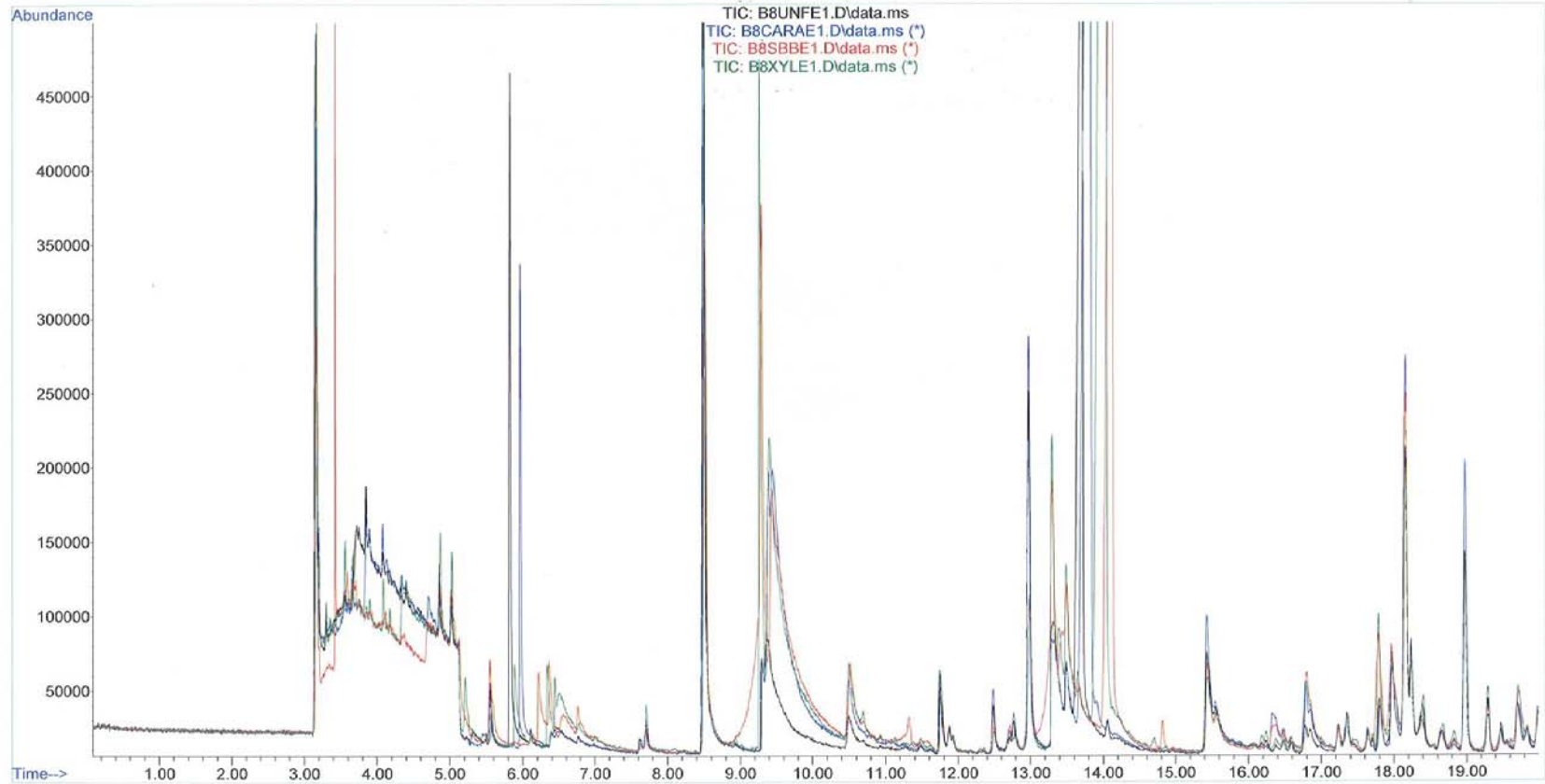
Resim 17. Glisin içeren bisküvi reçetesine ait kromatogramlar (1)

File :O:\HPChem\ptm\GCMSSPME\1\Z-Biscuits\B7UNFE1.D
Operator : 080709
Acquired : 9 Jul 2009 17:30 using AcqMethod SPMEHP1
Instrument : GCMS-ENC
Sample Name: Biscuit n°7-UNFE1-2.4g+8.3gwater-grey fiber
Misc Info :
Vial Number: 2



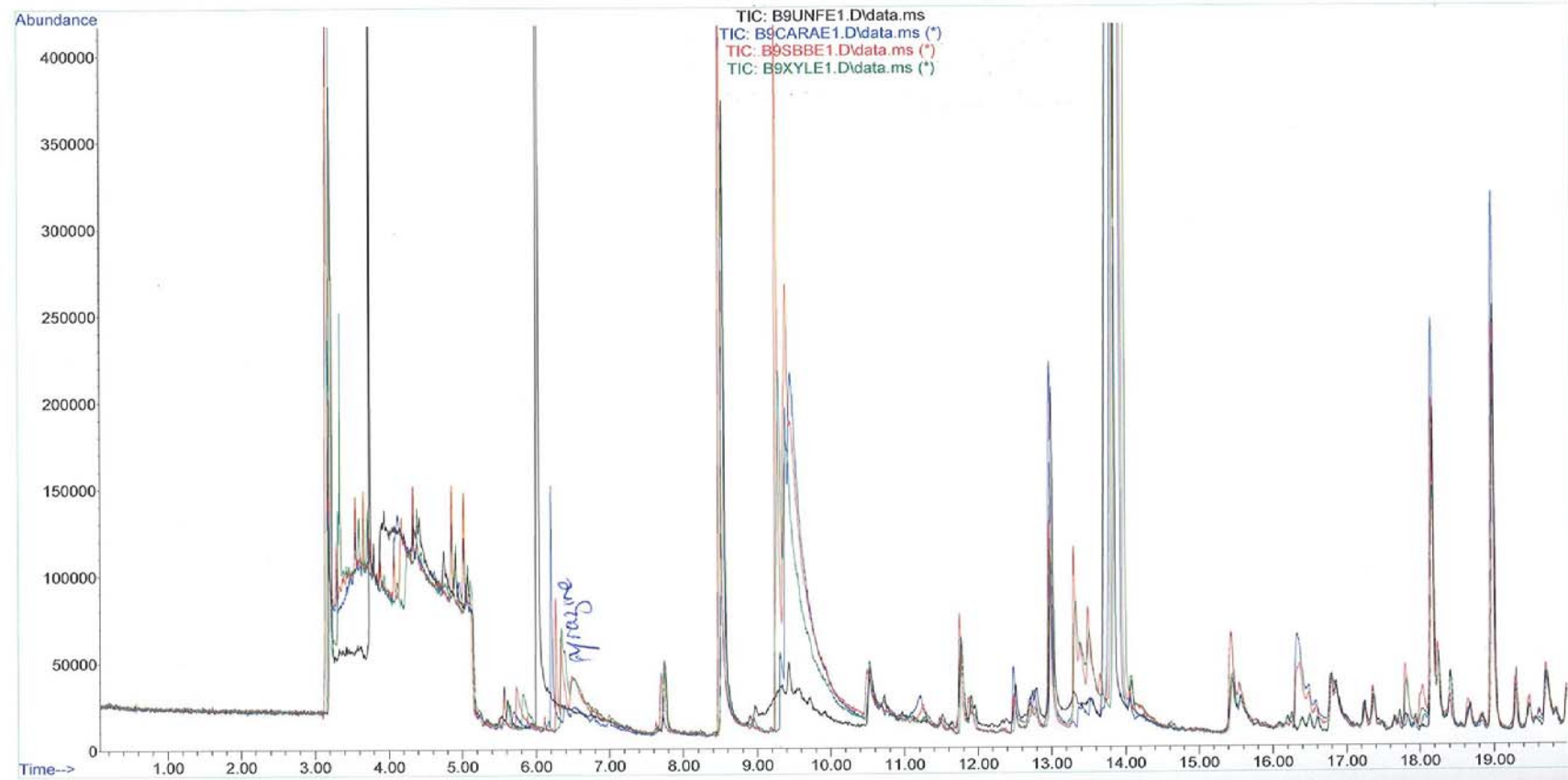
Resim 18. Glisin içeren bisküvi reçetesine ait kromatogramlar (2)

File :O:\HPChem\ptm\GCMSSPME\1\Z-Biscuits\B8UNFE1.D
Operator : 220709
Acquired : 22 Jul 2009 20:00 using AcqMethod SPMEHP1
Instrument : GCMS-ENC
Sample Name: Biscuit n°8-UNFE1-2.4g+8.3gwater-grey fiber
Misc Info :
Vial Number: 2



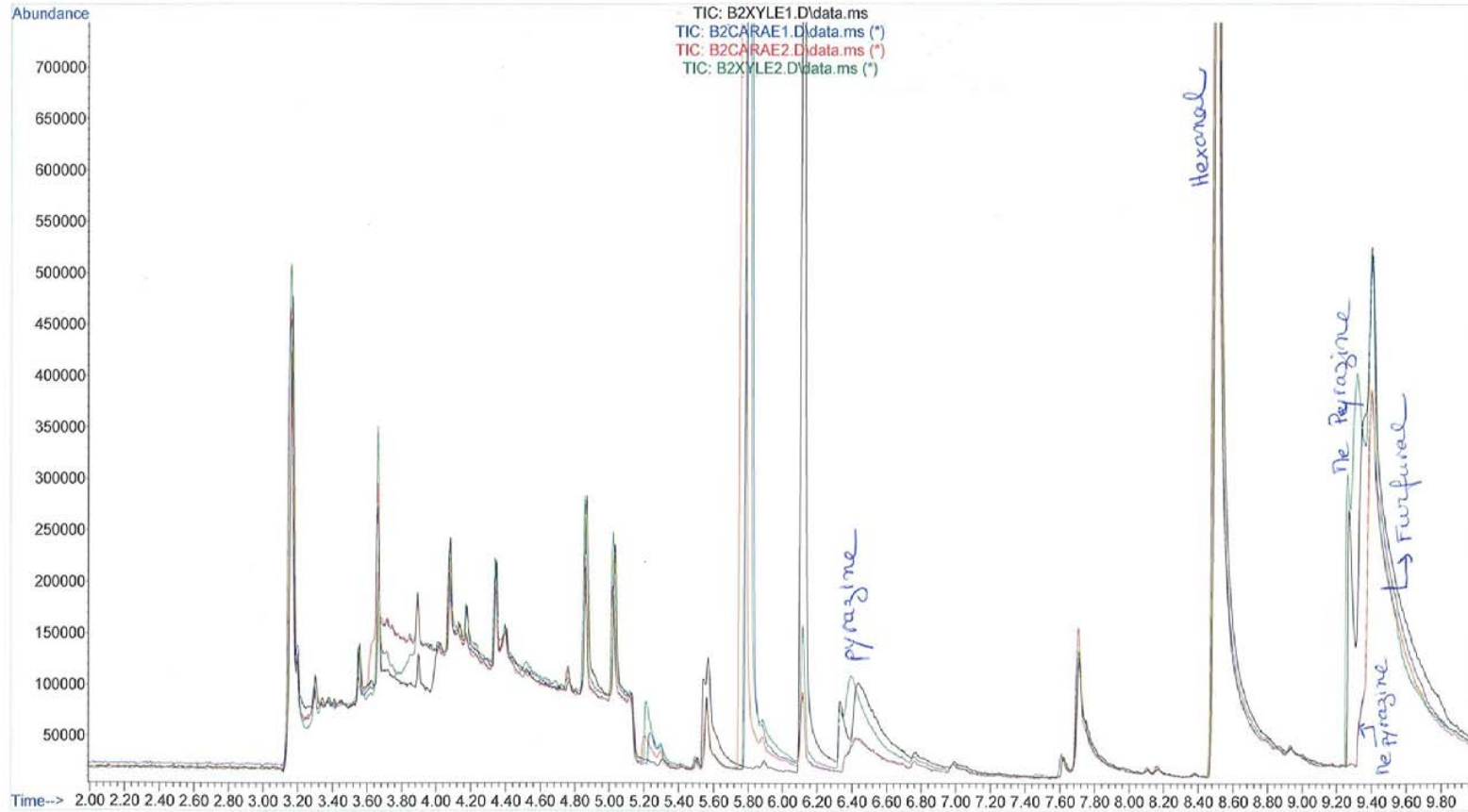
Resim 19. Lisin içeren bisküvi reçetesine ait kromatogramlar (1)

File :O:\HPChem\ptm\GCMSSPME\1\Z-Biscuits\B9UNFE1.D
Operator : 280709
Acquired : 28 Jul 2009 14:18 using AcqMethod SPMEHP1
Instrument : GCMS-ENC
Sample Name: Biscuit n°9-Xylose-2.4g+8.3gwater-grey fiber
Misc Info :
Vial Number: 2



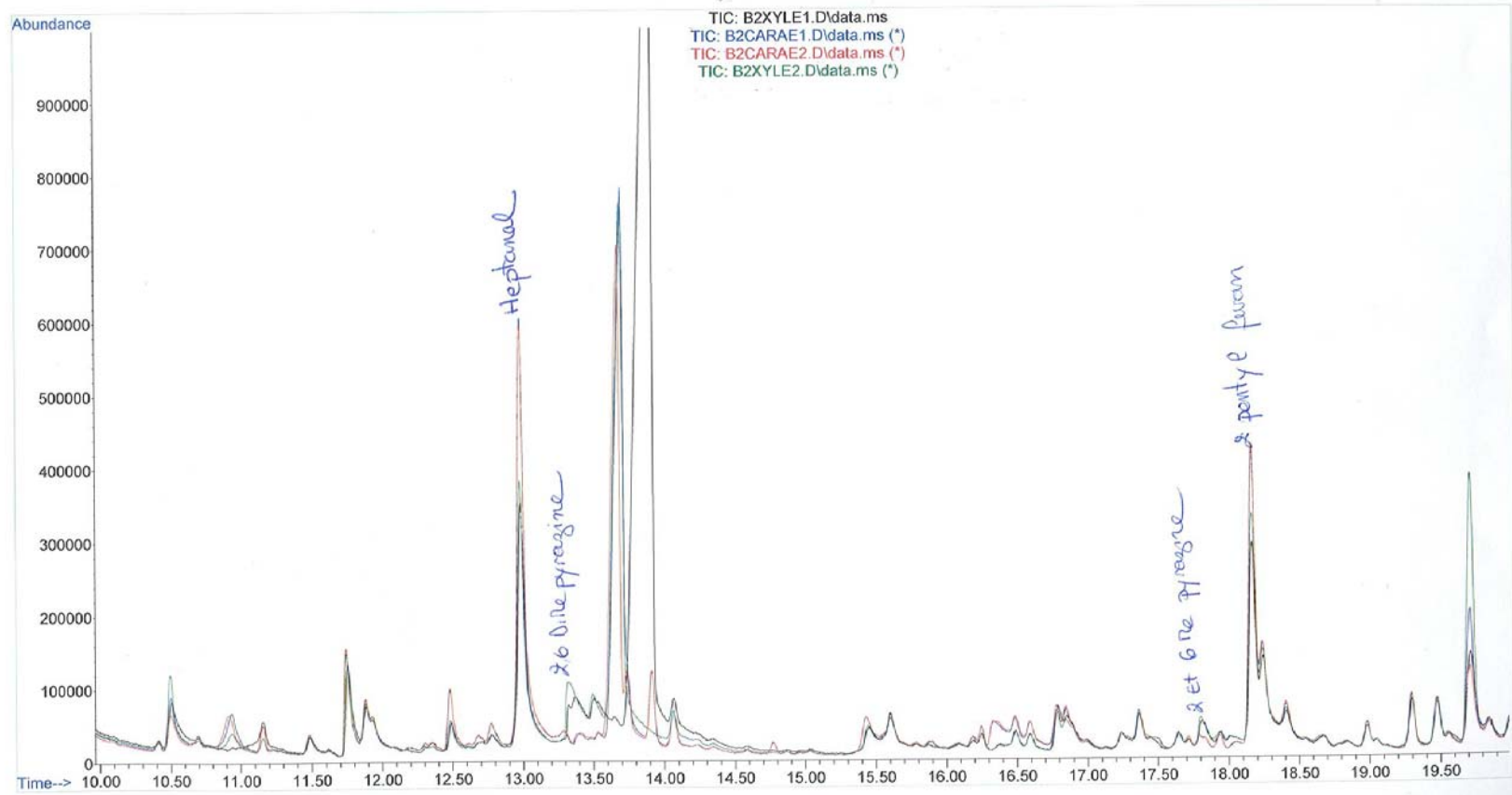
Resim 20. Asparajinaz enzimi içeren bisküvi reçetesine ait kromatogramlar (1)

File :O:\HPCHEM\ptm\GCMSSPME\1\Z-Biscuits\B2XYLE1.D
Operator : 100609
Acquired : 11 Jun 2009 1:56 using AcqMethod SPMEHP1
Instrument : GCMS-ENC
Sample Name: Biscuit n°2-XylosE1-2.4g+8.3gwater-grey fiber
Misc Info :
Vial Number: 4



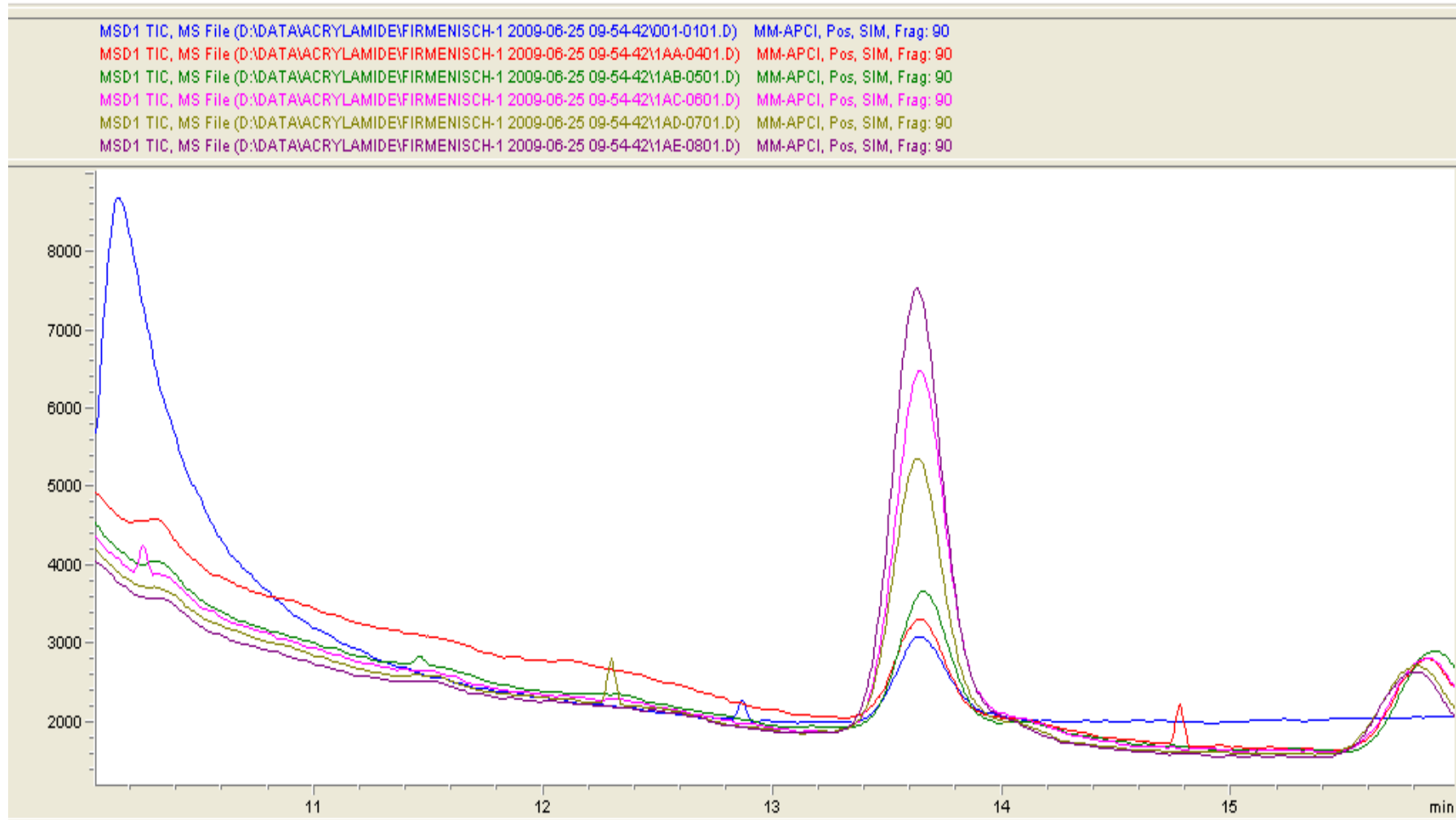
Resim 21. Aroma analizleri, tekrarlanabilirlik (1)

File :O:\HPCHEM\ptm\GCMSSPME\1\Z-Biscuits\B2XYLE1.D
Operator : 100609
Acquired : 11 Jun 2009 1:56 using AcqMethod SPMEHP1
Instrument : GCMS-ENC
Sample Name: Biscuit n°2-XylosE1-2.4g+8.3gwater-grey fiber
Misc Info :
Vial Number: 4

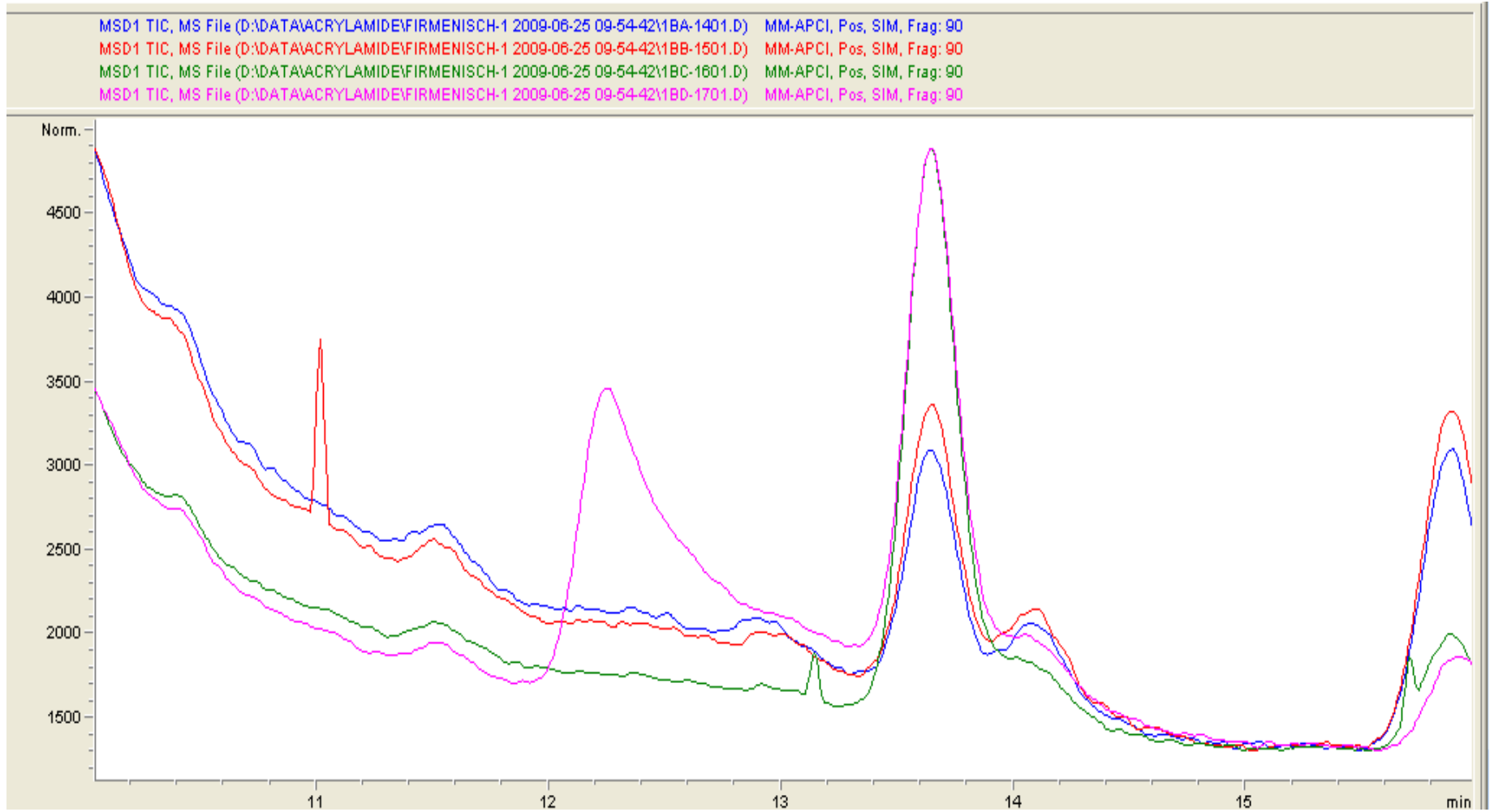


Resim 22. Aroma analizleri, tekrarlanabilirlik (2)

EK 2. Akrilamid analizleri kromatogramları,

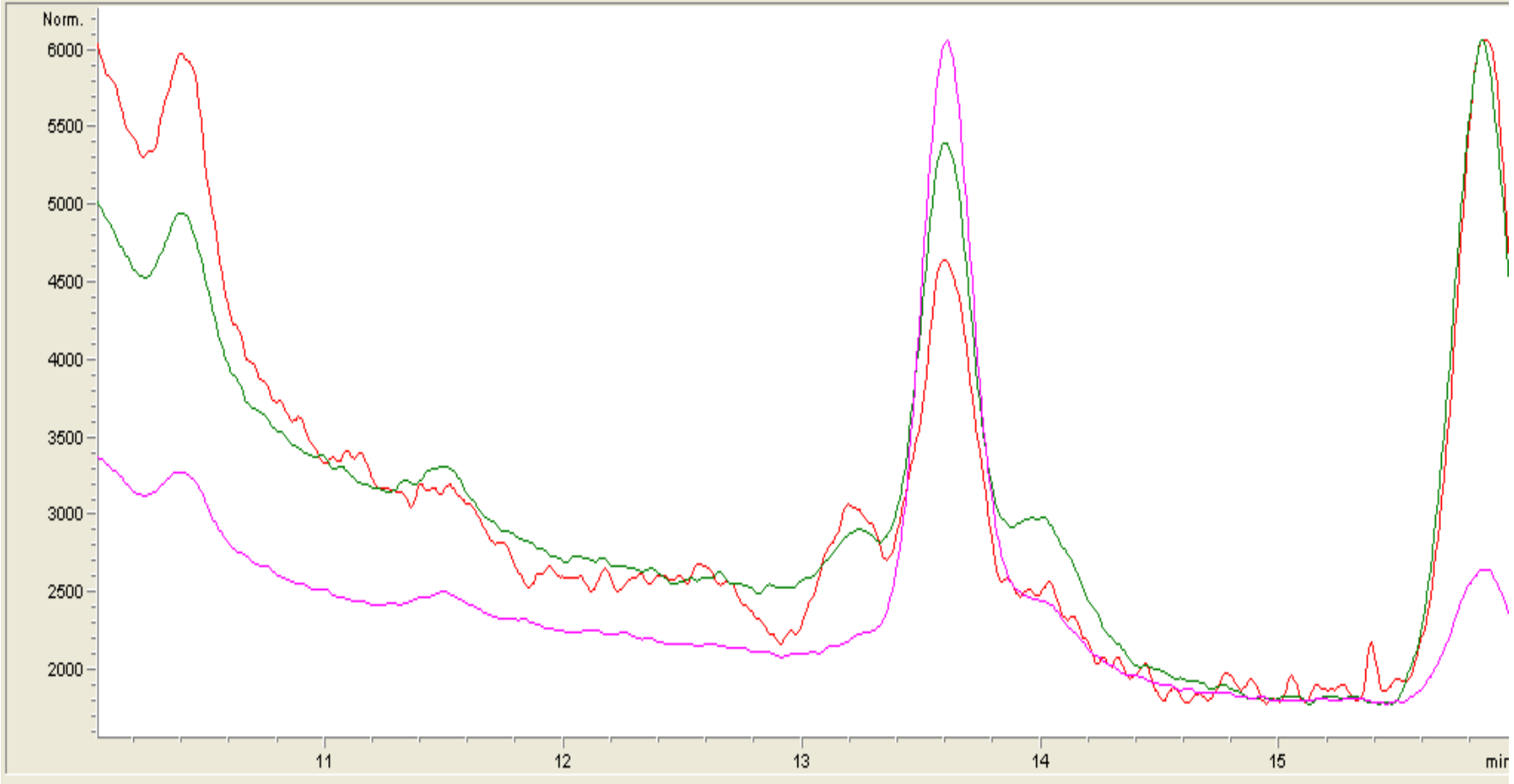


Resim 23. Standart bisküvi reçetesi

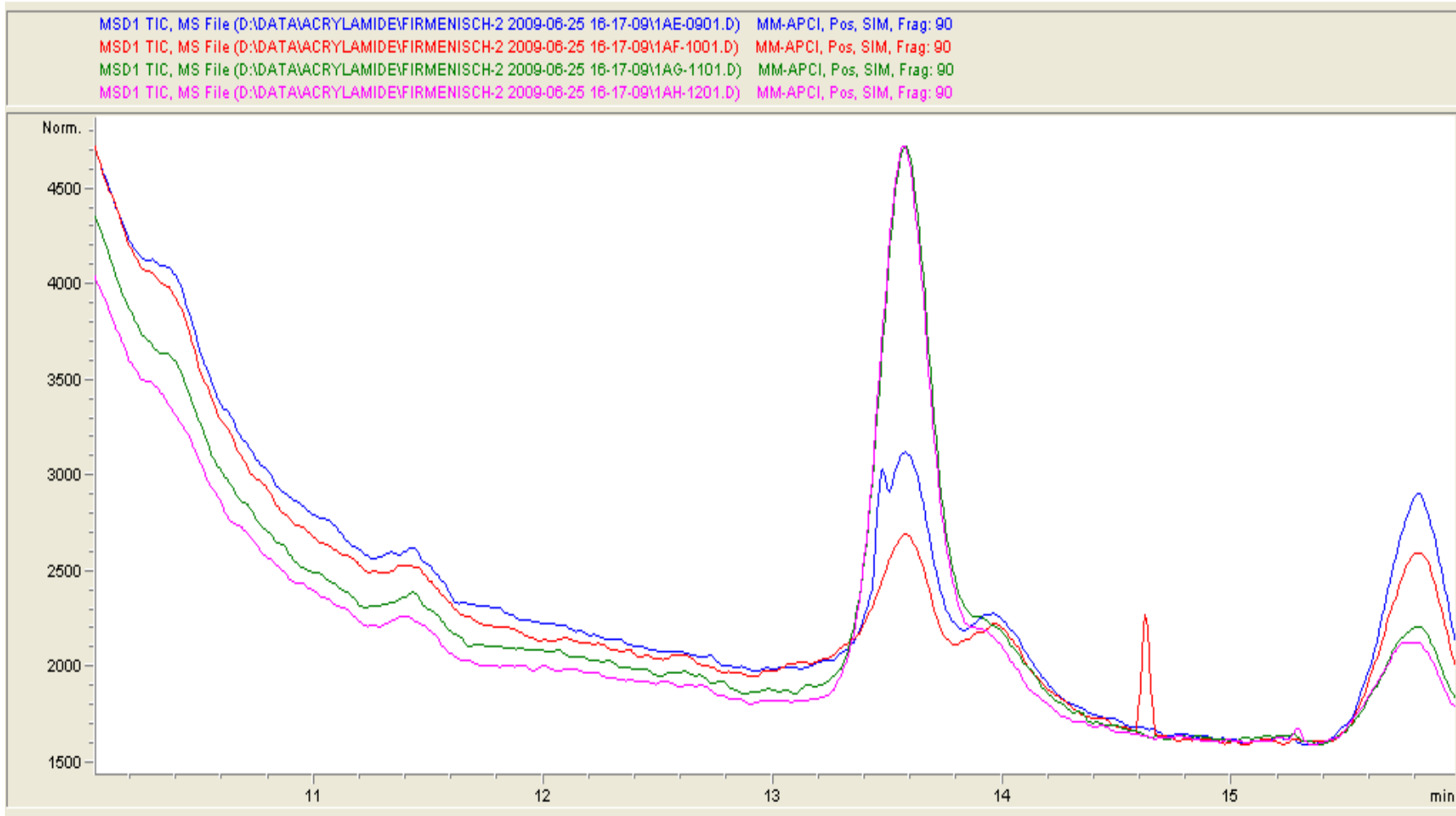


Resim 24. Şekeri %50 azaltılmış bisküvi reçetesi

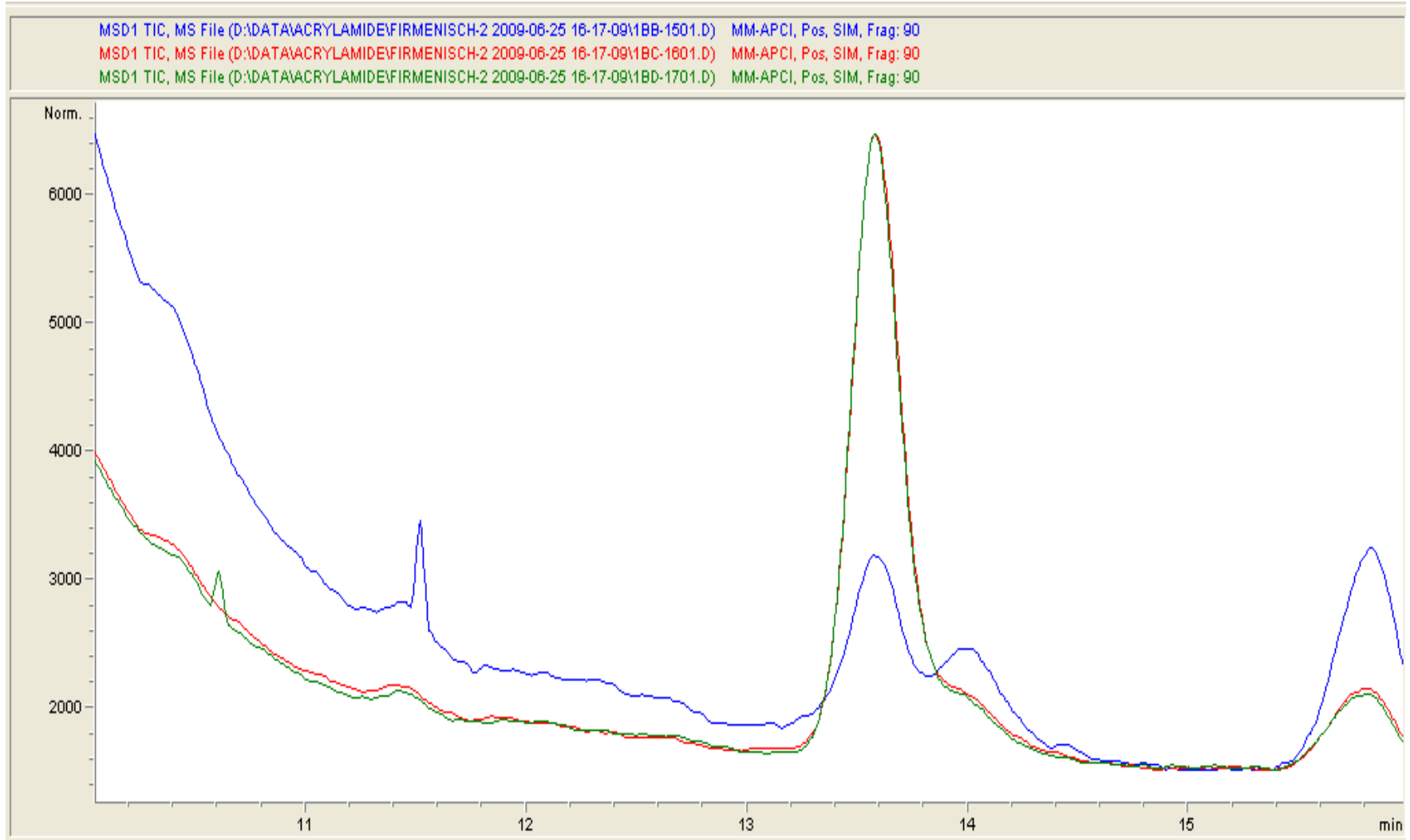
MSD1 TIC, MS File (D:\DATA\ACRYLAMIDE\FIRMENISCH-2 2009-06-25 16-17-09\1AA-0401.D) MM-APCI, Pos, SIM, Frag: 90
MSD1 TIC, MS File (D:\DATA\ACRYLAMIDE\FIRMENISCH-2 2009-06-25 16-17-09\1AA-0401.D) MM-APCI, Pos, SIM, Frag: 90
MSD1 TIC, MS File (D:\DATA\ACRYLAMIDE\FIRMENISCH-2 2009-06-25 16-17-09\1AB-0501.D) MM-APCI, Pos, SIM, Frag: 90
MSD1 TIC, MS File (D:\DATA\ACRYLAMIDE\FIRMENISCH-2 2009-06-25 16-17-09\1AC-0601.D) MM-APCI, Pos, SIM, Frag: 90



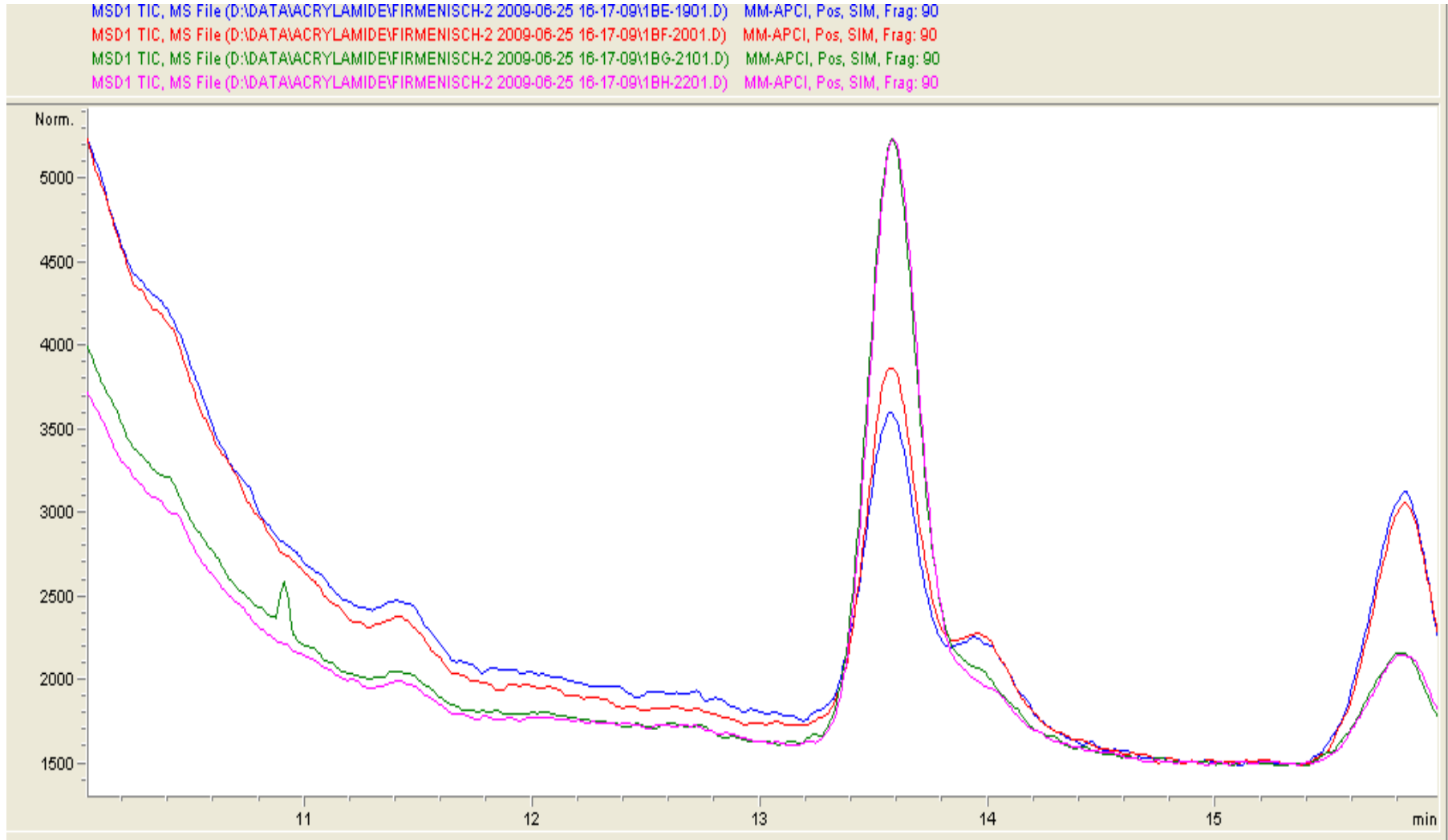
Resim 25. Şekeri %100 azaltılmış bisküvi reçetesi



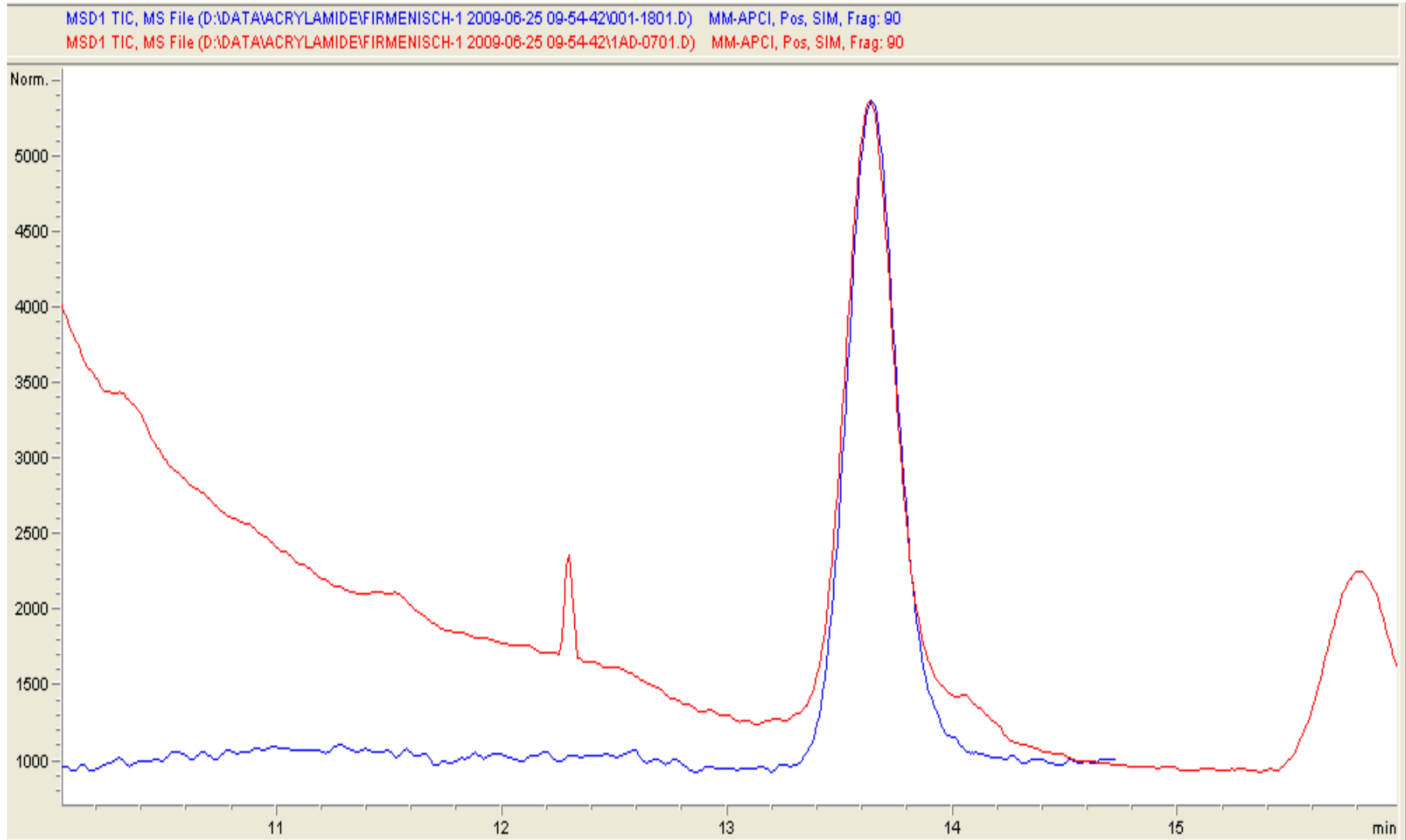
Resim 26. Yağı %50 azaltılmış bisküvi reçetesi



Resim 27. BYT içeren bisküvi reçetesi



Resim 28. PST içeren bisküvi reçetesi



Resim 29. Akrilamid analizleri kromatogramları, tekrarlanabilirlik

EK 3. Un örneğine ait ekstensograf grafiği

Brabender® Extensograph

Brabender

Evaluation of sample:
Date:
Operator:

Firmenich Biskuvilik Un Numunesi
30.05.2009
Ercan ESER

Test after 45/90/135 Minutes
Waterabsorption:

53,6 %

Proving Time [min]:

45 90 135

Energy [cm²]:

34 32 28

Resistance to Extension [BU]:

114 119 104

Extensibility [mm]:

188 181 186

Maximum [BU]:

118 123 108

Ratio Number:

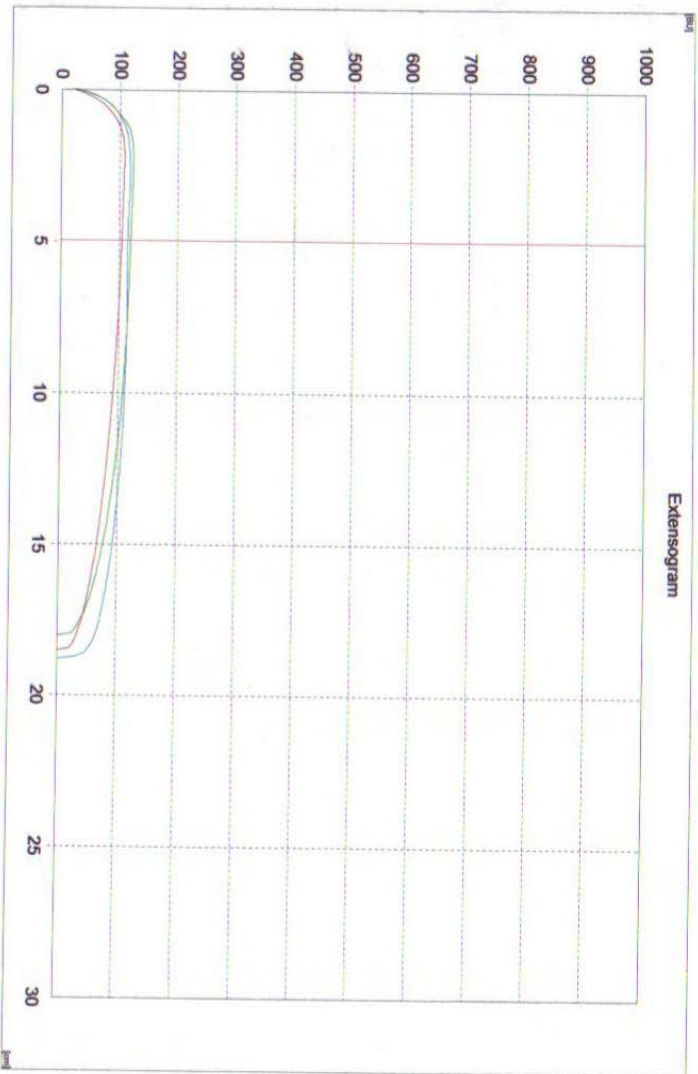
0,6 0,7 0,6

Ratio Number (Max.):

0,6 0,7 0,6

Remarks:

Rib: 12.5 Kül: 0.657 Prot: 12.12 Glc: 30.0 Ind: 74 Fns: 376
Amig: 1456 Sd: 10.7
Sed: 21-17



Test: C:\Program Files\Extensograph\2009\MAYIS 2009\NUMUNE UNLAR\30.05.2009\Firmenich Biskuvilik Un Numunesi.EXD

EK 4. Un örneğine ait farinograf grafiği

Brabender® Farinograph

brabender | 

Sample: Firmenich Biskuvilik Un Numunesi Su Kaldirma
Method: BRABENDER / ICC / BIPEA
Date: 30.05.2009 14:23:43

Operator: Ercan ESER

Mixer: 300 g Speed: 63 1/min
Consistency 490 FU with waterabsorption 56,0 %

Moisture content: 12,2 %

Waterabsorption (corrected for 500 FU):
Waterabsorption (corrected to 14,0 %):

55,8 %
53,7 %

Development time:

2,4 min

Stability:

2,9 min

Degree of softening (10 min after begin):

88 FU

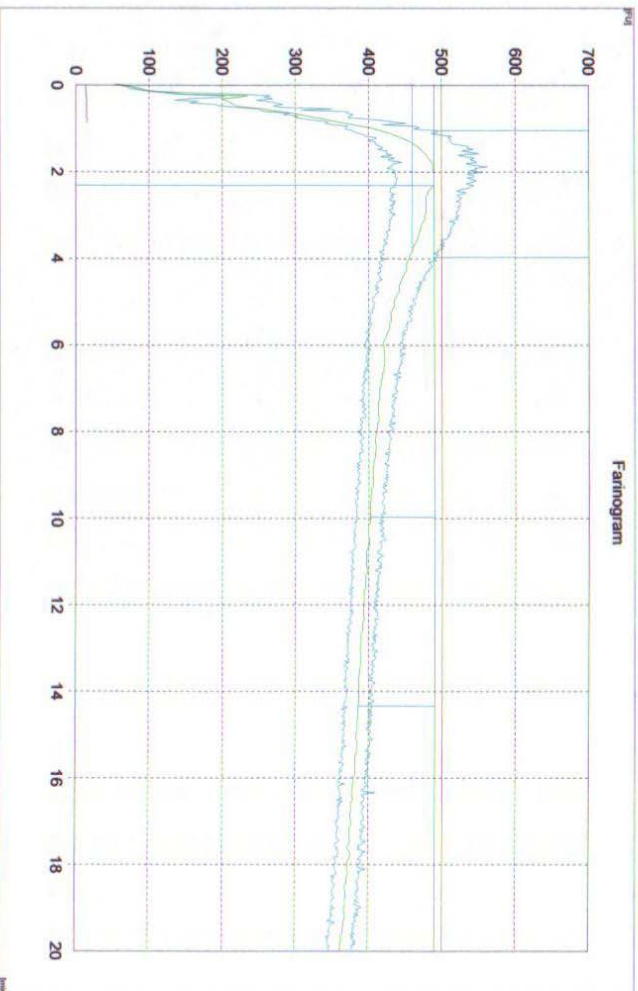
Degree of softening (ICC / 12 min after max.):

104 FU

Farinograph quality number:

38

Remarks:



Test: C:\Program Files\Farinograph\2009\MAVIS 2009\NUMUNE UNLAR\30.05.2009\Firmenich Biskuvilik Un Numunesi Kaldirma.FAD

ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Rize’de doğdum. Eğitim hayatıma İstanbul’da başladım, ilk, orta ve lise öğrenimimi İstanbul’da tamamladım. 1999 yılında girdiğim Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümünden 2003 yılında mezun olduktan sonra İmtay Kimyevi Maddeler San. ve Tic. A.Ş. firmasında Gıda Mühendisi olarak çalışmaya başladım.

2003-20006 yılları arasında Trakya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünde “Portakal aromalı içeceklerde sıcaklık, pH ve depolama süresinin aspartam stabilitesi üzerine etkisi” konulu Yüksek Lisans çalışmamı tamamlayarak aynı yıl Namık Kemal Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünde Doktora programına kayıt yaptırım.

Şubat 2007’de Firmenich Dış Tic. Ltd. Şti Aroma laboratuvarında Teknik Sorumlu olarak göre başladım ve halen bu görevi sürdürmekteyim.

Tülin YAKICI