

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**RAFİNASYON KADEMELERİNİN 3-MCPD VE
GLİSİDOL ESTERLERİ OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİSİ**

Manolya KARABULUT

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Fahri YEMİŞÇİOĞLU

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu : 614.02.00

Sunuş Tarihi : 06.02.2015

Bornova-İZMİR

2015

Manolya KARABULUT tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan “Rafinasyon Kademelerinin 3-MCPD ve Glisidol Esterleri Oluşumu Üzerine Etkisi” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve .../.../2015 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı	:	
Raportör Üye	:	
Üye	:	

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI**

E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Rafinasyon Kademelerinin 3-MCPD ve Glisidol Esterleri Oluşumu Üzerine Etkisi ” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

.../ 02/ 2015

İmzası

Manolya KARABULUT

ÖZET

RAFİNASYON KADEMELERİNİN 3-MCPD VE GLİSİDOL ESTERLERİ OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİSİ

KARABULUT, Manolya

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Fahri YEMİŞÇİOĞLU

Şubat 2015, 55 sayfa

Bu çalışmada, rafinasyon işlem basamaklarının zeytinyağı, palm yağı ve tohum yağlarında 3-monokloro propan 1,2 diol (3-MCPD) esterleri ve glisidol esterleri oluşumu üzerine etkisi araştırılmıştır.

Bu amaçla incelenecek yağ örneklemeleri rafinasyon girişi, degumming çıkışı, ağartma çıkışı ve deodorizasyon çıkışından alınmıştır. Örnekler, işletme koşullarından ve hammadde özelliklerinden kaynaklanan farkın irdelenebilmesi amacıyla zeytinyağı rafinasyonu yapan iki işletme ve palm yağı rafinasyonu yapan iki işletmeden sağlanmıştır. Ayrıca tohum yağlarını temsilen de bir işletmeden de ayçiçeği yağı ve mısırözü yağı örnekleri temin edilmiştir.

Alınan örneklerde toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarı, German Society for Fat Science (DGF) C VI 17(10) standart yöntemi kullanılarak, gaz kromatografi kütle spektrometresi (GC-MS) ile analiz edilmiştir. Elde edilen veriler Varyans Analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiş ve rafinasyon işlem basamaklarının 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri oluşumu üzerine etkisi incelenmiştir.

Anahtar sözcükler: 3-MCPD esterleri, glisidol esterleri, rafinasyon basamakları, zeytinyağı, palm yağı, GC-MS.

ABSTRACT**EFFECT OF REFINING STEPS ON FORMATION OF 3-MCPD
AND GLYCIDOL ESTERS**

KARABULUT, Manolya

MSc in Food Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Fahri YEMİŞÇİOĞLU

February 2015, 55 pages

In this study, effect of refining steps on 3, monochloropropan 1.2 diol (3-MCPD) esters and glycidol ester formation in olive oil, palm oil and seed oils has been studied.

For this purpose, samples have been collected before refining, and at exits of degumming, bleaching and deodorization. The samples were obtained from two olive oil and two palm oil refining plants in order to examine the differences arising from the operating conditions and the raw material quality. Moreover samples of sunflower oil and corn oil were also taken from one oil refinery to represent seed oils.

Total amount of 3-MCPD and glycidol esters has been analysed by using standard method of German Society for Fat Science (DGF) C VI 17(10) via gas chromatography mass spectrometer (GC-MS) for the samples which collected throughout the study. Data obtained were evaluated by analysis of variance (ANOVA) and the effect of refining steps on formation of 3-MCPD and glycidol esters were investigated.

Keywords: 3-MCPD esters, glycidol esters, refining steps, olive oil, palm oil, GC-MS

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmam süresince yakın ilgi ve alakası ile her daim desteğini esirgemeyen değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Fahri YEMİŞÇİOĞLU'na

Kıymetli önerileri ve yol göstericiliği ile çalışmalarına katkı sağlayan saygıdeğer hocam Prof. Dr. Aytaç SAYGIN GÜMÜŞKESEN'e

Yüksek lisans eğitimim süresince hep birlikte yol aldığım ve yardım etmekten çekinmeyen arkadaşım Ar. Gör. Onur ÖZDİKİCİLER'e

Çalışmalarımın her aşamasında bilgi ve tecrübeleri ile bana ışık tutan ve zor anlarımda yanımda olan meslektaşım Mert Can DEMİRCİOĞLU'na

Tezim süresince gerek bilgi birikimleri ile gerekse teknik imkanları ile bana destek olan değerli sektör temsilcileri Melike AGUŞ'a (Küçükbay Yağ ve Deterjan Sanayi A.Ş.), Ummuhan Tibet'e (UZZK) ve Meltem Zengin'e (TARİŞ)

Tez projeme maddi katkı sağlayan Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM)'ne

Tez proje ortaklığındaki teknik ve mali desteklerinden ötürü Küçükbay Yağ ve Deterjan San. A.Ş. 'ne ve AG-PÜR Analiz Laboratuvarı'na

Hayatımın her anında beni sevgi ile kucaklayan tüm aileme ve özellikle canım annem Nezihat SAATÇI'ya

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Manolya KARABULUT

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
TEŞEKKÜR	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvii
1.GİRİŞ	1
2.LİTERATÜR ÖZETİ.....	3
2.1 3-MCPD ve Glisidol Esterlerinin Genel Tanımı	3
2.2 3-MCPD ve Glisidol Esterlerinin Kimyasal Yapısı.....	3
2.3 3-MCPD ve Glisidol Esterlerinin Oluşum Mekanizması	4
2.4 Gıdalarda 3-MCPD ve Glisidol Esterleri Oluşumunu Etkileyen Faktörler.....	6
2.5 Rafine Bitkisel Yağlarda 3-MCPD ve Glisidol Esterleri Oluşumunu Etkileyen Faktörler	7
2.6 3-MCPD ve Glisidol Esterleri Oluşumuna Rafinasyon Kademelerinin Etkileri.....	8
2.7 3-MCPD Esterlerinin Toksikolojisi ve Sağlık Üzerine Etkileri.....	14
2.8 Gıdalarda 3-MCPD ve Esterlerine İlişkin Yasal Düzenlemeler.....	16

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

2.9 3-MCPD Esterleri ve Glisidol Esterlerinin Miktarlarının Belirlenmesinde Kullanılan Analiz Yöntemleri.....	16
2.9.1 Doğrudan tespit yöntemleri.....	17
2.9.2 Dolaylı tespit yöntemleri.....	18
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	21
3.1 Materyal.....	21
3.1.1 Yağ Örnekleri.....	21
3.1.2 Kimyasal maddeler ve çözügenler.....	25
3.2 Yöntem.....	26
3.2.1 3-MCPD esterleri ve glisidol esterlerinin miktarının belirlenmesi.....	26
3.2.2 İstatistiksel değerlendirme.....	31
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	33
4.1 Palm Yağı Fraksiyonlarına Uygulanan Rafinasyon İşlem Kademelerinin 3-MCPD ve Glisidol Esterleri Miktarı Üzerine Etkileri.....	33

İÇİNDEKİLER (devam)Sayfa

4.2 Bitkisel Tohum Yağlarına Uygulanan Rafinasyon İşlem Kademelerinin 3-MCPD ve Glisidol Esterleri Miktarı Üzerine Etkileri	42
4.3 Lampante Zeytinyağlarına Uygulanan Rafinasyon İşlem Kademelerinin 3-MCPD ve Glisidol Esterleri Miktarı Üzerine Etkileri	44
5.SONUÇ.....	49
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	51
ÖZGEÇMİŞ	55

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. 3-kloropropan -1,2 diol molekül yapısı	4
2.2 3-MCPD oluşum mekanizması.....	5
2.3 Rafinasyon işlem basamakları	8
2.4 Deodorizasyon sırasında uygulanan süre ve sıcaklığın palm yağında 3-MCPD esterleri ve diğer bileşenlerin oluşumu üzerine etkisi.....	10
2.5 Farklı ham yağlarda ısıtıl işlem sonrası (240 °C 2 saat) 3-MCPD esterleri ve RC oluşumu.....	12
2.6 Farklı ham yağlarda ısıtıl işlem sonrası (240 °C 2 saat) 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri oluşumu ile DAG miktarı arasındaki korelasyon.....	12
2.7 Yıkamanın 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri oluşumuna etkisi.....	13
2.8 Deodorizasyon sırasında asit uygulamasının 3-MCPD esterleri ve RC miktarına etkisi.....	14
2.9 3-MCPD analiz yöntemleri.....	17
2.10 CPD esterlerinin asidik ve alkali transesterifikasyonu	18
3.1 GC/MS örnek kromatogramı	29
3.2 GC/MS örnek spektrumu	29

ŞEKİLLER DİZİNİ(devam)

Şekil

Sayfa

4.1 3-MCPD Esterleri+Glisidol Esterleri değerinin Parti 1 Palm Olein Yağında Rafinasyon Kademelerine Göre Değişimi.....	34
4.2 3-MCPD Esterleri+Glisidol Esterleri değerinin Parti 2 Palm Olein Yağında Rafinasyon Kademelerine Göre Değişimi	35
4.3 3-MCPD esterleri+glisidol esterleri değerinin parti 3 palm stearin yağında rafinasyon kademelerine göre değişimi.....	35
4.4 3-MCPD esterleri+glisidol esterleri değerinin parti 4 palm olein yağında rafinasyon kademelerine göre değişimi	36
4.5 3-MCPD esterleri+glisidol esterleri değerinin parti 5 palm stearin yağında rafinasyon kademelerine göre değişimi	36
4.6 3-MCPD esterleri+glisidol esterleri değerinin parti 1 palm stearin yağında rafinasyon kademelerine göre değişimi	40
4.7 3-MCPD esterleri+glisidol esterleri değerinin parti 2 palm stearin yağında rafinasyon kademelerine göre değişimi	41
4.8 3-MCPD esterleri+glisidol esterleri değerinin parti 3 palm olein yağında rafinasyon kademelerine göre değişimi	41
4.9 Rafine tohum yağlarında toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarı.....	43
4.10 C işletmesi rafine zeytinyağlarına ait 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri değerleri.....	45

ŞEKİLLER DİZİNİ(devam)ŞekilSayfa

4.11 D işletmesi rafine zeytinyağlarına ait 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri değerleri.....47

4.12 Serbest yağ asitliğine göre 3-MCPD ve glisidol esterleri miktarındaki değişim.....48

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 CPD ve Glisidol Esterleri	6
3.1 A işletmesi örnekleri	22
3.2 B işletmesi örnekleri	23
3.3 C işletmesi zeytinyağı örnekleri ve bazı serbest yağ asitliği değerleri.....	24
3.4 D işletmesi zeytinyağı örnekleri ve bazı serbest yağ asitliği değerleri.....	25
4.1 A işletmesi palm yağı örnekleri toplam 3-MCPD ve glisidol esterleri miktarı.....	34
4.2 A işletmesi için tüm örneklerin birbiri arasındaki farklılığı gösteren ANOVA tablosu.....	37
4.3 A işletmesi rafinasyon kademelerinin palm olein yağlarında 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri oluşumuna etkisi ANOVA tablosu.....	37
4.4 A işletmesi rafinasyon kademelerinin palm stearin yağlarında 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri oluşumuna etkisi ANOVA tablosu.....	39
4.5 B işletmesi palm yağı örnekleri toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarı.....	40
4.6 B işletmesinde palm yağı örneklerinde deodorizasyon işleminin toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarı üzerine etkisi ile ilgili ANOVA tablosu.....	42
4.7 Ayçiçek yağı ve mısırözü yağında toplam 3-MCPD ve glisidol esterleri miktarı.....	43

ÇİZELGELER DİZİNİ(devam)ÇizelgeSayfa

4.8 C işletmesi zeytinyağı örneklerine ait toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarı 45

4.9 D işletmesi zeytinyağı örneklerine ait toplam 3-MCPD ve glisidol esterleri miktarı.....46

4.10 D işletmesinde farklı zeytinyağlarının serbest yağ asitlikleri ile 3-MCPD içerikleri arasındaki ilişkiyi gösteren ANOVA tablosu.....48

1.GİRİŞ

Bitkisel yağların rafinasyonu; ham yağda istenmeyen safsızlıkların uzaklaştırılarak, yağa tüketilebilir özellik kazandırılması amacıyla uygulanan bir işlemler dizisidir. Rafinasyon kademeleri; degumming olarak adlandırılan yapışkan maddelerin giderilmesi, nötralizasyon olarak adlandırılan asitlik giderilmesi, ağartma ve deodorizasyon olarak adlandırılan istenmeyen tat ve kokuların giderilmesi işlemleridir. Ancak asitlik giderilmesi ve deodorizasyon işlemlerinin tek bir kademede buhar distilasyonu ile gerçekleştirildiği durumlarda, bu işleme fiziksel rafinasyon denilmektedir. Zeytinyağı ve palm yağı gibi meyve yağlarında ham yağın serbest yağ asidi miktarının yüksek olması sebebiyle fiziksel rafinasyon yöntemi kullanılmaktadır (Gümüşkesen ve Yemişçioğlu, 2010).

Rafinasyon işlem kademelerinden özellikle deodorizasyon ya da buhar distilasyonu olarak ifade edilen kademede yüksek sıcaklık uygulaması, yağın bileşiminde de bazı önemli değişikliklere yol açabilmektedir (Gümüşkesen ve Yemişçioğlu, 2010).

3-kloropropan-1,2-diol (3-MCPD) ilk defa 1978 yılında asitle hidrolize edilmiş bitkisel proteinlerde (asit-HVP) ve soya sosu gibi ürünlerde tespit edilmiştir. 3-MCPD ve diğer bazı kloropropan diol (CPD) esterleri bu tarihten itibaren işlem bulaşanı olarak tanımlanmaktadır (Velisek et al., 1978). Yağ ve tuz içeren ürünlerin yüksek sıcaklıklarda işlem görmesi ile oluştukları bilinmektedir.

Yapılan birçok araştırmadan elde edilen sonuçlara göre yüksek sıcaklık uygulamasına bağlı olarak en yüksek 3-MCPD miktarı rafine bitkisel yağlarda (palm, zeytin) iken, naturel sızma yağlarda tespit edilebilir düzeylerin altında bulunmuştur (Zelinkova et al., 2006).

2000 yılında İngiltere’de yapılan çalışmalara göre (Committee on Mutagenicity of Chemicals in Foods, Committee on Carcinogenicity of Chemicals in Foods) 3-MCPD’ nin karsinogen ve muhtemel genotoksik etkisi olduğu belirlenmiştir. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda; tümörlerde artış, uzun vadede kanser ve aynı zamanda memelilerde kronik hormonal dengesizlikler meme bezi fibromaları, kronik böbrek tümörlerine yol açtığı rapor edilmiştir. Mutajen etki üzerine yapılan *in vitro* bir çalışmada *Salmonella typhimurium*, *Mouse lymphoma* ve bazı maya tiplerinde pozitif sonuçlar bulgulanmıştır

(Sunahara et. al., 1993). 2001 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ile Avrupa Komisyonu (EC) bu çalışmaları yayınlamıştır (Anon, 2001).

Bu çalışma ile; farklı ham tohum yağlarına ve zeytinyağlarına uygulanan rafinasyon kademelerinin, hammadde farklılıklarının ve deodorizasyon işlem koşullarının 3-MCPD ve glisidol esterleri oluşumu üzerine etkileri araştırılmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 3-MCPD ve Glisidol Esterlerinin Genel Tanımı

3-MCPD ilk defa 1978 yılında asitle hidroliz edilmiş bitkisel proteinlerde ve soya sosu gibi ürünlerde tespit edilmiştir. 3-MCPD ve diğer bazı kloropropanol esterleri bu tarihten itibaren işlem bulaşanı olarak tanımlanmaktadır (Velisek et al., 1978). Yağ ve tuz içeren ürünlerin yüksek sıcaklıklarda işlem görmesi ile oluştukları bilinmektedir.

3-MCPD günümüze kadar kraker, bisküvi gibi fırıncılık ürünleri (Hamlet and Sadd, 2004), malt (Hamlet et al., 2002), kahve (Delozal et al, 2005), kızarmış peynir, bebek mamaları, patates ürünleri (Zelinkova et al., 2009), rafine bitkisel yağlar ve hayvansal yağlar (Zelinkova et al., 2006; Weisshaar, 2008; Kuhlmann, 2011) gibi birçok gıdada tespit edilmiştir.

Yapılan çalışmalar sonucu çok çeşitli gıdalarda 3-MCPD miktarı 0,2-20 mg/kg düzeyinde tespit edilmiştir. Özellikle rafine bitkisel yağ ve NaCl içeren ürünlerde (fırıncılık ürünleri gibi) daha yüksek miktarlarda 3-MCPD bulunmuştur (Hamlet et al., 2011).

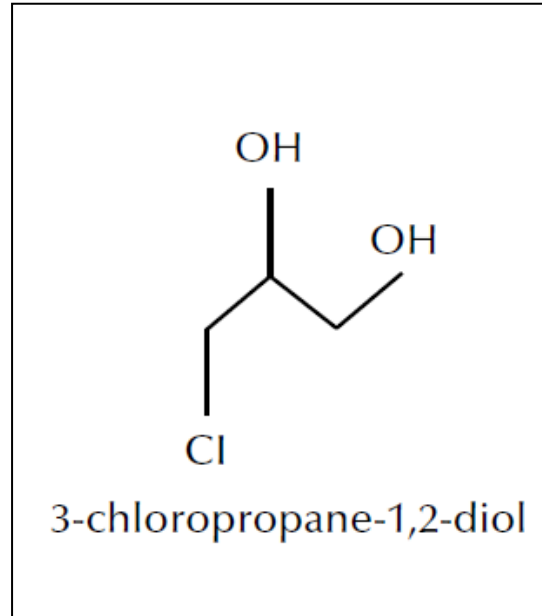
Çeşitli araştırmalarda naturel sızma veya soğuk sıkım ham yağlarda tespit edilebilir düzeyde 3-MCPD esterleri bulunmazken, rafine bitkisel yağlarda 0,2-13 mg/kg olarak bulunmuştur. En düşük miktar 0,3-1,5 mg/kg kolza yağında, en yüksek miktarda ise palm yağında 4,5-13 mg/kg olarak saptanmıştır (Zelinkova et al., 2006).

2.2 3-MCPD ve Glisidol Esterlerinin Kimyasal Yapısı

3-MCPD ve 2-CPD (2-kloropropanol-diol) gibi diğer bazı kloropropan esterleri gıdalarda az miktarda serbest formda (diol formunda) ve çoğunlukla yağ asitleri ile esterleşmiş olarak (bağlı formda) bulunmaktadır. Kloropropan esterlerinden en çok 3-MCPD' ye rastlanmaktadır. Ancak 2-MCPD' de düşük miktarda bulunabilmektedir. 2 pozisyonundaki bağların daha stabil olması bu durumu açıklamaktadır.

Kloropropan esterleri arasında; mono esterler çoğunlukta iken di esterler çok daha az miktarlarda oluşmaktadır. Sindirim sisteminde pankreatik lipaz enzimi aktivitesi ile bağlı formdaki mono ve di esterlerin tamamı serbest formdaki 3-MCPD'ye hidrolize olduğundan, toplam ester miktarının tespit edilmesi önem kazanmıştır (Seefelder et al., 2008).

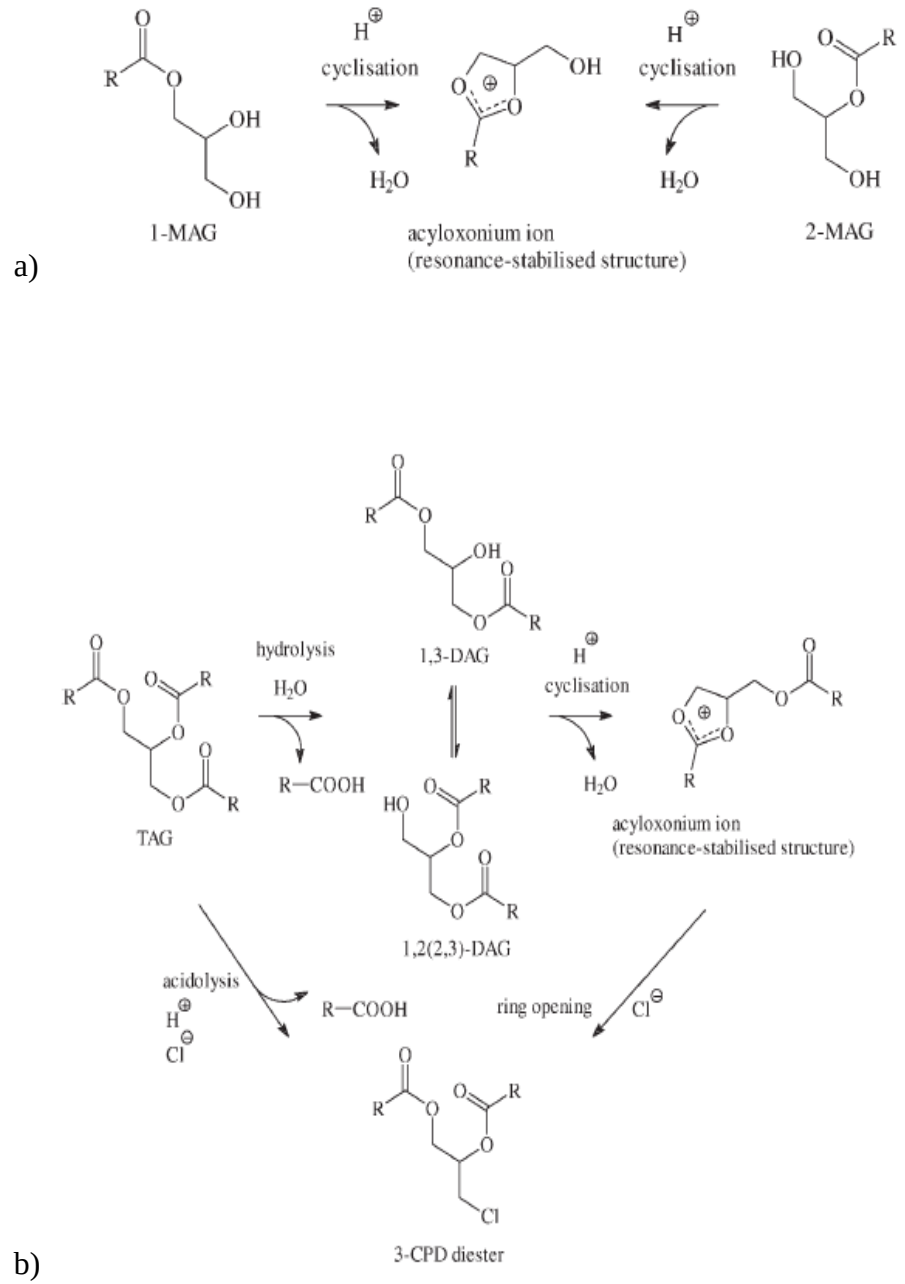
Kloropropan esterleri açilgliserollerle benzer fiziksel ve kimyasal özellikler gösterirler. Çoğunlukla oda sıcaklığında katı formdadırlar. Dietileter, hekzan, aseton, etil asetat gibi çözügenlerde çözünürler. Kloropropan esterleri sıcaklık, asitlik ve çözügen etkisi ile açıl migrasyonu gösterirler. 3-MCPD'nin molekül yapısı Şekil 2.1'de görülmektedir.



Şekil 2.1 3-kloropropan -1,2- diol molekül yapısı.

2.3 3-MCPD ve Glisidol Esterlerinin Oluşum Mekanizması

3-MCPD oluşumunun ilk aşaması; monoaçilgliserol (MAG), diaçilgliserol (DAG) ve triaçilgliseroller (TAG) gibi öncü bileşiklerin H^+ iyonları varlığında siklik açiloksonyum iyonlaşmasıdır. Monoaçilgliserolden açiloksonyum iyonu oluşumu Şekil 2.2 a' da görülmektedir. Sonrasında ise Şekil 2.2 b'de görüldüğü gibi halkalı yapının açılarak Cl^- iyonları ile reaksiyona girmesi ve son olarak da kloropropan esterleri oluşumu aşamalarını içermektedir (Hamlet et al., 2011).



Şekil 2.2 3-MCPD oluşum mekanizması a) MAG'lerden açiloksonyum iyonları oluşumu b)TAG, DAG ve MAG yoluyla 3-MCPD oluşumu.

3-MCPD serbest formda olduğu gibi çoğunlukla yağ asitleri esterleri halinde bulunmaktadır. Çizelge 2.1' de görüldüğü gibi 7 farklı yağ asidi için kloropropan ve glisidol esterleri (C12:0, C14:0, C16:0, C18:0, C18:1, C18:2, C18:3) hesaplandığında toplamda 105 farklı ester oluşturabilmektedir.

Çizelge 2.1 CPD ve Glisidol Esterleri

3-MCPD		2-MCPD		GLİSİDOL ESTERLERİ
Mono-ester	Di-ester	Mono-ester	Di-ester	
$ \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{---O---COR} \\ \\ \text{CH---OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{---Cl} \\ \\ \text{CH}_2\text{---OH} \\ \\ \text{CH---O---COR} \\ \\ \text{CH}_2\text{---Cl} \end{array} $	$ \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{---O---COR}_1 \\ \\ \text{CH---O---COR}_2 \\ \\ \text{CH}_2\text{---Cl} \end{array} $	$ \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{---O---COR} \\ \\ \text{CH---Cl} \\ \\ \text{CH}_2\text{---OH} \end{array} $	$ \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{---O---COR}_1 \\ \\ \text{CH---Cl} \\ \\ \text{CH}_2\text{---O---COR}_2 \end{array} $	$ \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{---COR} \\ \\ \text{CH} \diagup \text{O} \diagdown \\ \\ \text{CH}_2 \end{array} $

2.4. Gıdalarda 3-MCPD ve Glisidol Esterleri Oluşumunu Etkileyen Faktörler

3-MCPD oluşumunda ana etken Cl^- iyonu, gliserol, gliserol esterleri, MAG, DAG ve TAG varlığıdır. Aynı zamanda sıcaklık ve süre de bu oluşumu etkileyen parametrelerdir (Calta et al., 2004).

Gıdalarda 3-MCPD oluşum mekanizması üzerine yapılan bir çalışmada; gliserol, triolein, soya lesitini ve sodyum klorür (NaCl) varlığında farklı su aktivitesine sahip ısıl işlem uygulanmış ürünlerin simülasyonu sonucu oluşan 3-MCPD miktarları araştırılmıştır. Oluşturulan modelde gliserol, triolein, lesitin bileşiklerinin farklı oranlarda su ve NaCl ile karışımı kullanılmıştır. Bu karışımlar farklı sıcaklıklarda ısıl işleme tabi tutulup 3-MCPD miktarları belirlenmiştir. Çalışma sonucunda 3-MCPD miktarının büyük oranda NaCl içeriğine bağlı olduğu ve % 4-7 NaCl varlığında en yüksek noktaya ulaştığı gözlenmiştir. Su oranı % 13-17 iken 3-MCPD miktarı maksimum değerine ulaşmıştır. Sıcaklık artışının 100°C-200°C düzeyinde gerçekleştirildiği durumda 3-MCPD miktarında artış gözlenmiştir. Oluşturulan model sistem salam, bisküvi, işlenmiş peynir, kraker gibi seçilen ürünlerle karşılaştırıldığında benzer sonuçlara ulaşıldığı tespit edilmiştir (Calta et al, 2004) .

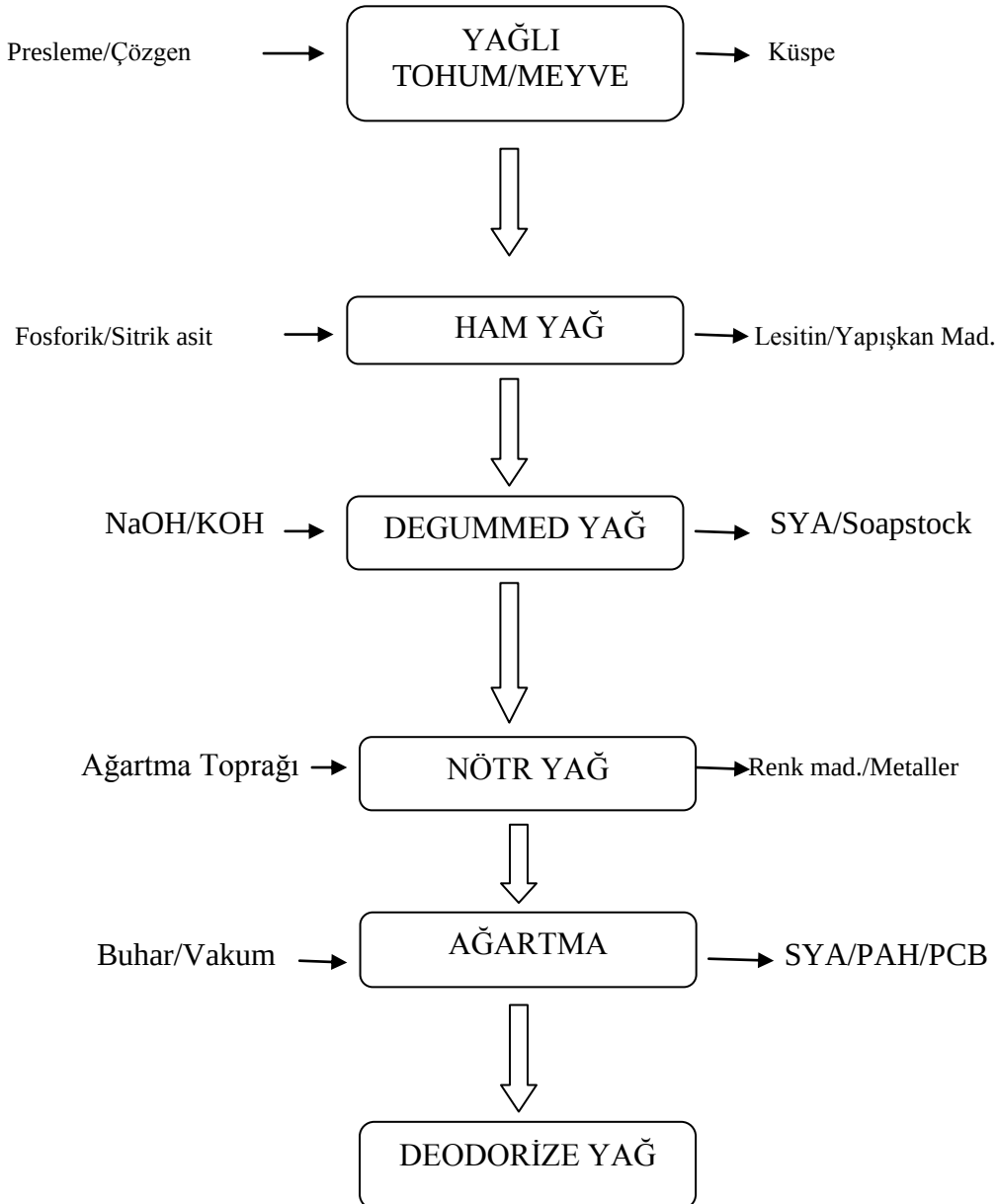
2.5 Rafine Bitkisel Yağlarda 3-MCPD ve Glisidol Esterleri Oluşumunu Etkileyen Faktörler

Rafine bitkisel yağlarda 3-MCPD oluşumu için tüm öncü bileşikler mevcut ve işlem koşulları uygundur. Özellikle rafine palm yağı ve rafine zeytinyağındaki 3-MCPD miktarının tohum yağlarına kıyasla çok daha yüksek bulunmasının sebebi; söz konusu yağların yüksek su aktivitesine sahip ve Cl^- iyonları içeren bir ortam olan meyvelerden elde edilmeleri ve lipaz enzimi aktivitesi ile ilişkilendirilmektedir (Franke et al., 2009). Kullanılan hammaddenin tohum veya meyve olmasına göre nem içeriği ve enzim aktivitesi farklılıklar göstermektedir. Meyve pulpundan elde edilen ham yağda yüksek su aktivitesi sebebiyle hidroliz reaksiyonları daha fazla olduğundan MAG ve DAG oranı tohum yağlarına göre daha yüksektir. Yağlı meyve ve tohumlarda lipaz enzimi aktivitesi ile TAG' ler serbest yağ asidi, DAG ve MAG' lere parçalanır. Ham yağdaki MAG ve DAG miktarı yağın cinsine ve taşıma, depolama, işleme koşulları ile enzim aktivitesi gibi etkenlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Özellikle palm yağı ve zeytinyağı gibi meyve pulpundan elde edilen yağlarda DAG miktarı tohum yağlarına göre daha yüksektir. MAG miktarı ise DAG miktarına göre çok daha azdır. Meyvenin hasadından ham yağ elde edilmesine kadar geçen sürede depolama ve işleme koşulları, bazı istenmeyen reaksiyonların meydana gelmesinde etkili olmaktadır. Ortam sıcaklığı, nem gibi faktörlere bağlı olarak üründe enzimatik ve fermentatif faaliyetler gerçekleşmektedir. Bu faaliyetler sonucunda yağda, 3-MCPD oluşumunda etkili monogliseritler ve digliseritler meydana gelmektedir. Tohum veya meyvedeki enzim aktivitesindeki artışa bağlı olarak yağda meydana gelebilecek hidroliz tepkimeleri hızlanmakta ve monogliserit ve digliserit miktarları artmaktadır (Kayahan, 2008).

Rafine bitkisel yağlarda ilk kez 2006 yılında yapılan bir çalışma ile değişen miktarlarda 3-MCPD esterleri varlığı tespit edilmiştir. Naturel sızma veya soğuk sıkım yağlarda tespit edilebilir düzeyde 3-MCPD esterleri bulunmazken, rafine bitkisel yağlarda bu değer 0,2-13 mg/kg olarak bulunmuştur. En düşük miktar 0,3-1,5 mg/kg ile kolza yağında, en yüksek miktar ise palm yağında 4,5-13 mg/kg olarak belirlenmiştir (Zelinkova et al., 2006).

2.6 3-MCPD ve Glisidol Esterleri Oluşumuna Rafinasyon Kademelerinin Etkisi

Rafinasyon; presleme veya çözgen ekstraksiyonu ile elde edilen ham yağın, içerdiği fosfolipitler, reçineler, renk maddeleri, serbest yağ asitleri, uçucu aldehit ve ketonlar, hidrokarbonlar, tat ve koku maddeleri gibi yağ dışı safsızlıklardan arındırılması işlemidir. Rafinasyon işlem basamakları Şekil 2.3’ te görülmektedir. Rafinasyon sırasında, elde edilen ham yağa tüketilebilir özellik kazandırmak amacıyla yağa çeşitli işlemler uygulanır. Asitlik giderme işlemi kimyasal (alkali) veya fiziksel (buhar distilasyonu) olarak iki farklı şekilde uygulanabilmektedir. Zeytinyağı ve palm yağı gibi meyve yağlarının rafinasyonunda fiziksel rafinasyon yöntemi kullanılmaktadır (Kayahan, 2005).



Şekil 2.3 Rafinasyon işlem basamakları(SYA: Serbest yağ asitleri, PAH: Polisiklik aromatik hidrokarbon, PCB:Poliklorlubifenil)

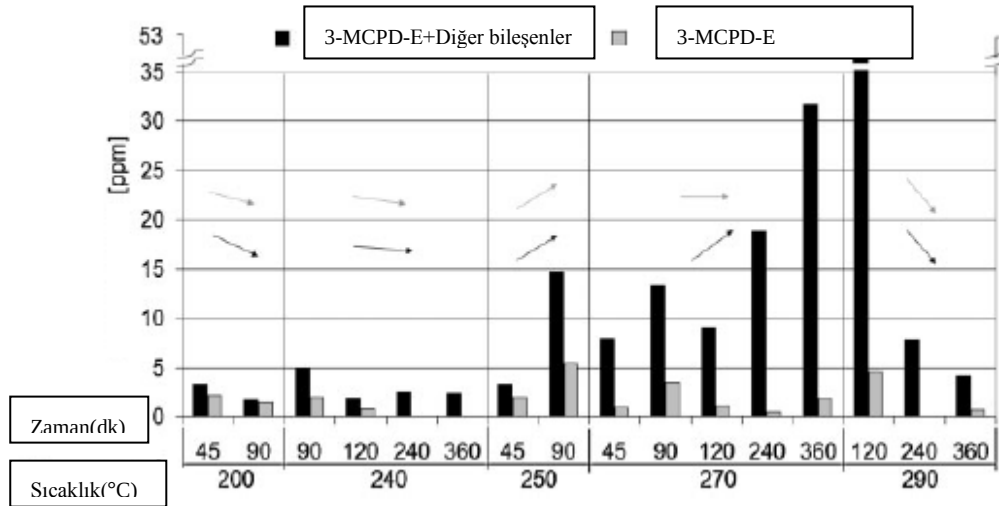
Bitkisel yağların rafinasyonu sırasında özellikle deodorizasyon aşamasında yüksek sıcaklık uygulamasına bağlı olarak 3-MCPD esterleri oluşmaktadır. 3-MCPD oluşumunda en önemli etkenlerin Cl⁻ iyonu, gliserol, DAG, MAG ve TAG varlığı, sıcaklık ve süre olduğu bilinmektedir (Zelinkova et al., 2006; Weisshaar, 2008, Weisshaar and Perz, 2010).

Yapılan bir çalışmada rafinasyon işlem basamaklarının, 3-MCPD esterleri ve diğer bileşenler oluşumuna etkisi laboratuvar koşullarında incelenmiştir. Palm yağı rafinasyonunda, fosfolipid içeriği düşük olması sebebiyle su ile gerçekleştirilen geleneksel degumming işlemi uygulanmamakta, ağartma sonrası konsantre fosforik asit veya sitrik asit (%0,05-0,2) ilave edilerek dry degumming denilen işlem uygulanmaktadır. Fakat yapılan çalışmada görülmüştür ki; su ile degumming uygulanmış palm yağlarında deodorizasyon sonrası 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri oluşumu, degumming uygulanmamış olanlara kıyasla daha düşük miktarlarda görülmüştür. En iyi sonuç %5 su ile uygulanmış degumming işlemi ile elde edilmiştir (Pudel et al., 2011).

Deodorizasyon öncesinde nötralizasyon işleminin 3-MCPD esterleri ve ilgili bileşenler oluşumuna etkisi incelendiğinde potasyum hidroksit (KOH) ile yapılan nötralizasyon işleminin, nötralizasyon işlemi uygulanmamış palm yağlarına kıyasla 3-MCPD esterleri ve diğer bileşenlerin miktarında %45 düzeyinde düşüş, sodyum hidroksit (NaOH) ile yapılan nötralizasyon işleminin ise %35 düzeyinde bir düşüş sağladığı bulgulanmıştır (Pudel et al., 2011).

Ağartma işleminin ve ağartma işlem sıcaklığının(60 ve 90 °C) etkisi incelendiğinde; ağartma işleminin deodorizasyon sırasında 3-MCPD esterleri ve diğer bileşenlerin oluşumunda azaltıcı bir etkisi olduğu, bununla beraber sıcaklık ve kullanılan ağartma toprağı miktarının önemli bir etkisinin olmadığı bulgulanmıştır. Degumming, nötralizasyon ve ağartma işlemlerinin, palm yağında deodorizasyon sırasında oluşan 3-MCPD esterleri ve diğer bileşenlerin oluşumunda düşüş sağlamanın; TAG, DAG, MAG, klor iyonları gibi 3-MCPD oluşumunda öncü bileşiklerin, degumming ve sabun fazının uzaklaştırılması için uygulanan su ile yıkama sırasında yağdan uzaklaşmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Pudel et al., 2011).

Bu çalışma ile deodorizasyonun 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri oluşumunda en etkili basamak olduğu ve farklı sıcaklık ve süre uygulamaları karşılaştırıldığında, sıcaklığın en önemli parametre olduğu tespit edilmiştir. Deodorizasyonda 240 °C' ye kadar uygulanan sıcaklığın, süre uzasa dahi 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri oluşumunu önemli ölçüde etkilemediği bulgulanmıştır. Deodorizasyon süresinin uzaması ile 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarının düştüğü bulgulanmıştır. Bunun olası sebebi olarak; öncü bileşiklerin buharlaşması veya bu bileşiklerin tahrip olması görülebilir. Deodorizasyon sırasında 250 °C' ye kadar sıcaklık uygulaması ile 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarının süre ile artış gösterdiği, özellikle glisidol esterleri miktarının arttığı ve bu etkinin 270 °C' ye kadar şiddetle arttığı bulgulanmıştır. Çünkü glisidol esterleri bu sıcaklıkta uçucu değildirler. Bununla birlikte TAG' lerin hidrolizi ile DAG ve MAG gibi öncü bileşiklerin artışının da bu yükselişe sebep olduğu düşünülebilir. 290 °C' de ise sürenin uzaması ile 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri oluşumunda düşüş bulgulanmıştır. Bu durumun olası sebepleri olarak termal bozunma ve buharlaşma düşünülebilir. Deodorizasyon sıcaklığı ve süresinin, palm yağında 3-MCPD esterleri ve diğer bileşenlerin oluşumu üzerine etkisi Şekil 2.4' de gösterilmiştir.



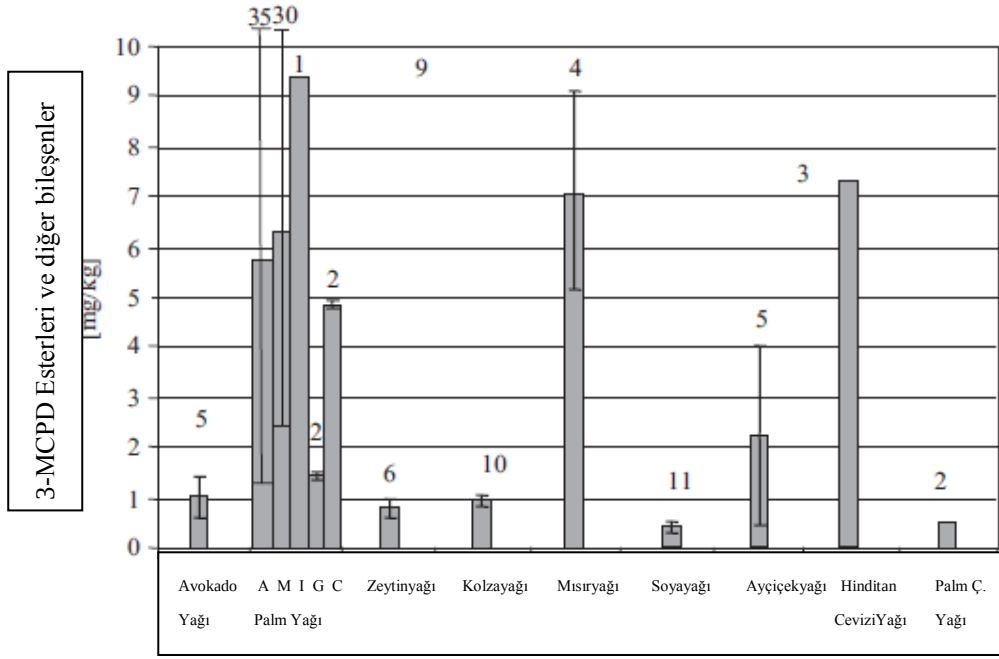
Şekil 2.4 Deodorizasyon sırasında uygulanan süre ve sıcaklığın palm yağında 3-MCPD esterleri ve diğer bileşenlerin oluşumu üzerine etkisi (Pudel et al., 2011).

Düşünülenin aksine, deodorizasyon sırasında kullanılan suyun klor içeriği ise 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri oluşumunda önemli bir değişikliğe sebep olmamıştır. Bu sonuç, sudaki klor içeriğinin buhar fazında taşınmaması veya reaksiyon için uygun formda olmaması ihtimallerini düşündürmektedir.

Sonuç olarak bu çalışma ile; 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri oluşumunda en etkili rafinasyon basamağının deodorizasyon olduğu ve deodorizasyon öncesi uygulanan rafinasyon kademelerinin deodorizasyon sırasında oluşan 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri oluşumunda etkili olduğu bulgulanmıştır (Pudel et al., 2011).

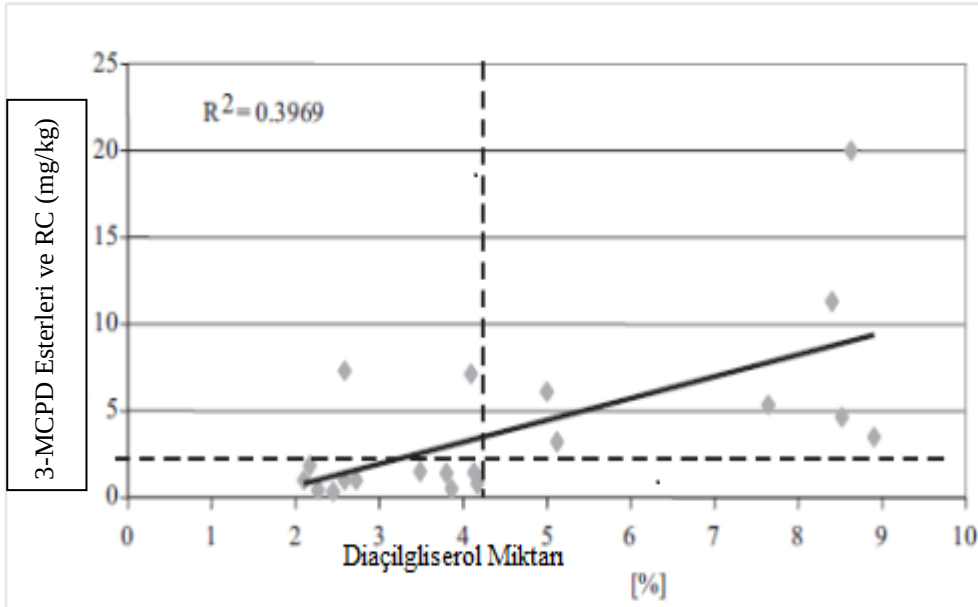
Mathauus ve ark. tarafından bitkisel yağlarda 3-MCPD esterleri ve ilişkili bileşenlerin (related compounds-RC) miktarının düşürülmesi üzerine yapılan bir çalışmada, rafine yağlarda 3-MCPD esterleri ve ilişkili bileşenlerin azaltılması için; kritik maddelerin hammaddeden uzaklaştırılması, rafinasyon işlemlerinde değişiklik yapılması veya 3-MCPD esterleri ve ilişkili bileşenlerin rafine yağdan uzaklaştırılması gibi üç farklı strateji irdelenmiştir. Öncelikle TAG, DAG, MAG ve serbest yağ asitliği miktarı farklı örnekler 240 °C’ de 2 saat ısıtılma tabi tutulmuş ve örneklerde 3-MCPD esterleri ve ilişkili bileşenlerin miktarı belirlenmiştir. 3-MCPD esterleri ve RC miktarı kolza yağı ve soya yağı gibi örneklerde 1 mg/kg’ dan az bulunurken, palm yağı, mısır yağı ve hindistan cevizi yağında çok daha yüksek miktarlarda bulunmuştur. Bununla birlikte meyve yağı olmalarına rağmen avokado yağı ve zeytinyağı örneklerinde yine bir meyve yağı olan palm yağına göre çok daha düşük miktarda 3-MCPD esterleri ve RC oluşumu gözlenmiştir. İncelenen yağların DAG miktarının düşük olmasının bu farka sebep olabileceği düşünülmektedir.

Farklı bölgelerden temin edilen palm yağı örneklerinde ise 3-MCPD esterleri ve RC oluşumu 1,3-14 mg/kg aralığında bulgulanmıştır. Bu farkın; meyvenin yetiştiği iklim, toprak koşulları, uygulanan tarımsal ilaçlar, olgunlaşma sonrası işlemler ve hasattan işlemeye kadar geçen sürenin etkisi ile ortaya çıkabileceği düşünülmektedir. Çalışmada farklı yağ örneklerine ait elde edilen 3-MCPD esterleri ve RC miktarları Şekil 2.5’ de gösterilmiştir.



Şekil 2.5 Farklı ham yağlarda ısıtıl işlem sonrası (240 °C 2 saat) 3-MCPD esterleri ve RC oluşumu (A: Örnek ortalaması, M: Malezya, I: Endonezya, G: Gana, C: Kolombiya . Rakamlar analiz edilen örnek sayısını göstermektedir. Hata çizgileri aynı çeşit yağdaki farklı örneklerin varyasyonunu göstermektedir.)

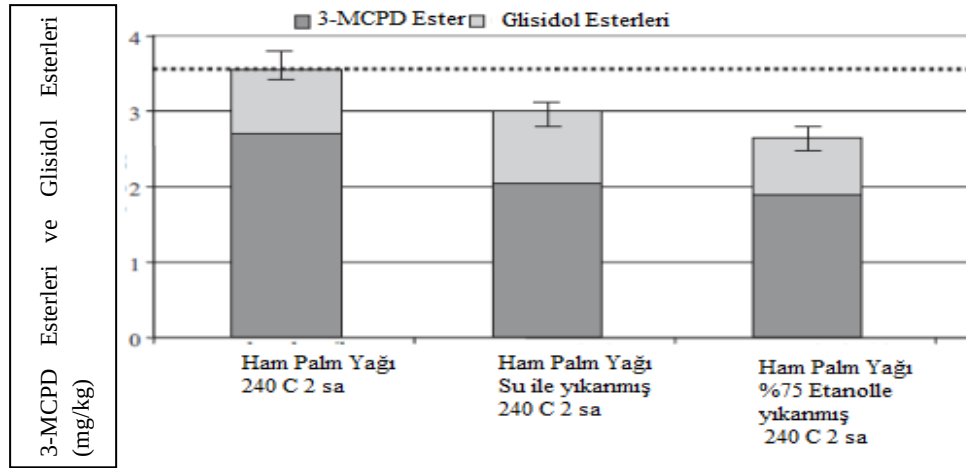
DAG miktarı ile deodorizasyon sonrası oluşan 3-MCPD esterleri ve RC oluşumu arasında bir korelasyon bulunmamakla birlikte, DAG miktarının %4' ün altında bulunduğu ham yağların 3-MCPD ve RC oluşumunda düşüşe sebep olduğu söylenebilir (Mathauus et al., 2011).



Şekil 2.6 Farklı hamyağlarda ısıtıl işlem sonrası (240 °C 2 saat) 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri oluşumu ile DAG miktarı arasındaki korelasyon (Mathauus et al., 2011).

Aynı çalışmada bir diğer öncü bileşik olarak görülen klor etkisi incelenmiştir. Yağ örneklerine yağda çözünmeyen sodyum klorür eklenerek ısıtıl işlem uygulandığında 3-MCPD esterleri ve RC oluşmadığı bulgulanmıştır. Fakat yağda çözünebilir tetra- n- bütillamonyumklorür (TBA) %0,1 oranında ilave edilerek ısıtıl işlem uygulanmış kolza yağı örneklerinde 3-MCPD esterleri oluşumunda büyük bir artışa sebep olduğu bulgulanmıştır (Mathauus et al., 2011).

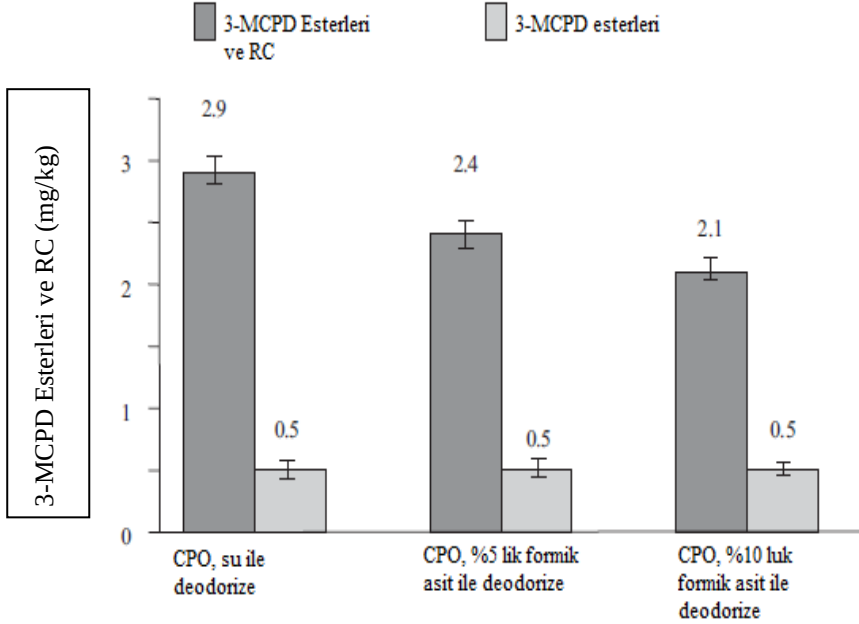
3-MCPD esterleri ve RC oluşumunda öncü bileşiklerin uzaklaştırılmasının 3-MCPD esterleri ve RC oluşumunda etkisinin irdelenebilmesi için ham palm yağı örnekleri deodorizasyon öncesi su ve %75' lik etanol ile yıkanmıştır. Yıkama işleminin 3-MCPD esterleri ve RC oluşumunda önemli ölçüde düşüş sağladığı bulgulanmıştır. Yıkama ile uzaklaştırılan klor içeriğinin gümüş nitrat uygulaması ile etkisi de araştırılmıştır. Fakat gümüş nitrat uygulamasının etkisi görülmemiştir. Deodorizasyon öncesi su ve alkolle yıkama işlemi uygulanmış palm yağı örneklerinin 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarları Şekil 2.7'de gösterilmiştir.



Şekil 2.7 Yıkamanın 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri oluşumuna etkisi (Mathauus et al., 2011).

Glisidol esterlerinin deodorizasyon sırasında uzaklaştırılmasını irdelemek amacıyla su buharına değişen oranlarda formik asit eklenmiştir. Formik asit uygulaması ile 3-MCPD esterleri oluşumu etkilenmezken, glisidol esterleri oluşumunda, sadece su ile yapılan uygulamaya kıyasla düşüş gözlenmiştir. Palm

yağı örneklerinde asit ve su ile yıkama sonrası oluşan 3-MCPD esterleri ve RC miktarı Şekil 2.8’ de gösterilmektedir (Mathauus et al., 2011).



Şekil 2.8 Deodorizasyon sırasında asit uygulamasının 3-MCPD esterleri ve RC miktarına etkisi.

2.7 3-MCPD Esterleri ve Glisidol Esterlerinin Toksikolojisi ve Sağlık Üzerine Etkileri

3-MCPD’nin insan vücudunda hidroliz metabolizması üzerine yapılan bir araştırmada basit bir sindirim sistemi modeli kullanılmıştır. Mono- ve di-esterlerin intestinal lipaz enzimi tarafından substrat olarak kullanıldığı gözlenmiştir. Belli koşullar altında mono-esterlerin ve di-esterlerin neredeyse tamamının serbest 3-MCPD’ ye dönüştüğü tespit edilmiştir (Seefelder et al., 2008).

3-MCPD esterlerinin 3-MCPD olarak bağıl biyoyararlanımlarının *in vivo* olarak belirlenmesi amacıyla, ratlara eşit molar dozlarda 1,2-dipalmitol-3-kloropropan-1,2-diol (3-MCPD diester) ve 3-MCPD ağız yolundan verilmiştir. Her iki uygulama süresince belirli zaman aralıklarında kanda, dokularda, çeşitli organlarda ve bağırsak luminal içeriğinde 3-MCPD konsantrasyonu ölçülmüştür. Sonuçlar; 3-MCPD diesterinin gastrointestinal sistemde enzimatik hidroliz ile 3-MCPD’ ye dönüşüp, kan, organlar ve dokulara yayıldığını göstermektedir. Dolayısıyla, risk değerlendirmelerinde, 3-MCPD esterlerinden kaynaklı 3-

MCPD'ye maruz kalma miktarı, 3-MCPD ile benzer şekilde hesaplanmalıdır (Abraham et. al., 2012).

Glisidol esterlerinin glisidol olarak bağıl biyoyararlılıklarının *in vivo* olarak belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada ise, ratlara eşit molar dozlarda glisidol palmitol esteri ve glisidol ağız yoluyla uygulanmıştır. Bu çalışma sonucunda da, risk değerlendirmelerinde glisidol esterlerinin gastrointestinal sistemde hidrolize olduğunu göz önünde bulundurmak gerektiği ortaya konmuştur (Appel et. al., 2013).

3-MCPD'nin karsinojenik etkisi üzerine yapılan bir çalışmaya göre; 1-3 MCPD 50 erkek ve 50 dişi F344 tip ratlara, 104 hafta boyunca içme suyu ile verilmiştir. Çalışma sonunda erkeklerde; adenoma hücrelerinde (orta ve yüksek doz seviyelerinde) ve meme bezi fibroadenomalarında (yüksek doz seviyesinde), dişilerde ise böbrek tümörlerinde (yüksek doz seviyesinde) önemli ölçüde artış görülmüştür (Sunahana et. al., 1993).

Glisidolün toksikolojik ve karsinojenik etkisi üzerine yapılan bir araştırmada, F344/N tipi ratlar ve B6C3F1 tipi farelere, 16 gün, 13 hafta ve 2 yıl boyunca su ile glisidol verilmiştir. İki yıllık bu araştırmanın sonucunda; glisidolün F344/N tipi ratlarda ve B6C3F1 tipi farelerde, erkek ve dişi cinsiyet üzerinde de farklı organ ve dokularda olmak üzere (deri, meme bezi, tiroid bezi vb.) karsinojenik aktivitesi olduğuna dair deliller bulgulanmıştır. Mutajen etki üzerine yapılan çalışmada *Salmonella typhimurium*, Mouse lymphoma ve bazı maya tiplerinde pozitif sonuçlar bulgulanmıştır (Anon, 1990)

Sonuç olarak; 3-MCPD esterleri ve Glisidol esterlerinin serbest forma dönüşümleri ve vücuttaki biyoyararlılıkları göz önüne alındığında, tüm risklerin serbest formların yanı sıra bağıl formalar içinde geçerli olduğunu ve gıda güvenliği açısından risk değerlendirmelerinin bahsi geçen bulgular dikkate alınarak yapılması gerektiğini düşündürmektedir.

2.8 Gıdalarda 3-MCPD ve Esterlerine İlişkin Yasal Düzenlemeler

Avrupa Birliği EU Reg No:466/2001 sayılı mevzuatında asit hidrolize bitkisel proteinlerde ve soya sosu ürünlerinde maksimum miktar 0,02 mg/kg olarak düzenlenmiştir. Ayrıca günlük maksimum alım miktarı ise (Tolerable Daily Intake) 2µg/kg vücut ağırlığı/gün olarak belirlenmiştir (Anon, 2001).

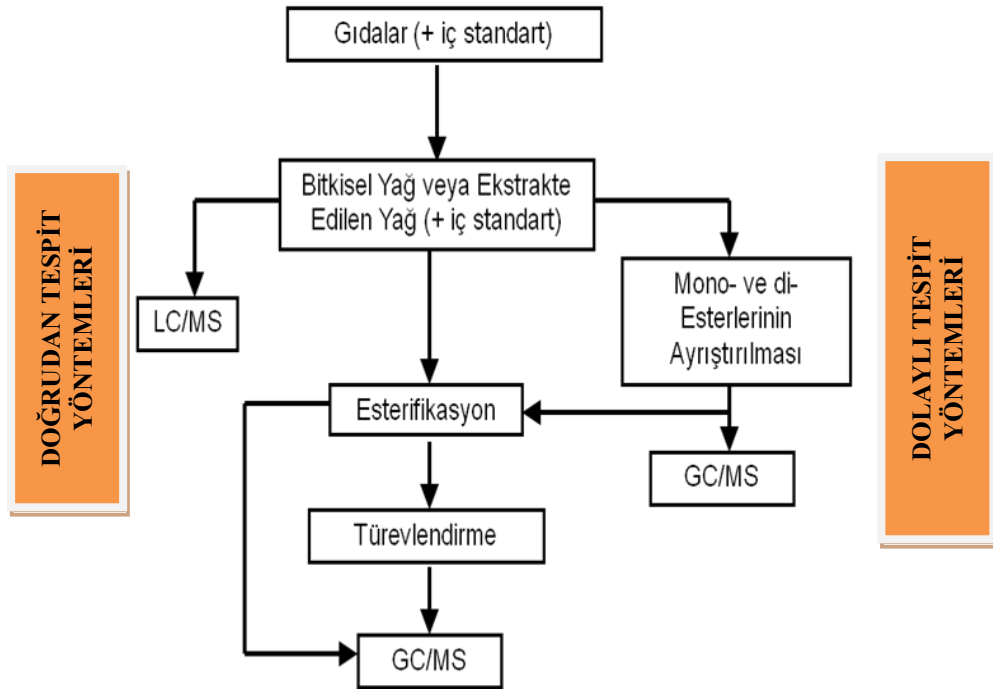
Ülkemizde de Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği ile soya sosu ve bitkisel proteinlerde maksimum miktar; 20µg/kg olarak belirlenmiştir (Anon, 2011).

Resmi kontroller için analiz metotları ve numune alma ile ilgili EC 333/2007 sayılı düzenleme getirilmiştir (Anon, 2007).

Analiz metotlarıyla ilgili ise; “Gıdalarda kurşun, kadmiyum, civa, inorganik kalay, 3-monokloropropan 1,2-diol ve polisiklik aromatik hidrokarbon seviyelerinin resmi kontrolü için numune alma, numune hazırlama ve analiz metodu kriterleri tebliği” (2014/2) ile gerekli düzenlemeler yapılmıştır (Anon, 2014).

2.9 3-MCPD esterleri ve Glisidol Esterlerinin Miktarlarının Belirlenmesinde Kullanılan Analiz Yöntemleri

3-MCPD ve esterleri miktarının belirlenebilmesi için farklı analiz yöntemleri üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Bu yöntemler analiz prensiplerine göre dolaylı ve doğrudan analiz yöntemleri olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Şekil 2.9). Doğrudan tespit yöntemlerinde; örnek içerisinden saflaştırılarak alınan kalıntı, cihaza verilerek miktarı hesaplanmaktadır. Dolaylı tespit yöntemlerinde ise örnek içerisindeki kalıntı kimyasal veya enzimatik yöntemler kullanılarak ön işlemler uygulanarak (esterleştirme , türevlendirme vb.) cihaz ile miktar tespiti yapılmaktadır.



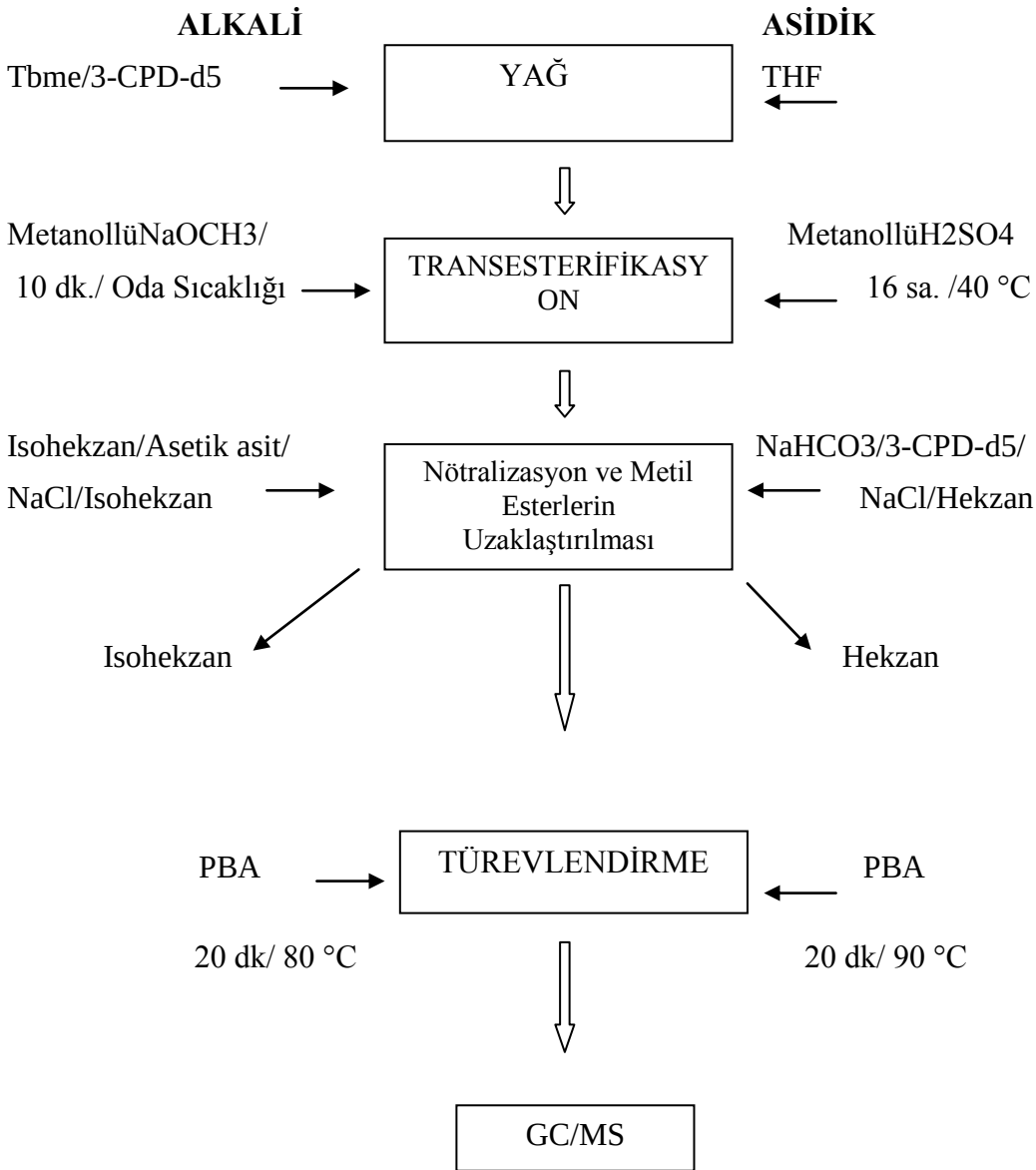
Şekil 2.9 3-MCPD analiz yöntemleri

2.9.1 Doğrudan tespit yöntemleri

3-MCPD esterlerinin GC/MS (gaz kromatografisi/kütle spektrofotometresi) ile doğrudan tayin edilebilmesi için öncelikle TAG' ler gibi bileşiklerden kolon veya ince tabaka gibi yardımcı kromatografik teknikler kullanılarak ayrılması gerekmektedir. Daha sonra her bir ester kapiler kolonda ayrılmakta ve referans kütle verileri kullanılarak tespit edilebilmektedir. Ancak bu yöntem referans CPD esterlerinin sınırlı sayıda bulunması sebebiyle kısmi bir sonuç vermektedir. American Oil Chemists Society (AOCS) tarafından yayınlanan LC/TOFMS(Likit Kromatografi / Time of Flight Mass Spektrometre) ile doğrudan tespit yönteminde ise örneğe kimyasal uygulanmaması bir avantaj olarak öne çıkmaktayken, hassasiyet kaybının önlenmesi için ESI (Elektronik İyon Kaynağı) kaynağının sürekli temizlik gerektirmesi (mobil faz olarak sodyum asetat kullanıldığı için) ve yüksek çözünürlük (high resolution) TOF kullanılması zorunluluğu bu yöntemin uygulanmasını sınırlamaktadır. Ayrıca her bir CPD esteri için referans standart bulunmamaktadır (Hamlet et. al., 2011).

2.9.2 Dolaylı tespit yöntemleri

Doğrudan tespit yöntemlerinin vurgulanan dezavantajlarından dolayı geliştirilen yeni yöntemlerde, CPD esterlerinden kimyasal veya enzimatik uygulamalar ile 3-MCPD elde edilerek tespit edilmesi yolu izlenmektedir. Bu yöntemde her bir CPD esteri değil toplam mono- ve di-esterlerin miktarı belirlenebilmektedir. CPD esterlerinin transesterifikasyonu için asidik ve alkali uygulamaları Şekil 2.10' de verilmiştir.



Şekil 2.10 CPD Esterlerinin asidik ve alkali transesterifikasyonu (Tbme: tertbütülmeterler, THF:Tetrahidrofuran PBA: Fenilboronik asit).

CPD esterlerinin transesterifikasyonu için asidik ve alkali uygulamaları farklı çalışmalarda uygulanmıştır. Fakat daha sonra yapılan çalışmalarda asidik şartlarda, ortamdaki Cl^- iyonu ve öncü bileşiklerin reaksiyona girerek fazladan 3-MCPD oluşturduğu ve tespitinde hatalı pozitif sonuçlara sebep olduğu ortaya konmuştur. Alkali şartlarda transesterifikasyon uygulandığında ise analizin uygulanması sürecinde fazladan 3-MCPD oluşmadığı tespit edilmiştir. Ancak alkali şartlarda 3-MCPD stabil olmadığından iç standart olarak isotop işaretli 3-MCPD-d5 kullanılması önemlidir (Weisshaar, 2008).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Yağ Örnekleri

Bu çalışmada; daha önce yapılmış çalışmalar ışığında riskli ürün gurubu olarak değerlendirilen meyve yağları (zeytinyağı, palm olein ve palm stearin yağı) ve bazı tohum yağları (mısırözü ve ayçiçeği yağı) incelemeye alınmıştır.

Ülkemiz önemli zeytinyağı üreticisi ve ihracatçısı ülkelerdendir. Palm yağı ise tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de özellikle işlenmiş gıda, pastacılık ve fırıncılık ürünleri, bisküvi, çikolata, margarin gibi çok geniş bir alanda hammadde kaynağı olarak kullanılmaktadır.

Palm yağı üreticisi bir ülke olmadığımız için, palm yağı Endonezya ve Malezya gibi ülkelere rafine edilmiş halde (RBD-refined, bleached, deodorized) ithal edilmektedir. Fakat depolama ve taşıma süresince yağda istenmeyen değişimler olmaktadır. Bu durum; yağın tüketilebilir özelliklere getirilebilmesi için bazı rafinasyon işlemlerine tekrar tabi tutulmasını gerektirmektedir. Bu işlemler; asitliğin giderilmesi için nötralizasyon, iz metaller vb. bileşikler ile renk maddelerinin uzaklaştırılması için ağartma, olumsuz koku ve tat veren unsurların uzaklaştırılması için deodorizasyon kademeleridir.

Bu çalışmada palm yağı örnekleri; palm olein ve palm stearin fraksiyonlarından, iki farklı rafinasyon tesisinden ve yağa uygulanan her rafinasyon kademesinden temin edilmiştir. Ayrıca tohum yağlarını temsil etmesi amacıyla A işletmesinden her rafinasyon kademesinden birer parti mısırözü yağı ve ayçiçeği yağı örneği de incelenmiştir.

Bitkisel yağ rafinasyonu yapan A işletmesinden palm olein, palm stearin, mısırözü ve ayçiçeği yağı örnekleri her rafinasyon kademesinden temin edilmiştir. Örneklemelerin yapıldığı rafinasyon kademeleri Çizelge 3.1’ de görülmektedir. Çizelgede de görüldüğü üzere Parti 4 palm olein yağı ve Parti 5 palm stearin yağı yüksek serbest yağ asitliği içermeleri sebebiyle nötralizasyon işlemine tabi tutulmuştur.

Çizelge 3.1 A işletmesi örnekleri

A İŞLETMESİ	
PARTİ/ÇEŞİT	KADEME
AYÇİÇEK	HAM
	NÖTRALİZASYON
	AĞARTMA
	DEO
MISIR	HAM
	NÖTRALİZASYON
	AĞARTMA
	DEO
PARTİ1/PALMOLEİN	HAM
	AĞARTMA
	DEO
PARTİ2/PALMOLEİN	HAM
	AĞARTMA
	DEO
PARTİ3/PALM STEARİN	HAM
	AĞARTMA
	DEO
PARTİ4/PALMOLEİN	HAM
	NÖTRALİZASYON
	AĞARTMA
	DEO
PARTİ5/PALM STEARİN	HAM
	NÖTRALİZASYON
	AĞARTMA
	DEO

B işletmesinden iki parti palm stearin ve bir parti palm olein yağı ağartma ve deodorizasyon kademelerinden alınmıştır. B işletmesinden alınan palm yağı örneklerine ait rafınasyon kademeleri Çizelge 3.2’ de verilmiştir.

B işletmesinden temin edilen örnekler; 220 °C sıcaklıkta 7 mbar vakum altında yaklaşık 3 saat boyunca deodorizasyon işlemine tabi tutulmuştur.

Çizelge 3.2 B işletmesi örnekleri

B İŞLETMESİ	
PARTİ/ÇEŞİT	
PARTİ1/PALMSTEARİN	AĞARTMA
	DEO
PARTİ2/PALMSTEARİN	AĞARTMA
	DEO
PARTİ3/PALMOLEİN	AĞARTMA
	DEO

Bu çalışmada; zeytinyağında 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri oluşumu üzerine fiziksel rafinasyon kademelerinin etkisini araştırmak amacıyla ham yağ, renk açma ve deodorizasyon kademelerinden farklı partilere ait zeytinyağı örnekleri incelenmiştir. İşletme koşullarından kaynaklanan farkın irdelenebilmesi amacıyla zeytinyağı örnekleri iki farklı rafinasyon tesisinden temin edilmiştir.

C işletmesinden 6 farklı yağ partisinden; ham yağ, ağartma ve rafinasyon sonunda örnekler temin edilmiştir. Ayrıca salamura sofralık zeytin olarak işlenen, fakat tüketilemeyen zeytinlerden elde edilen 2 adet rafine zeytinyağı örneği de incelenmiştir. C işletmesinden alınan örneklerle ait rafinasyon kademeleri ve bir kısım serbest yağ asitliği değerleri Çizelge 3.3’ de görülmektedir.

C işletmesinde fiziksel rafinasyon işlemi; 230-240 °C’ de 2-4 mbar vakum altında ve yaklaşık 2,5-3 saat süreyle uygulanmaktadır. Kullanılan su buharı, açık buhar olarak ince kılcal damar şeklinde buhar sirkülatörü yardımıyla yağın içerisine verilmektedir. Su buharı üretiminde osmoz filtrelerden elde edilen su kullanılmaktadır.

Çizelge 3.3 C işletmesi zeytinyağı örnekleri ve bazı serbest yağ asitliği değerleri.

C İŞLETMESİ		
PARTİ/ÇEŞİT	KADEME	SERBEST YAĞ ASİTLİĞİ (%Oleik asit)
PARTİ1	HAM	
	AĞARTMA	
	RAFİNE	
PARTİ2	HAM	
	AĞARTMA	
	RAFİNE	
PARTİ3	HAM	
	AĞARTMA	
	RAFİNE	
PARTİ 4	HAM	4,2
	AĞARTMA	4
	RAFİNE	0,11
PARTİ 5	HAM	5,2
	AĞARTMA	5,05
	RAFİNE	0,09
PARTİ 6	HAM	5,9
	AĞARTMA	5,75
	RAFİNE	0,1
SALAMURA	RAFİNE	
PÇ2(HYP)88	RAFİNE	

Zeytinyağında fiziksel rafinasyon yapan D işletmesinden 6 farklı parti zeytinyağı örneği ham yağ, ağartma ve rafinasyon sonrası kademelerinden temin edilmiştir. Örneklere ait bazı ham yağ serbest yağ asitliği değerleri Çizelge 3.4’ de gösterilmektedir.

Çizelge 3.4 D işletmesi zeytinyağı örnekleri ve bazı serbest yağ asitliği değerleri.

D İŞLETMESİ		
PARTİ/ÇEŞİT	KADEME	ASİTLİK(%Oleik asit)
PARTİ 1	HAM	3
	AĞARTMA	
	RAFİNE	
PARTİ 2	HAM	3
	AĞARTMA	
	RAFİNE	
PARTİ 3	HAM	3,1
	AĞARTMA	
	RAFİNE	
PARTİ 4	HAM	3,1
	AĞARTMA	
	RAFİNE	
PARTİ 5	HAM	3,2
	AĞARTMA	
	RAFİNE	
PARTİ 6	HAM	3,2
	AĞARTMA	
	RAFİNE	

Çalışma süresince 23 adet palm yağı, 38 adet zeytinyağı ve 8 adet tohum yağı olmak üzere toplam 69 adet örnekte 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarı araştırılmıştır. İşletmelerden temin edilen örnekler analize alınıncaya kadar +4 °C buzdolabında saklanmıştır.

3.1.2. Kimyasal maddeler ve çözüenler

3-kloro-1,2-propandiol (3-MCPD) ve 3-kloro-1,2-propan-1,1,2,3,3-d5-diol (3-MCPD-d5) standartları Sigma – Aldrich’ den temin edilmiştir. Diğer tüm kimyasal madde ve çözüenler analitik saflıkta kullanılmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 3-MCPD esterleri ve glisidol esterlerinin miktarının belirlenmesi

Örneklerde toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarı, DGF C VI 17(10) standart yöntemi kullanılarak GC-MS ile belirlenmiştir. Bu yöntemde esterifikasyon alkali ortamda gerçekleştirilmiş ve iç standart olarak izotop işaretli 3-MCPD-d5 kullanılmıştır (Anon, 2011). Tüm analiz çalışmaları ISO 17025 akreditasyonu olan, İzmir Gıda Kontrol Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Metodun laboratuvar içi doğrulama çalışmalarında uluslararası geçerliliği olan sertifikalı referans materyal (CRM-palm yağı) kullanılmıştır. Bu çalışmalar neticesinde Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı onayı ile laboratuvarımız ilgili metot ve ürün grubunda bu analizi yapmak üzere yetkilendirilmiştir. Ayrıca laboratuvarımız kalite sistemi gereği, analizin yapılabilişliğini somut delillerle göz önüne sermek adına, uluslararası yeterlilik testi (PT) sağlayıcısı FAPAS tarafından düzenlenen yeterlilik testine katılım sağlanmış ve test sonuçları başarılı olarak değerlendirilmiştir (z skoru ≤ 2). Bunun yanında her çalışma sırasında incelenen örneklerle birlikte kontrol örneği olarak bu sertifikalı materyal de analize alınmıştır.

3.2.1.1 Yağ örneklerinin hazırlanması

Katı örnekler erime sıcaklığının yaklaşık 10°C üzerinde bir sıcaklıkta eritilip homojen hale getirilmiştir. Safsızlık veya nem içeren ham yağ örnekleri nem tutucu olarak susuz sodyum sülfat ile muamele edilerek filtreden süzölmüştür.

3.2.1.2 Esterleştirme ve nötralizasyon

Metanollü sodyum metilat (NaOCH_3) çözeltisi: Sodyum metilatın 0,5 Molar'lık metanollü çözeltisi

Çözgen karışımı A: Tertbütilmetileter (tBME) ve etil asetatın 8:2 (v/v) oranında karışımı

Sodyumklorür (NaCl) çözeltisi: Sodyumklorürün %20'lik (m/v) sulu çözeltisi

Çözgen karışımı B: 30 ml sodyumklorür çözeltisi ile 1 ml asetik asit (v/v) karışımı (Günlük hazırlanmalıdır.)

Türevlendirme çözeltisi: 2,5 g fenilboronik asit (PBA)'in 19 ml aseton ve 1 ml (m/v) suda çözeltisi

İç standart stok çözeltisi: 3-MCPD-d5'in 2000 mg/L (m/v) etanolde çözeltisi (0-6 °C'de 1 yıl süre ile saklanabilir.)

İç standart çözeltisi: Stok çözeltiden tBME'de çözünerek hazırlanmış 20 mg/L'lık'de iç standart çözeltisi (0-6 °C'de 3 ay süre ile saklanabilir.)

3-MCPD Kalibrasyon stok çözeltisi: 3-MCPD'nin NaCl çözeltisinde hazırlanmış 100 mg/L'lık (m/v) çözeltisi

3-MCPD kalibrasyon çözeltileri, her çalışma öncesinde stok çözeltiden günlük olarak NaCl çözeltisi ile seyreltilerek hazırlanmıştır.

0,1 gram yağ örneği, kapaklı cam deney tüplerine tartılıp tertbütilmetileter (tBME) ve etil asetatın 8:2 (v/v) oranında karışımı ile hazırlanmış çözeltiden 0,5 ml eklenerek yağ örneği çözünmüştür. Çözünen örneğin üzerine 100 µl iç standart çözeltisi ve 1 ml sodyum metilat (alkali transesterifikasyon) çözeltisi eklenmiştir. Test tüpünün ağzı sıkıca kapatılarak oda sıcaklığında 5-10 dakika metillendirmeye bırakılmıştır. Süre sonunda hızlıca 3 ml hekzan ve 3 ml çözgen karışımı B ilave edilip iyice çalkalanmıştır. Faz ayrımından sonra pipet yardımıyla üst faz (organik faz) olabildiğince çekilip atılmıştır. Tüpe tekrar 3 ml hekzan eklenerek iyice çalkalanarak faz ayrımından sonra üst faz (hekzan fazı) alınıp atılmıştır. Bu işlem ile yağ asidi metil esterleri örnekten uzaklaştırılmıştır.

3.2.1.3 Türevlendirme

Tüpte kalan sulu faza 0,5 ml türevlendirme çözeltisi eklenip ve ağzı sıkıca kapatılmıştır. 80 °C su banyosunda 20 dakika türevlendirmeye bırakılan tüpler daha sonra su banyosundan çıkarılıp oda sıcaklığına soğutulmuştur. Üzerlerine 3 ml hekzan eklenerek iyice çalkalananan tüplerden faz ayrımı beklenip hekzan ile ekstrakte edilen kısım vialle alınmıştır. GC/MS sistemini korumak ve daha yüksek hassasiyette çalışmak için tüpten alınan hekzan fazı azot altında uçurulup heptan ile çözülmüştür. Elde edilen çözelti vialle alınarak GC/MS sistemine enjekte edilmiştir.

3.2.1.4 GC/MS çalışma koşulları

Elde edilen test materyallerinin kromatografik ayrımı için laboratuvarımızda hali hazırda bulunan, Thermo Scientific marka gaz kromatografisi kütle spektrometresi(GC/MS) kullanılmıştır. Cihaz PTV (Programmed Temperature Vaporizing) enjeksiyon sistemi ve 30 m*0,25 mm iç çap* 0,25µm (HP 5 MS) gaz

kromatografi kolonu ile donatılmıştır. GS/MS te uygulanan çalışma koşulları aşağıda yer almaktadır;

Enjeksiyon hacmi: 2 μ l

PTV Enjeksiyon sıcaklığı: 50 °C $\longrightarrow$ 180 °C/ dakikada 10 °C artışla (5 dk.)

Splitless süresi: 1,5 dk.

Split akışı: 20 ml/dk.

Taşıyıcı gaz: Helyum 2,1 ml/dk.

Fırın programı: 60 °C (1 dk) $\longrightarrow$ 190 °C/ dakikada 6 °C artışla

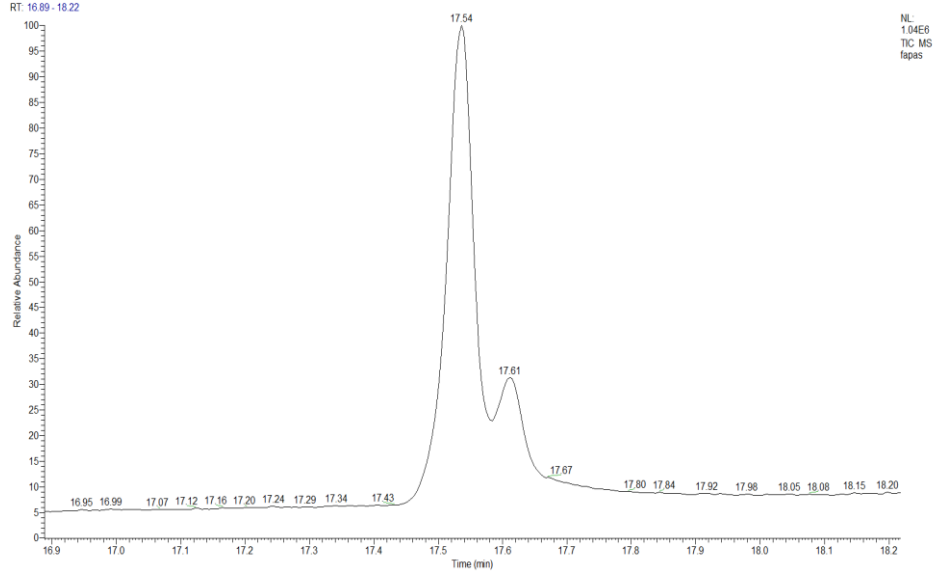
190 °C $\longrightarrow$ 280 °C/ dakikada 20 °C artışla (10-30 dk)

Dedektör: EI+, SIM Mode

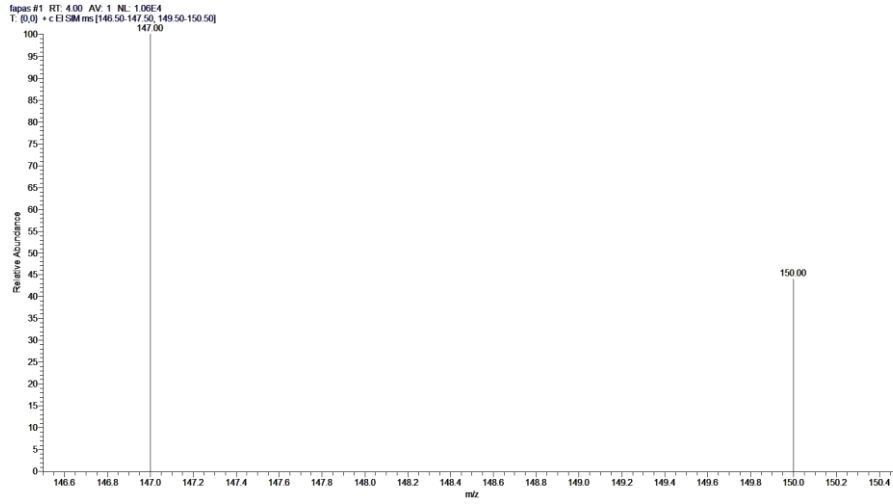
İç standart kütle (3-MCPD-d5): m/z= 201 veya 150

3-MCPD: m/z= 196 veya 147

GC/MS sistemine analiz için verilen bir örneğe ait kromatogram ve spektrum görüntüleri Şekil 3.1 ve Şekil 3.2’de verilmiştir. Piklerin değerlendirilmesinde 3-MCPD-d5 için m/z 150, 3-MCPD için m/z 147 kullanılmıştır. Her bir test 2 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1 GC/MS örnek kromatogramı.



Şekil 3.2 GC/MS örnek spektrumu.

3.2.1.5 Sonuçların hesaplanması

Kalibrasyon eğrisi 6 farklı noktada ve örnekte beklenen seviyeye göre (örneğin; 0,025-1,0-2,0-3,0-4,0-5,0 mg/kg) ve başlangıç noktası tespit limitini içerecek şekilde her çalışmada yeniden hazırlanmıştır. Kalibrasyon eğrisi çizmek için; ilk olarak cam tüplere 100 µl iç standart çözeltisi eklenip çözgen azot gazı

altında uçurulmuştur. Daha sonra tüplere uygun miktarda kalibrasyon çözeltisi eklenerek NaCl çözeltisi ile 3 ml' ye tamamlanmıştır. Tüplere 500 µl türevlendirme çözeltisi eklenip ağzı kapatılan tüpler 80 °C su banyosunda 20 dakika türevlendirmeye bırakılmıştır. Süre sonunda oda sıcaklığına soğutulup üzerlerine 3 ml hekzan ilave edilerek çalkalanmıştır. Faz ayrımından sonra üst fazdan viale alınarak azot gazı altında çözgen uçurulmuştur. Vial içeriği heptan ile çözülerek GC/MS sistemine enjekte edilmiştir.

Kalibrasyon eğrisi; 3-MCPD pik alanının, iç standart (3-MCPD-d5) pik alanı oranına (A147/A150) karşılık gelen ilgili kalibrasyon çözeltisi konsantrasyonu ile oluşturulmuştur.

$$Q = \frac{A(147)}{A(150)}$$

Q:Pik alanlarının oranı

A:Pik alanı

Kalibrasyon eğrisinin formülü aşağıdaki gibidir.

$$Q = a \cdot M(3mcpd) + b$$

Q: Pik alanları oranı

M(3mcpd): Türevlendirilmiş kısımdaki 3-MCPD miktarı (mg)

a: Kalibrasyon eğrisinin eğimi

b: Kalibrasyon eğrisinin y eksenini kesim noktası

Örnekteki 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarı aşağıdaki eşitlik yardımı ile hesaplanmıştır.

$$w_{3-mcpd} = \frac{Q_{\text{örnek}} - b}{a \cdot m} \cdot 1000$$

W3-mcpd: Örneğin 3-mcpd esterleri ve glisidol esterleri miktarı(mg/kg yağ)

Q örnek: Örneğin İç standart pik alanının (A147) 3-MCPD pik alanına oranı

m: Örneğin miktarı (g)

3.2.2 İstatistiksel değerlendirme

Rafinasyon işlem kademesinin 3-MCPD ve glisidol esterleri oluşumu üzerine etkileri Varyans Analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Palm Yağı Fraksiyonlarına Uygulanan Rafinasyon İşlem Kademelerinin 3-MCPD ve Glisidol Esterleri Miktarı Üzerine Etkileri

Türkiye’de palm yağı ve fraksiyonları kızartma amaçlı yağlar, margarin ve pastacılık-fırıncılık yağlarında yaygın bir kullanım alanı bulmaktadır. Palm yağı fraksiyonları (palm olein, palm stearin); nötralizasyon, renk açma ve deodorizasyon işlemlerinden geçirilmiş olarak (RBD) ithal edilmekle birlikte gerek ithalat süreci, gerek depolama koşulları nedeniyle istenmeyen değişikliklere uğramaktadır. Bu nedenle palm yağı ve fraksiyonlarını özel amaçlı ürünlerinde kullanacak işletmeler bu yağlara alkali nötralizasyonu, renk açma ve deodorizasyon işlemlerini, yağın özelliklerine ve kullanılacağı üründe istenilen niteliklere bağlı olarak uygulamak zorunda kalmaktadır. Çalışmada A ve B olarak ifade edilen iki farklı işletmeden temin edilen 4 farklı parti palm olein ve 4 farklı parti palm stearin yağı örneği, toplamda 23 farklı palm yağı örneği incelenmiştir.

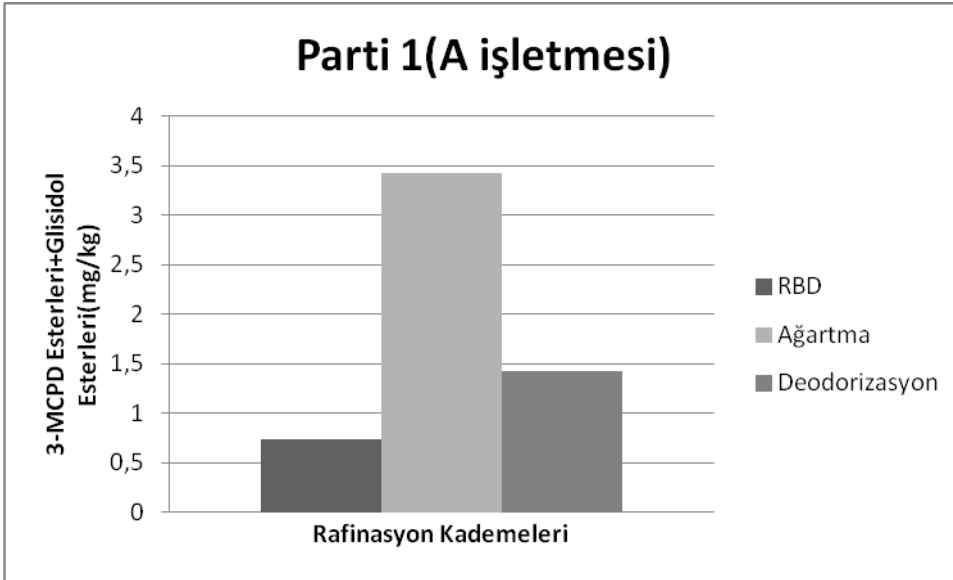
Çalışma sonucunda; tüm palm yağı örneklerinde toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarı 0,70- 4,99 mg/kg (n:23), rafinasyon sonunda ise 1,42- 4,29 mg/kg değerleri arasında bulunmuştur (n:8). Palm yağı fraksiyonlarına göre toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarları değerlendirildiğinde; rafine palm olein yağında 1,42-2,07 mg/kg (n:4) iken, rafine palm stearin yağında 1,77-4,29 mg/kg (n:4) aralığında değerler bulgulanmıştır. Rafine palm yağına ait elde edilen bulgular literatür ile benzerlikler göstermektedir.

A işletmesinden temin edilen Parti 1, Parti 2 ve Parti 3 örneklerinde RBD palm olein ve palm stearin yağları sadece ağartma ve deodorizasyon işlemlerine tabi tutulmuş olup, Parti 4 palm olein ve Parti 5 palm stearin yağı öncelikle kimyasal nötralizasyon daha sonra da renk açma ve deodorizasyon işlemlerine tabi tutulmuştur. Çizelge 4.1’ de bu örneklere ait toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri değerleri verilmiştir. Rafinasyon kademeleri boyunca her bir partide meydana gelen değişim Şekil 4.1, 4.2, 4.3, 4.4 ve 4.5’ de verilmiştir.

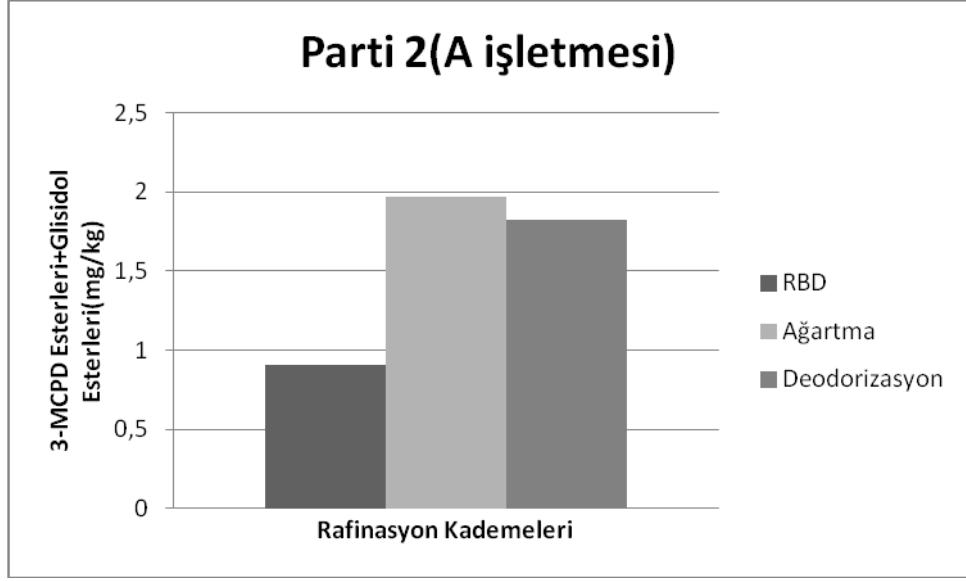
Çizelge 4.1 A işletmesi palm yağı örnekleri toplam 3-MCPD ve Glisidol Esterleri Miktarı (mg/kg)

ÖRNEK KODU	Toplam 3-MCPD Esterleri ve Glisidol Esterleri Miktarı (mg/kg)
------------	---

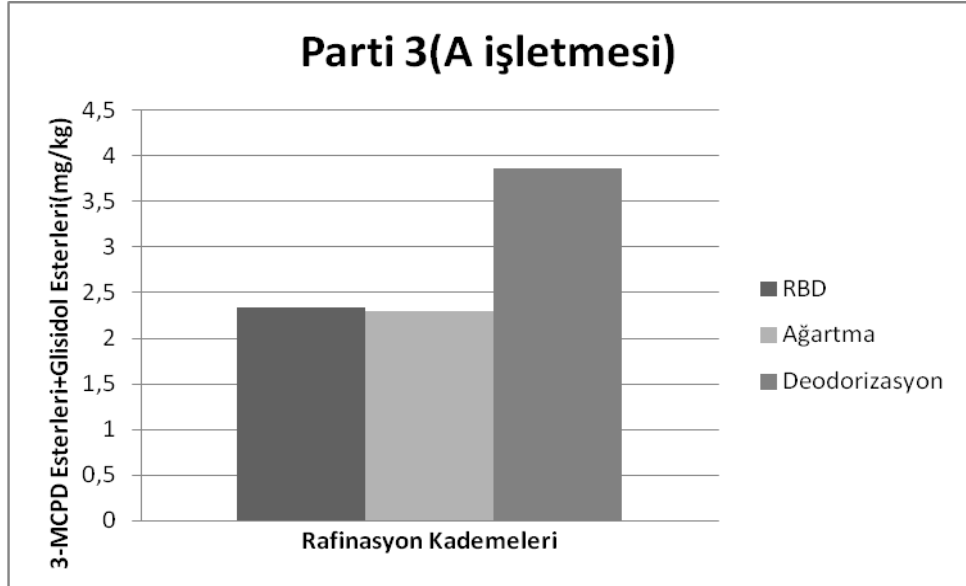
A işletmesi Palm Yağı		1. Tekerrür	2. Tekerrür	Ortalama
PARTİ1/PALMOLEİN	HAM	0,78	0,70	0,74
	AĞARTMA	3,10	3,76	3,43
	DEO	1,45	1,39	1,42
PARTİ2/PALMOLEİN	HAM	0,94	0,88	0,91
	AĞARTMA	1,81	2,13	1,97
	DEO	1,89	1,75	1,82
PARTİ3/PALM STEARİN	HAM	2,12	2,56	2,34
	AĞARTMA	2,39	2,21	2,30
	DEO	3,55	4,17	3,86
PARTİ4/PALMOLEİN	HAM	1,00	0,92	0,96
	NÖTRALİZASYON	0,92	0,96	0,94
	AĞARTMA	4,02	3,40	3,71
	DEO	1,24	1,78	1,51
PARTİ5/PALM STEARİN	HAM	1,00	1,20	1,10
	NÖTRALİZASYON	1,15	1,33	1,24
	AĞARTMA	4,67	5,31	4,99
	DEO	4,87	3,71	4,29



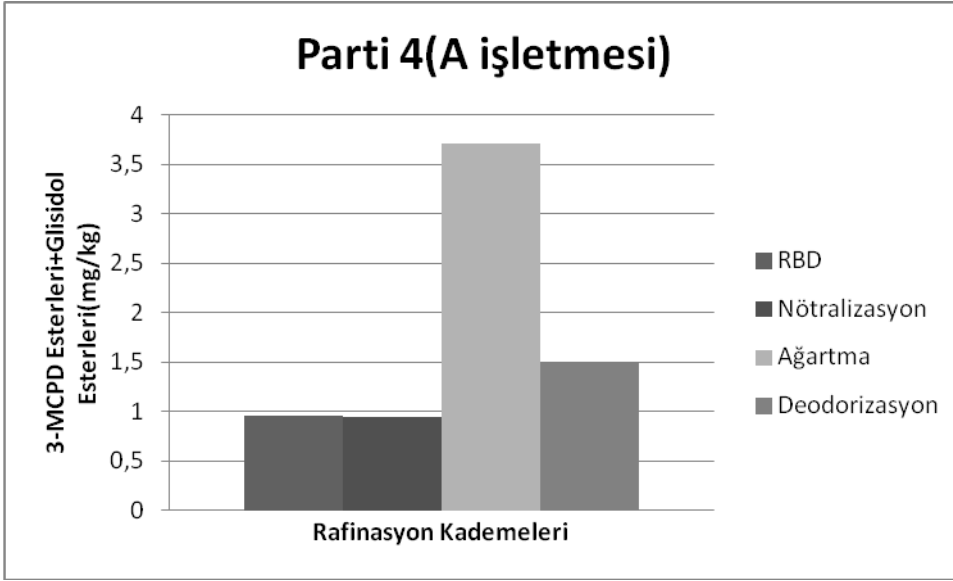
Şekil 4.1 3-MCPD Esterleri+Glisidol Esterleri değerinin Parti 1 Palm Olein Yağında Rafinasyon Kademelerine Göre Değişimi.



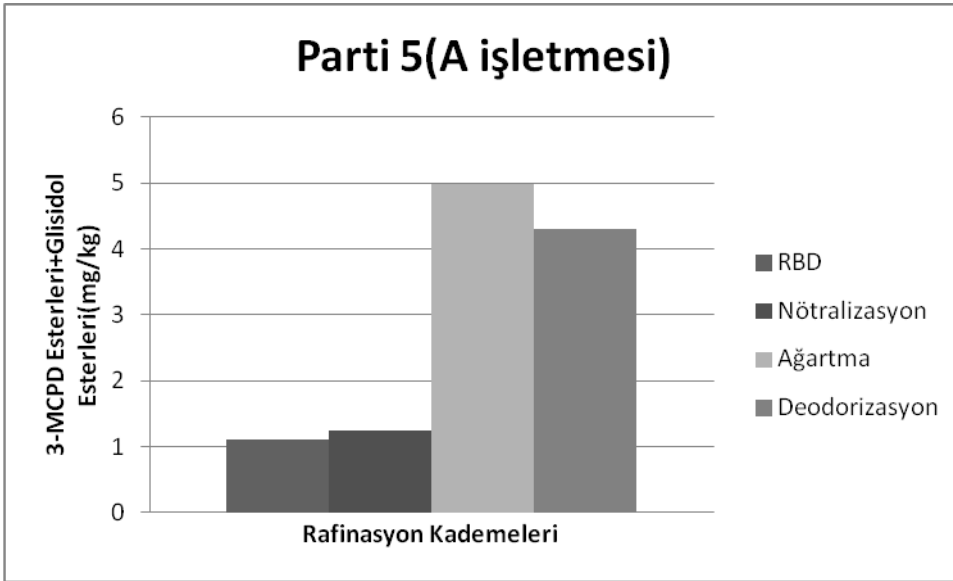
Şekil 4.2 3-MCPD Esterleri+Glisidol Esterleri değerinin Parti 2 Palm Olein Yağında Rafinasyon Kademelerine Göre Değişimi.



Şekil 4.3 3-MCPD Esterleri+Glisidol Esterleri değerinin Parti 3 Palm Stearin Yağında Rafinasyon Kademelerine Göre Değişimi.



Şekil 4.4 3-MCPD Esterleri+Glisidol Esterleri değerinin Parti 4 Palm Olein Yağında Rafinasyon Kademelerine Göre Değişimi.



Şekil 4.5 3-MCPD Esterleri+Glisidol Esterleri değerinin Parti 5 Palm Stearin Yağında Rafinasyon Kademelerine Göre Değişimi.

A işletmesi palm olein ve palm stearin yağı örneklemede, her partinin toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri değerlerinin, birbirinden önemli derecede ($P < 0.05$) farklılık gösterdiği istatistiksel olarak belirlenmiştir ve istatistiksel değerlendirme tablosu Çizelge 4.2' de verilmiştir.

Çizelge 4.2 A işletmesi için tüm örneklerin birbiri arasındaki farklılığı gösteren ANOVA tablosu.

		Kareler Toplamı	SD	Ortalama ların Karesi	F	Önem derecesi
Renk Açma	Gruplar Arasında	4.938	2	2.469	634.641	.000
	Gurup İçinde	.023	6	.004		
	Toplam	4.962	8			
Nötr Yağ	Gruplar Arasında	.062	2	.031	77.076	.000
	Gurup İçinde	.002	6	.000		
	Toplam	.064	8			
Deodorizasyon	Gruplar Arasında	.317	2	.158	319.046	.000
	Gurup İçinde	.003	6	.000		
	Toplam	.320	8			

Çizelge 4.3’de verilen sonuçlar değerlendirildiğinde A işletmesinde palm olein yağlarına uygulanan rafinasyon kademeleri sırasında oluşan 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarları incelendiğinde nötr yağ ile renk açma sonrasında ve renk açma sonrası ile deodorizasyon işlemi sonrasında tespit edilen 3-MCPD miktarlarının önemli düzeyde farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($P<0.05$).

Çizelge 4.3 A işletmesi rafinasyon kademelerinin palm olein yağlarında 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri oluşumuna etkisi ANOVA tablosu.

	Eşlenmiş Farklar					t-değeri	SD	Önem düzeyi
	Ortalama	Std. Sapma	Std. Hata	95% Güven Aralığı				
				En Düşük	En Yüksek			
Nötr Yağ – Renk Açma	-2.660094	.094671	.054658	-2.895269	-2.424919	-48.668	2	.000
Renk Açma - Deodorizasyon	2.006730	.063523	.036675	1.848931	2.164529	54.717	2	.000

Rafinasyon sonunda; A işletmesinde palm olein yağı örneklerinde toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri değeri yükselmiştir. Rafinasyon basamaklarının her parti için etkisi incelendiğinde; Parti 1’de renk açma işlemi sonrası % 363 düzeyinde artış görülürken, deodorizasyon sonrası % 58 düzeyinde bir düşüş saptanmıştır. Parti 2’ de renk açma işlemi sonrası % 116’lık artış görülürken, deodorizasyon sonrası % 8’lik düşüş görülmektedir. Parti 4’ de nötralizasyon sonrası % 2’lik bir düşüş, ağartma sonrası %294’lük artış ve deodorizasyon sonrası % 59’luk düşüş olduğu görülmektedir. Sonuç olarak; rafinasyona girişi ile çıkışı arasında yaklaşık olarak, Parti 1 için % 92’lik bir artış, Parti 2 için %100’lük bir artış, Parti 3 için %57’lik bir artış olduğu görülmektedir.

A işletmesinden temin edilen palm olein örneklerin tamamı değerlendirildiğinde; RBD palm olein yağında rafinasyon basamaklarının toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarı üzerinde etkisi olduğu söylenebilmektedir. Rafinasyon işlem kademelerinden renk açma işlemi sırasında meydana gelen artışa; ağartma topraklarının asit aktivasyonu sırasında kullanılan derişik asitlerden kaynaklanan Cl^- içeriğinin neden olduğu düşünülmektedir.

A İşletmesinden temin edilen palm stearin yağı için rafinasyon kademelerinden alınan örneklerin toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarları değerlendirildiğinde; rafinasyon sonunda tüm palm stearin yağı örneklerinde toplam 3-MCPD ve glisidol esterleri değerinin artış gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.4’de verilen sonuçlar değerlendirildiğinde A işletmesinde palm stearin yağlarına uygulanan rafinasyon kademeleri sırasında oluşan 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarları incelendiğinde nötr yağ ile renk açma sonrasında ve renk açma sonrası ile deodorizasyon işlemi sonrasında tespit edilen değerlerin önemli düzeyde farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($P<0.05$).

Çizelge 4.4 A işletmesi rafinasyon kademelerinin palm stearin yağlarında 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri oluşumuna etkisi ANOVA tablosu.

	Eşlenmiş Farklar					t-değeri	SD	Önem düzeyi
	Ortalama	Std. Sapma	Std. Hata	95% Güven Aralığı				
				En Düşük	En Yüksek			
Nötr Yağ – Renk Açma	-3.75000	.03000	.01732	-3.82452	-3.67548	-216.506	2	.000
Renk Açma – Deodorizasyon	.70667	.02082	.01202	.65496	.75838	58.798	2	.000

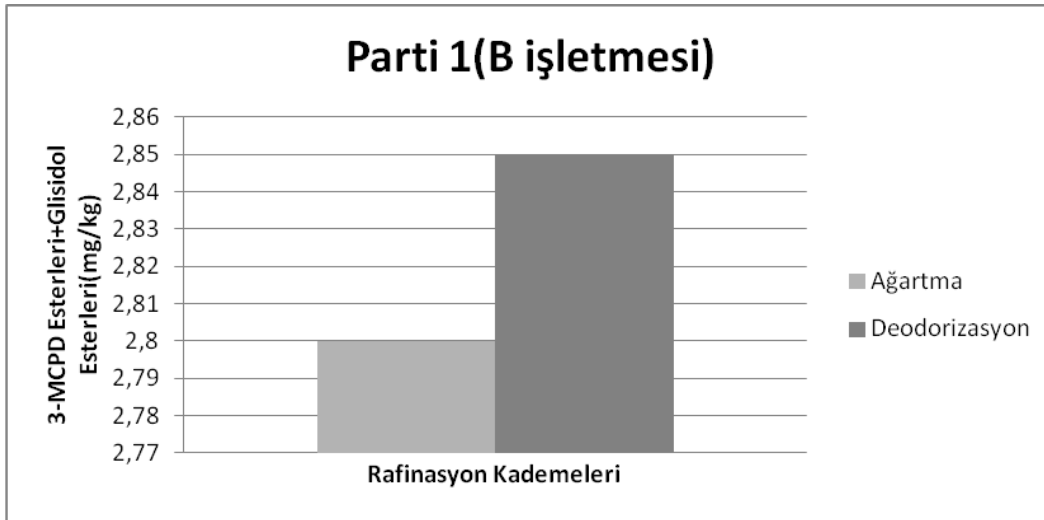
Rafinasyon basamaklarının etkisi incelendiğinde Parti 3’ de renk açma işlemi sonrası değişim önemsizken, deodorizasyon sonrası istatistiksel olarak önemli bir artış olduğu görülmektedir. Parti 5’ de nötralizasyon sonrası toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri değeri %12’lik artış gösterirken, renk açma işlemi sonrası bu değer yaklaşık olarak üç kat artmıştır. Aynı örnekte deodorizasyon sonrasında ise yaklaşık olarak % 14’lük düşüş görülmektedir.

Sonuç olarak, Çizelge 4.2, 4.3 ve 4.4 incelendiğinde A işletmesinde tüm palm yağı örneklerinin toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarlarının rafinasyon girişi ile çıkışı arasında önemli derecede artış gösterdiği belirlenmiştir ($P<0.05$).

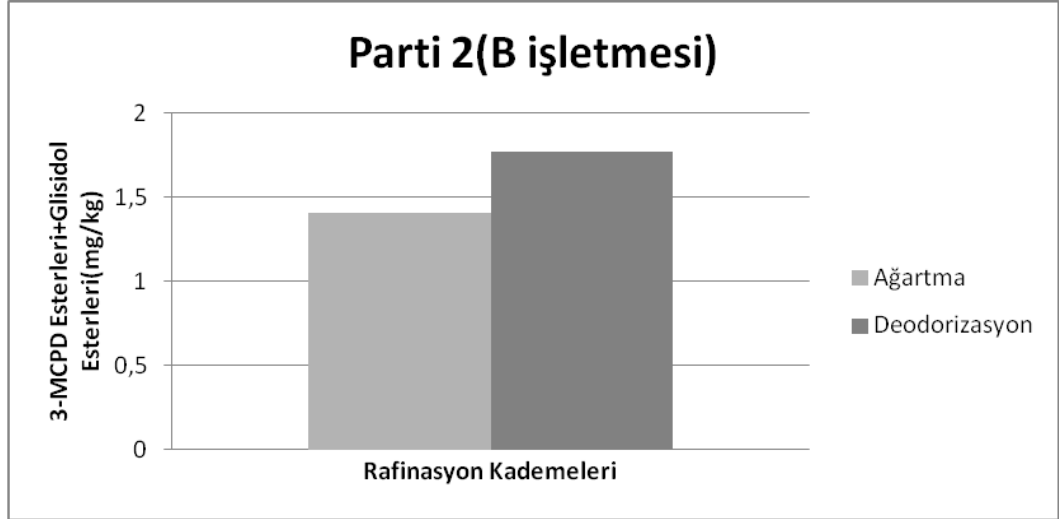
B işletmesinden 1 parti palm olein yağı ve 2 parti palm stearin yağı örneği deodorizasyon girişi ve deodorizasyon çıkışından temin edilmiştir. Bu işletmede örnekler 220 °C sıcaklıkta 7 mbar vakum altında yaklaşık 3 saat boyunca deodorizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Çizelge 4.5’ de bu örneklere ait toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri değerleri verilmiştir. Rafinasyon kademeleri boyunca her bir partide meydana gelen değişim Şekil 4.6, 4.7 ve 4.8’ de verilmiştir.

Çizelge 4.5 B işletmesi palm yağı örnekleri toplam 3-MCPD esterleri ve Glisidol Esterleri Miktarı (mg/kg)

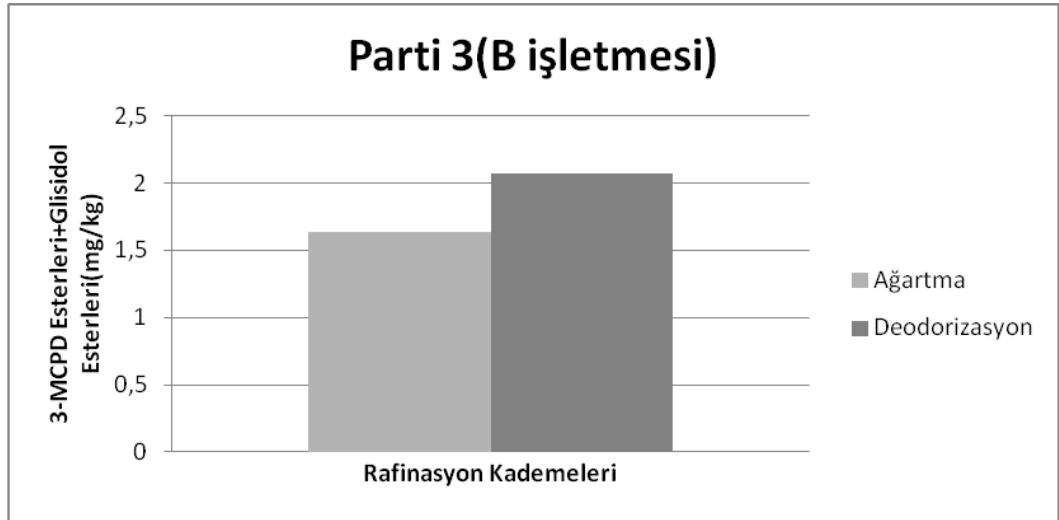
ÖRNEK KODU		Toplam 3-MCPD Esterleri ve Glisidol Esterleri Miktarı (mg/kg)		
B İşletmesi Palm Yağı		1. Tekerrür	2. Tekerrür	Ortalama
PARTİ1/PALM STEARİN	AĞARTMA	2,58	3,01	2,797
	DEO	3,06	2,64	2,85
PARTİ2/PALM STEARİN	AĞARTMA	1,38	1,44	1,41
	DEO	1,7	1,84	1,77
PARTİ3/PALM OLEİN	AĞARTMA	1,61	1,67	1,64
	DEO	2,19	1,95	2,07



Şekil 4.6 3-MCPD Esterleri+Glisidol Esterleri değerinin B işletmesi parti 1palm stearin yağında rafinasyon kademelerine göre değişimi.



Şekil 4.7 3-MCPD Esterleri+Glisidol Esterleri değerinin B işletmesi parti 2 palm stearin yağında rafinasyon kademelerine göre değişimi.



Şekil 4.8 3-MCPD Esterleri+Glisidol Esterleri değerinin B işletmesi parti 3 palm olein yağında rafinasyon kademelerine göre değişimi.

B işletmesinden temin edilen palm yağı örneklerine ait sonuçlar incelendiğinde deodorizasyon giriş ve çıkışında; Parti 1 için yaklaşık % 2, Parti 2 için % 25 ve Parti 3 için % 26 artış görülmüştür. Buna göre tüm örneklerde deodorizasyon sonrası toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri değerinde artış görüldüğü söylenebilir. Çizelge 4.6'da belirtilen istatistiksel değerlendirme sonucunda;

deodorizasyon işleminin toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri oluşumunu önemli düzeyde etkilediği görülmektedir ($P<0.05$).

Çizelge 4.6 B işletmesinde palm yağı örneklerinde deodorizasyon işleminin toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarı üzerine etkisi ile ilgili ANOVA tablosu.

		Kareler Toplamı	SD	Ortalamal arın Karesi	F	Önem derecesi
Deodorizasyon Giriş	Gruplar Arasında	3.034	2	1.517	748.614	.000
	Gurup İçinde	.012	6	.002		
	Toplam	3.046	8			
Deodorizasyon Çıkış	Gruplar Arasında	1.880	2	.940	16924.200	.000
	Gurup İçinde	.000	6	.000		
	Toplam	1.881	8			

Her iki işletme için deodorizasyon giriş ve çıkışındaki toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri değerleri incelendiğinde %2 ile % 59 arasında bir değişim olduğu görülmektedir.

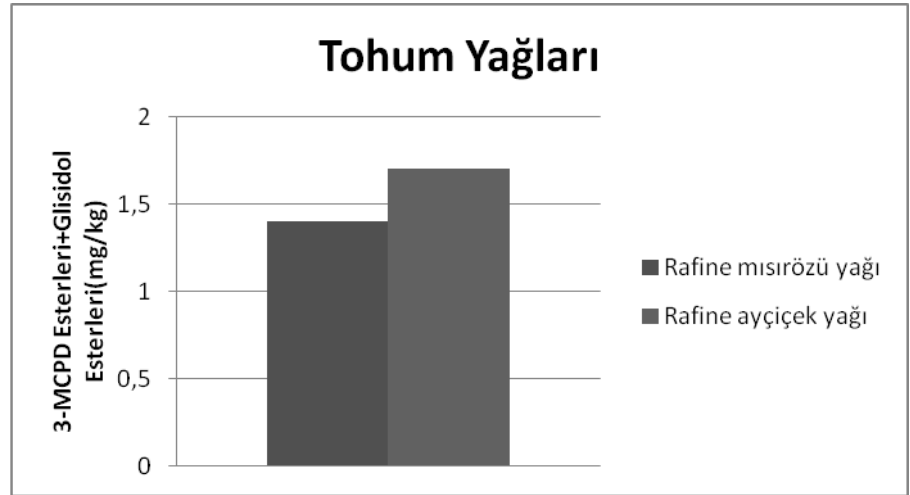
4.2. Bitkisel Tohum Yağlarına Uygulanan Rafinasyon İşlem Kademelerinin 3-MCPD ve Glisidol Esterleri Miktarı Üzerine Etkileri

Bitkisel yağlarda rafinasyon kademelerinin 3-MCPD ve glisidol esterleri miktarına ilişkin etkisini saptamak amacıyla ayçiçeği yağı ve mısırözü yağı örnekleri incelenmiştir. Bu amaçla A işletmesinden ham yağ, nötralizasyon çıkışı, ağartma çıkışı ve deodorizasyon çıkışına ilişkin tohum yağı örnekleri alınarak toplam 3-MCPD ve glisidol esterleri miktarları saptanmıştır. Çizelge 4.7' de ayçiçek yağı ve mısırözü yağının rafinasyon kademelerinde toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarları verilmiştir. Rafinasyon sonunda ayçiçeği yağı ve mısır özü yağında toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarı Şekil 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4.7 Ayçiçek yağı ve mısırözü yağında toplam 3-MCPD ve Glisidol Esterleri miktarı (mg/kg).

ÖRNEK KODU		Toplam 3-MCPD Esterleri ve Glisidol Esterleri Miktarı (mg/kg)		
Tohum Yağları		1. Tekerrür	2. Tekerrür	Ortalama
AYÇİÇEK	HAM	TEDB*	TEDB	TEDB
	NÖTRALİZASYON	TEDB	TEDB	TEDB
	AĞARTMA	TEDB	TEDB	TEDB
	DEO	1,88	1,52	1,7
MISIR	HAM	TEDB	TEDB	TEDB
	NÖTRALİZASYON	TEDB	TEDB	TEDB
	AĞARTMA	TEDB	TEDB	TEDB
	DEO	1,34	1,46	1,4

* TEDB: Tespit edilebilir değer bulunamadı.(<0,025 mg/kg)



Şekil 4.9 Rafine tohum yağlarında toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarı.

Ayçiçek yağı ve mısırözü yağı rafinasyon basamakları incelendiğinde ham yağ, nötralizasyon sonrası ve ağartma sonrası yağlarda tespit edilebilir düzeyde toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri bulunmazken, deodorizasyon işlemi sonrası ayçiçek yağında 1,7 mg/kg, mısırözü yağında ise 1,4 mg/kg düzeyinde tespit edilmiştir. Bulgulardan, rafinasyon kademelerinden deodorizasyon işleminin, ham tohum yağlarında toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri oluşumu üzerine etkisi olduğu görülmektedir.

4.3 Lampante Zeytinyağlarına Uygulanan Rafinasyon İşlem Kademelerinin 3-MCPD ve Glisidol Esterleri Miktarı Üzerine Etkileri

Zeytinyağında rafinasyon basamaklarının 3-MCPD ve glisidol esterleri miktarı üzerine etkisinin araştırılması amacıyla fiziksel rafinasyon yapan iki işletmeden 6'şar farklı parti zeytinyağı örneği lampante yağ, ağartma sonrası ve rafinasyon sonrası temin edilerek, 36 adet örnek incelemeye alınmıştır. Ayrıca C işletmesinden sofralık olarak tüketilemeyen salamura zeytinlerden elde edilmiş 2 adet rafine zeytinyağı örneğinde de toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarı araştırılmıştır.

Çalışma sonucunda; tüm lampante yağ ve ağartma sonrası yağ örneklerinde toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarı tespit edilebilir düzeyin de altında bulunmuştur (n:24). Tüm zeytinyağı örneklerinde rafinasyon sonrası toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarı ise 0,24-18,48 mg/kg (n:14) düzeyinde belirlenmiştir.

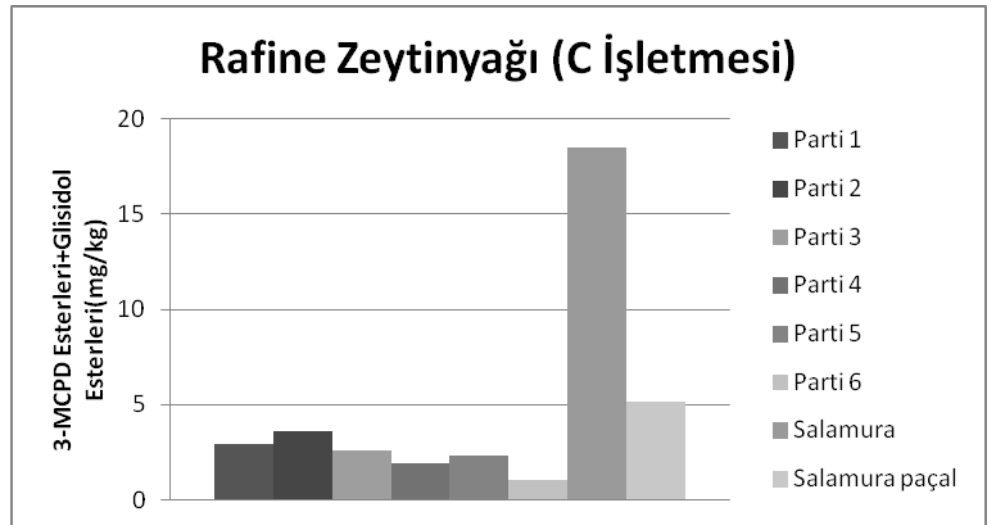
Lampante zeytinyağı ve rafine zeytinyağına ait bulgular literatür ile benzerlik göstermektedir. Ancak sofralık zeytinden elde edilen lampante zeytinyağının rafinasyonu sonucu elde edilen yağlarda yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır.

İşletmelerin rafinasyon koşulları incelendiğinde C işletmesinde fiziksel rafinasyon işleminin; 230-240 °C' de 2-4 mbar vakum altında ve yaklaşık 2,5-3 saat süreyle uygulandığı görülmektedir. Kullanılan su buharı, açık buhar olarak ince kılcal damar şeklinde buhar sirkülatörü yardımıyla yağın içerisine verilmektedir. Su buharı üretiminde osmoz filtrelerden elde edilen su kullanılmaktadır.

C işletmesi rafinasyon basamaklarından alınan 6 farklı parti yağ örneği ile salamura zeytinlerden elde edilmiş iki rafine zeytinyağı örneğine ait serbest yağ asitliği ile toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri değerleri Çizelge 4.8'de verilmiştir. Rafine zeytinyağlarına ait toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri değerleri Şekil 4.10' da görülmektedir.

Çizelge 4.8 C işletmesi zeytinyağı örneklerine ait toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarı (mg/kg).

ÖRNEK KODU		Toplam 3-MCPD Esterleri ve Glisidol Esterleri Miktarı (mg/kg)		
		1. Tekerrür	2. Tekerrür	Ortalama
C İşletmesi Zeytin Yağı				
PARTİ/ÇEŞİT	KADEME			
PARTİ1	HAM	TEDB	TEDB	TEDB
	AĞARTMA	TEDB	TEDB	TEDB
	RAFİNE	2,61	3,19	2,90
PARTİ2	HAM	TEDB	TEDB	TEDB
	AĞARTMA	TEDB	TEDB	TEDB
	RAFİNE	3,98	3,16	3,57
PARTİ3	HAM	TEDB	TEDB	TEDB
	AĞARTMA	TEDB	TEDB	TEDB
	RAFİNE	2,17	3,07	2,62
PARTİ 4	HAM	TEDB	TEDB	TEDB
	AĞARTMA	TEDB	TEDB	TEDB
	RAFİNE	2,05	1,79	1,92
PARTİ 5	HAM	TEDB	TEDB	TEDB
	AĞARTMA	TEDB	TEDB	TEDB
	RAFİNE	2,64	2,00	2,32
PARTİ 6	HAM	TEDB	TEDB	TEDB
	AĞARTMA	TEDB	TEDB	TEDB
	RAFİNE	1,10	0,98	1,04
SALAMURA	RAFİNE	20,02	16,94	18,48
PÇ2(HYP)88	RAFİNE	5,37	4,89	5,13



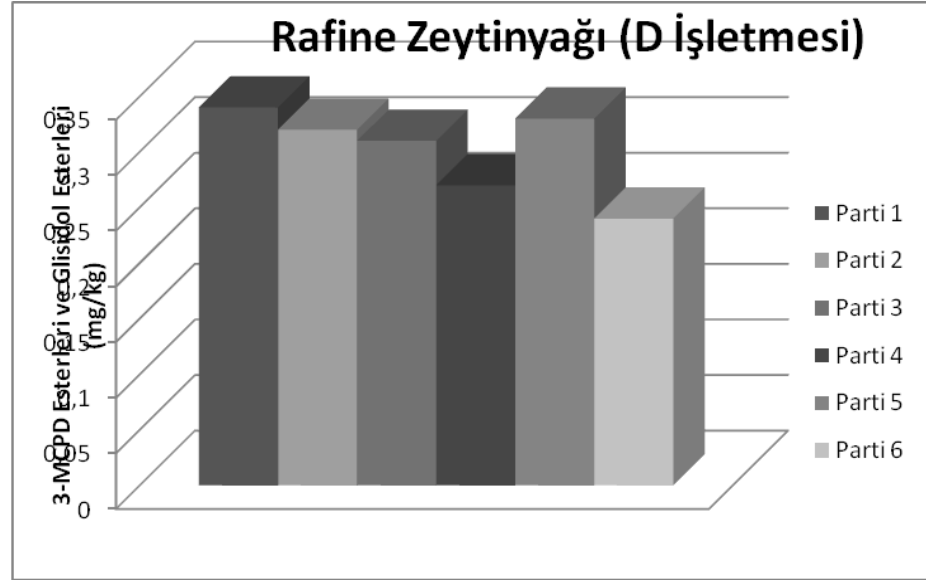
Şekil 4.10 C işletmesi rafine zeytinyağlarına ait 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri değerleri.

C işletmesinde rafine edilen zeytinyağlarında toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterlerinin 1,04-18,48 mg/kg düzeyinde bulunduğu belirlenmiştir. Örnekler arasında bulunan ve salamura zeytinden elde edilen lampante zeytinyağlarının rafine edilmesiyle üretilen rafine zeytinyağlarında toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarı 5,13 mg/kg ve 18,48 mg/kg olarak bulunmuştur. Bu farklılığın salamura suyunda bulunan Cl^- iyonlarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

D işletmesinde fiziksel rafinasyon işlemi; 208 °C’ de 0,67 mbar vakum altında ve yaklaşık 1 saat süreyle uygulanmaktadır. Su buharı debisi yaklaşık 60 kg/saat’ dir. D işletmesi rafinasyon basamaklarından alınan 6 farklı parti yağ örneğine ait serbest yağ asitliği ile toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri değerleri Çizelge 4.9’de verilmiştir. D işletmesine ait rafine zeytinyağlarına ait 3-MCPD ve glisidol esterleri değerleri Şekil 4.11’ de yer almaktadır.

Çizelge 4.9 D işletmesi zeytinyağı örneklerine ait 3-MCPD ve glisidol esterleri miktarı (mg/kg).

ÖRNEK KODU		Toplam 3-MCPD Esterleri ve Glisidol Esterleri Miktarı (mg/kg)		
D İşletmesi Zeytin Yağı		1. Tekerrür	2. Tekerrür	Ortalama
PARTİ/ÇEŞİT	KADEME			
PARTİ 1	HAM	TEDB	TEDB	TEDB
	AĞARTMA	TEDB	TEDB	TEDB
	RAFİNE	0,32	0,36	0,34
PARTİ 2	HAM	TEDB	TEDB	TEDB
	AĞARTMA	TEDB	TEDB	TEDB
	RAFİNE	0,332	0,32	0,32
PARTİ 3	HAM	TEDB	TEDB	TEDB
	AĞARTMA	TEDB	TEDB	TEDB
	RAFİNE	0,3	0,31	0,31
PARTİ 4	HAM	TEDB	TEDB	TEDB
	AĞARTMA	TEDB	TEDB	TEDB
	RAFİNE	0,26	0,28	0,27
PARTİ 5	HAM	TEDB	TEDB	TEDB
	AĞARTMA	TEDB	TEDB	TEDB
	RAFİNE	0,36	0,30	0,33
PARTİ 6	HAM	TEDB	TEDB	TEDB
	AĞARTMA	TEDB	TEDB	TEDB
	RAFİNE	0,24	0,24	0,24



Şekil 4.11 D işletmesi rafine zeytinyağlarına ait 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri değerleri.

D işletmesinde elde edilen rafine zeytinyağlarında 3-MCPD ve glisidol esterleri miktarı 0,24-0,34 mg/kg düzeyinde bulunmuştur.

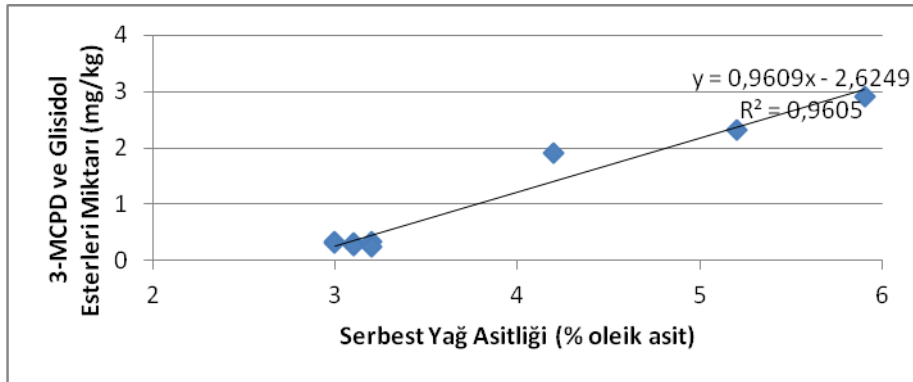
C ve D işletmelerinden alınan örneklere ait 3-MCPD ve glisidol esterleri miktarları karşılaştırıldığında; C işletmesinde rafine edilen zeytinyağlarında 1,04-18,48 mg/kg düzeyinde 3-MCPD ve glisidol esterlerinin olduğu, D işletmesinde ise bu değer 0,24-0,34 mg/kg düzeyinde olduğu saptanmıştır. Bu farklılığın, lampante zeytinyağlarının bileşimlerinden ve/veya deodorizasyon koşullarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Zeytinyağlarında rafinasyon kademelerinin etkisi incelendiğinde lampante yağ, ağartma sonrası yağlarda tespit edilebilir düzeyde toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri bulunmazken, deodorizasyon işlemi sonrası zeytinyağlarında 0,24- 18,48 mg/kg düzeyinde tespit edilmiştir. Bulgulardan, rafinasyon kademelerinden deodorizasyon işleminin, zeytinyağlarında toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri oluşumu üzerine etkisi olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.10 D işletmesinde farklı zeytinyağlarının serbest yağ asitlikleri ile 3-MCPD içerikleri arasındaki ilişkiyi gösteren ANOVA tablosu.

Kaynak	Kareler Toplamı	SD	Ortalamaların Karesi	F-Değeri	Önem Derecesi
Corrected Model	216.500 ^a	5	43.300	43.300	.000
Kesişim	16380.500	1	16380.500	16380.500	.000
Örnekler	216.500	5	43.300	43.300	.000
Hata	12.000	12	1.000		
Toplam	16609.000	18			
Düzeltilmiş Toplam	228.500	17			

Lampante zeytinyağlarının serbest yağ asitliği miktarının, rafinasyon sonrası 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarı grafiği Şekil 4.12’de verilmiştir. Çizelge 4.10 incelendiğinde, lampante zeytinyağlarının serbest yağ asidi içerikleri ile deodorizasyon sonucunda belirlenen 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarları arasındaki korelasyonun istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P < 0,05$ ve $R^2 = 0,9605$). Bu durumun; serbest yağ asidi miktarındaki artışın ham yağda bulunan mono ve digliserit miktarını arttırması ve bu maddelerin de 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri oluşumunda ara ürün olarak işlev görmelerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca serbest yağ asitliği değerinin %4’den az olduğu lampante yağlarında rafinasyon sonucu oluşan 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarlarının, %4’den fazla olan zeytinyağlarına kıyasla önemli ölçüde düşük olduğu bulgulanmıştır.



Şekil 4.12 Serbest yağ asitliğine göre 3-MCPD ve glisidol esterleri miktarındaki değişim.

5. SONUÇ

Palm yağı, tohum yağları ve zeytinyağında rafinasyon işlem kademelerinin 3-MCPD ve glisidol esterleri oluşumu üzerine etkisini belirlemek amacıyla planlanan çalışmada aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

- ✓ 3-MCPD ve glisidol esterleri miktarının rafine palm yağlarında 1,42-4,29 mg/kg arasında, rafine ayçiçek yağında 1,7 mg/kg, rafine mısır yağında 1,4 mg/kg, rafine zeytinyağlarında 0,24-18,48 mg/kg aralığında olduğu bulgulanmıştır.
- ✓ Rafine palm yağı, ayçiçeği yağı, mısırözü yağı ve zeytinyağlarında bulgularan toplam 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri değerleri, daha önce yapılmış çalışmalarda elde edilen bulguları desteklemektedir.
- ✓ RBD palm olein ve palm stearin yağında rafinasyon basamaklarının 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri miktarı üzerinde etkisi olduğu söylenebilmektedir.
- ✓ Ham tohum yağlarında; ham yağ, nötralizasyon sonrası ve ağartma sonrası yağlarda tespit edilebilir düzeyde 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri bulunmazken, rafinasyon kademelerinden deodorizasyon işleminin 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri oluşumu üzerine etkisi olduğu görülmektedir.
- ✓ Lampante zeytinyağlarının rafinasyonu sırasında deodorizasyonun 3-MCPD esterleri ve glisidol esterleri oluşumunda etkili olduğu ve diğer rafinasyon basamaklarının etkisinin olmadığı ortaya konmuştur.
- ✓ Lampante zeytinyağının serbest yağ asitliği değerinin 3-MCPD ve glisidol esterleri oluşumunda etkili olduğu görülmektedir. Bu sebeple rafine edilecek lampante zeytinyağı kalitesinin 3-MCPD ve esterlerinin oluşumunda etkili olduğu söylenebilir.
- ✓ Ayrıca salamura zeytinlerden elde edilen yağlardan üretilen rafine zeytinyağında 3-MCPD ve glisidol esterleri miktarının 18,48 mg/kg gibi yüksek seviyede bulunmasının salamuradan kaynaklanan tuz ile işlenmesinin bir sonucu olduğu düşünülmektedir.

- ✓ Zeytinyağı rafinasyonu sonucunda oluşan 3-MCPD ve glisidol esterleri miktarlarının işletmelere göre farklılıklar gösterebileceği bulgulanmıştır. Bu farkın lampante zeytinyağının bileşimi ve/veya deodorizasyon koşullarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Anon**, 1990, Toxicology and Carcinogenesis Studies of Glycidol(Cas No:556-52-5) National Toxicology Programme, USA
- Anon**, 2001, Opinion of the Scientific Committee on Food on 3- monochloropropane-1,2 diol(3-MCPD), Belçika.
- Anon**, 2001, European Commission, Commission Regulation (EC) No. 466/2001 of 8 March 2001 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Oj No. L77,16.3.2001,1–13 pp.
- Anon**, 2007, Commission Regulation (EC)No. 333/2007 of 28 March 2007 laying down the methods of sampling and analysis fort he offical control of the levels of lead, cadmium, mercury, inorganic tin, 3-MCPD and benzo(a)pyrene in foodstuffs.
- Anon**, 2009, 3-MCPD esters in food products, Summary Report of a Workshop held in February 2009 in Brussels, ILSI Europe Report Series, Belgium.
- Anon**, 2011, Türk Gıda Kodeksi, Bulaşanlar Yönetmeliği (2011/26).
- Anon**, 2011, Ester- bound 3- chloropropane-1,2 diol (3-MCPD ester) and glycidol (glycidyl ester), Summation method fort he determination in fats and oils by GC-MS.
- Anon**, 2014, Türk Gıda Kodeksi, Gıdalarda kurşun, kadmiyum, civa, inorganik kalay, 3-monokloropropan 1,2-diol ve polisiklik aromatik hidrokarbon seviyelerinin resmi kontrolü için numune alma, numune hazırlama ve analiz metodu kriterleri tebliği(2014/2).
- Abraham K., Appel K., Berger-Preiss E., Apel E., Gerlin S., Mielke H., Creutzenberg O. and Lampen A.**, 2012, Relative oral bioavailability of 3-MCPD from 3-MCPD fatty acid esters in rats, Arch Toxicol (2013) 87:649–659

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Appel K., Abraham K., Berger-Preiss E., Hansen T., Apel E., Schuchardt S., Vogt C., Bakhiya N., Creutzenberg O. and Lampen A.,** 2013, Relative oral bioavailability of glycidol from glycidyl fatty acid esters in rats, Arch Toxicol (2013) 87:1649–1659
- Calta P., Velisek J., Dolezal M., Hasnip S., Crews C., Reblova Z.,** 2004, Formation of 3-chloropropane-1,2-diol in systems simulating processed foods, European Food Research and Technology, 218:501–506 pp.
- Dolezal M., Chaloupska M., Divinova V., Svejtkovska B., Velisek J.,** 2005, Occurrence of 3-chloropropane-1,2 diol and its esters in coffee, Eur Food Res. Technol, 221-225 pp.
- Franke K., Strijowski U., Fleck G., Pudiel F.,** 2009, Influence of chemical refining process and oil type on bound 3-chloro-1,2-propanediol contents in palm oil and rapeseed oil, Food Science and Technology 42, 1751–1754 pp.
- Gümüşkesen A. S. ve Yemişcioğlu F.,** 2010, Bitkisel Sıvı ve Katı Yağ Üretim Teknolojisi, Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Meta Basım Matbaası, İzmir. 224 s.
- Hamlet, C. G., Sadd, P. A., Crews, C., Velisek, J., Baxter, D. E.,** 2002, 3 Monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) in food ingredients from UK food producers and ingredient suppliers. Food Addit. Contam. 19, 15–21 pp.
- Hamlet, C. G. and Sadd, P. A.,** 2004, Chloropropanols and their esters in baked cereal products. Czech. J. Food Sci. 22, 259–262 pp.
- Hamlet C.G., Asuncion L., Velisek J., Dolezal M., Zelinkova Z., Crews C.,** 2011, Formation and occurrence of esters of 3-chloropropane-1,2-diol (3-CPD) in foods: What we know and what we assume, Eur. J. LipidSci. Technol. 113, 279–303 pp.
- Kayahan M.,** 2005, Yemeklik Yağ Rafinasyon Teknolojisi , TMMOB Gıda Mühendisleri Odası, Ankara.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kayahan M.**, 2008, Yağ Kimyası , TMMOB Gıda Mühendisleri Odası, Ankara, 248 s.
- Kuhlman J.**, 2011, Determination of bound 2,3-epoxy-1-propanol (glycidol) and bound monochloropropanediol (MCPD) in refined oils, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 113, 335-344 pp.
- Matthaus B., Pudel F., Fehling P., Vosmann K., and Freudenstein A.**, 2011, Strategies for the reduction of 3-MCPD esters and related compounds in vegetable oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 113, 380–386 pp.
- Pudel F., Benecke P., Fehling P., Freudenstein A., Matthaus B., Schwaf A.**, 2011, On the necessity of edible oil refining and possible sources of 3-MCPD and glycidyl esters, *Eur. J. LipidSci. Technol.*, 113, 368–373 pp.
- Seefelder, W., Varga, N., Studer, A., Williamson, G., Scanlan, F. P., Stadler, R. H.**, 2008, Esters of 3-chloro-1,2-propanediol (3-MCPD) in vegetable oils: significance in the formation of 3-MCPD, *Food Additives and Contaminants*, 25, 391-400 pp.
- Sunahara G., Perrin I., and Marchessini M.**, 1993, Carcinogenicity study on 3-monochloropropane 1,2,-diol (3-MCPD) administered in drinking water to Fischer 344 rats. Report No RE-SR93003 Nestec Ltd, Research and Development Switzerland.
- Velisek, J., Davidek, J., Hajslova, J., Kubelka, V.**, 1978, Chlorohydrins in protein hydrolysates, *Z. Lebensm, Unters. Forsch.* 167: 241–244 pp.
- Weisshaar, R.**, 2008. Determination of total 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) in edible oils by cleavage of MCPD esters with sodium methoxide. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 110, 183–186 pp.
- Weisshaar, R.**, 2009, Fatty acid esters of 3-MCPD: overview of occurrence in different types of foods. 3-MCPD Esters in Food Products. Brussels: ILSI Europe

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Weisshaar, R. and Perz, R.,** 2010, Fatty acid esters of glycidol in refined edible oils, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 112, 158–165 pp.
- Zelinkova Z., Svejkovska B., Velisek J., Dolezal M.,** 2006, Fatty acid esters of 3-chloropropane-1,2-diol in edible oils. *Food Addit. Contam.* 23, 1290–1298 pp.
- Zelinkova, Z., Dolezal, M., Velisek, J.,** 2009, 3-Chloropropane-1,2-diol fatty acid esters in potato products, *Czech. J. FoodSci.*, 27: 421–424 pp.

ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında İzmir’de doğan Manolya KARABULUT ilk, orta ve lise eğitimini İzmir’de tamamlamıştır. Lisans eğitimine 1996 yılında Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünde başlayıp 2000 yılında tamamlamıştır. 2000-2004 yılları arasında özel bir şirkette Gıda Mühendisi olarak çalışmıştır. 2004 yılında Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı’na Gıda Mühendisi olarak atanmıştır ve halen İzmir Gıda Kontrol Laboratuvarı’nda çalışmaya devam etmektedir.