

Gıdalarda 3-Monokloropropan-1,2-Diol (3-MCPD) ve Esterlerinin Varlığı, Oluşum Mekanizmaları ve Tespit Yöntemleri

Pelin Günç Ergönül¹, Tuba Göldeli

Celal Bayar Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Muradiye Kampusu, 45140, Manisa

Geliş Tarihi (Received): 17.02.2013, Kabul Tarihi (Accepted): 14.05.2013

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): pegin.ergonul@cbu.edu.tr (P. Günç Ergönül)

☎ 0 236 241 21 44 📠 0 236 241 21 43

ÖZET

Potansiyel karsinojen olan 3-monokloropropan-1,2-diol (3-MCPD) bileşiği gıda veya gıda işlem kaynaklı kontaminant olarak adlandırılmaktadır. İlk olarak, asitle hidrolize olmuş bitkisel proteinlerde (soya sosu, sebze proteinleri) tespit edilmiştir. Daha sonraki yıllarda farklı gıdalarda da 3-MCPD ve esterlerinin varlığının tespit edilmesiyle bu bileşiklere olan ilgi artmaya başlamıştır. 3-MCPD ve esterleri ısı işlem esnasında, yağ içeren gıdalarda gliserol veya açilgliserollerin hidroklorik asit ile reaksiyonu sonucu oluşmaktadır. Birçok gıdada varlığı tespit edilen 3-MCPD, gıdalarda yağ açıl esterleri şeklinde bulunur. Kloropropanollerin en önemli çıkış maddeleri sırasıyla trigliseritler, fosfolipitler ve gliserol olarak gösterilmiştir. 3-MCPD esterlerinin oluşumu işlenmiş gıdaların çeşitliliğinin bir karakteristiğidir. Yapılan çalışmalarda, özellikle yüksek ısısal işlem görmüş gıdalardaki miktarları oldukça fazla bulunmuştur. Avrupa Komisyonu tarafından günlük alınması gereken kabul edilebilir maksimum miktar ise vücut ağırlığı başına 2 µg/kg olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: 3-MCPD, Gıda ürünleri, Kontaminant

Presence of 3-Monochloropropane-1,2-Diol (3-MCPD) and their Esters in Foods, Mechanisms of their Occurrence and Detection Methods

ABSTRACT

The 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) which has a carcinogenic potential, is named as a contaminant originated food or synthesized during food processing. It has been firstly determined in acid-hydrolyzed plant proteins (soy sauce, vegetable proteins). In recent years, detection of 3-Mcpd esters in different foods has prompted further interest in these compounds. 3-Mcpd and its esters can be formed in fat containing foods during thermal processes as a result of reactions between glycerol or acylglycerides with hydrochloric acid. Most of the 3-Mcpd compounds found in foods are present as fatty acyl esters. The most important precursors of chloropropanols are known as tryglycerides, phospholipids and glycerol respectively. The formation of 3-Mcpd esters is a characteristic of the variety of processed foods. In recent studies, amounts of these compounds found very high in thermal processed foods. So, maximum daily intake of these compounds were limited to 2 µg/kg body weight by the European Food Safety Authority (EFSA).

Key Words: Contaminant, Food product, 3-MCPD

GİRİŞ

3-MCPD kimyasal kontaminantlar olarak bilinen kloropropanoller grubunda yer alır [1]. Gıdalarda serbest

(diol) ya da ester formda oluşabilmektedirler [2]. En yaygın olarak bulunan kloropropanoller arasında 3-MCPD ile birlikte 1,3-dikloropropan-2-ol (1,3-DCP) kloropropanolü de bulunmaktadır. 2-monokloropropan-

1,2-diol (2-MCPD) ve 2,3-dikloropropan-1-ol (2,3-DCP) izomerleri genelde çok düşük miktarlarda bulunurlar ya da hiç bulunmazlar [3]. İlk olarak 1978 yılında, birçok gıdada aroma maddesi olarak kullanılan, asit hidrolizli bitkisel proteinlerde yüksek miktarlarda tespit edilmişlerdir [2, 4]. İnsanlar gıdaları işlemeye başladığından beri 3-MCPD gıdalarda bulunmaktaydı [3]. Ancak son yıllarda bitkisel proteinlerin yanı sıra bitkisel yağlar ve bebek mamaları ile et, süt, tahıl ürünleri, malt ürünleri, kahve, kızarmış peynir, bisküvi, tütülenmiş gıdalar gibi çeşitli ısı işlem görmüş gıdalarda da yüksek miktarlarda tespit edilmesiyle birlikte ve kanserojen etkisinden dolayı bu bileşenlere olan ilgiyi daha da artmaya başlamıştır [3, 5, 6].

3-MCPD ve esterlerinin oluşumunda etkili olan başlıca faktörler su ve proses esnasında kullanılan diğer materyallerden kaynaklanan klor iyonlarının varlığı, gliserol, tri-, di- ve monoçilgliseritlerin varlığıyla birlikte sıcaklık ve süredir. Özellikle yağdaki mono ve diçilgliserollerin miktarındaki artışın, 3-MCPD esterlerinin artmasıyla lineer korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir [7-9]. Hidroklorik asit ile muamele edilen triçilgliserollerden gliserolün serbest kalmasıyla ortaya çıktıkları bilinmektedir [9]. Triçilgliserol ve fosfolipitlerin sulu hidroklorik asit ile muamelesi sonucunda da monokloropropan diol oluşumunun gerçekleştiği Haines ve ark. [9] tarafından bildirilmiştir.

Mart 2001'de Avrupa Komisyonu, hidrolize sebze proteini (HVP) ve soya sosundaki 3-MCPD seviyesine Nisan 2002'de yürürlüğe giren yönetmelikle sınırlama getirmiştir. 19 Aralık 2006'da Komisyon Yönetmeliği tolere edilebilir günlük alım miktarını vücut ağırlığı başına 2 µg/kg olarak belirlemiştir. Gıda ürünlerindeki maksimum düzey (özellikle HVP ve soya sosunda) ise 20 µg/kg olarak düzenlenmiştir. Diğer kloropropanoller için Avrupa Birliği yönetmeliği yoktur. 1,3-DCP için genel düzenleme, seviyesinin mümkün olabildiğince düşük tutulması gerektirir [3].

Bu derlemede son yıllarda farklı gıdalardaki varlığıyla dikkat çeken 3-Mcpd ve esterlerinin oluşum mekanizması ve oluşumunu etkileyen faktörler, yapısal özellikleri, tespit yöntemleri ve sağlık üzerine etkileri üzerinde durulmuştur.

FARKLI GIDA ÜRÜNLERİNDE 3-MCPD VE ESTERLERİNİN VARLIĞI

Bitkisel Yağlar

3-MCPD esterlerine ham veya rafine edilmemiş yağlarda rastlanmamakla birlikte tüm rafine bitkisel yağlarda rastlanmıştır. 3-MCPD esterleri çoğunlukla yemeklik katı ve sıvı yağların rafinasyonu sırasında özellikle deodorizasyon aşamasında yüksek sıcaklıkta meydana gelmektedir [10]. Rafinasyon esnasında oluşan glisidol esterleri 3-MCPD esterlerin metabolik yolunda prekürsör olarak rol oynamaktadırlar [7]. Ayrıca rafinasyon esnasında klorlu çeşme suyu kullanımı, taşıma, depolama, tohum ve yağların işlenmesi sırasında oluşabilecek muhtemel klor kontaminasyonu da 3-MCPD esterlerinin oluşumunda başlıca etkendir [11]. Razak ve ark. [12], degumming işlemi esnasında

yüksek dozda asit kullanımı ile ağartmada yüksek pH'lı ağartma toprağı kullanımının da 3-MCPD esterlerinin oluşumunu etkilediğini bildirmişlerdir. Bunlara ilaveten gübreleme, hasat, iklim ve coğrafik koşullarda muhtemel kontaminasyon için göz ardı edilmemelidir [10]. Bu sebeplerle farklı orijindeki ya da aynı tipteki yağların 3-MCPD ester miktarları arasında büyük farklılıklar oluşabilmektedir [7].

Franke ve ark. [13] yaptıkları çalışmada 200°C üstündeki deodorizasyon sıcaklığının palm ve kanola yağlarında 3-MCPD miktarını etkilediğini bulmuşlardır. Kanola yağı palm yağı ile kıyaslandığında daha düşük seviyede 3-MCPD esterleri oluşturduğu belirlenmiştir. Bunun sebebi kanola yağının prekürsör olarak görev yapan klor ve digliseritleri palm yağında göre daha az içermesidir.

Zelinkova ve ark. [5] ise yaptıkları çalışmada, bazı bitkisel yağlarda <0.1 mg/kg'dan 2.46 mg/kg'a kadar değişen konsantrasyonlarda 3-MCPD esterlerine rastlamışlardır. En yüksek değeri rafine edilmiş pirina zeytinyağında tespit etmişlerdir.

Razak ve ark. [12] farklı yağlarda 3-MCPD ester seviyelerini belirlemiştir. En yüksek değer pirina zeytinyağı, palm olein ve palm olein, fındık, susam yağı karışımlarında (1.65-2.45 mg/kg), en düşük değer ise soya yağı, mısırözü yağı, pirinç kepeği yağı ve sızma zeytinyağlarında (<0.25-0.35 mg/kg) bulunmuştur. Kanola ve ayçiçeği yağlarında ise orta seviyede (0.6 mg/kg) tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında, taze meyveden yağ ekstraksiyon işlemi, meyve kalitesi, klorür içerikleri ve rafinasyon etkeni 3-MCPD esterlerinin oluşumunda önemli faktörlerdir.

Franke ve ark. [13] tarafından önerilen, rafine yağlarda 3-MCPD ester oluşumunu azaltmanın yolu deodorizasyon sıcaklığını ve süresini, pestisitler gibi istenmeyen maddelerin oluşumunu engelleyecek düzeyde optimize etmektir.

Tahıl Ürünleri (Ekmek, Bisküviler)

Mayalı hamurda, pişirme işlemi sırasında 3-MCPD oluşturmak için birbirleriyle reaksiyona giren öncül bileşikle klor iyonları ve gliseroldür. Ticari ekmek hamurlarında oluşan 3-MCPD bileşiklerinin %68'inden gliserol sorumludur. Deneme sırasında mayalar tarafından üretilebilirken un veya un düzenleyicilerden de kaynaklanabilmektedirler [3].

3-MCPD ekmek kabuğunda çok yüksek düzeylerde bulunabilmektedir (400µg/kg'a kadar) [3]. Kabuk kısmı pişirme işlemi sırasında çok yüksek sıcaklığa maruz kalan kısım olduğu için reaksiyon artışı söz konusudur. Ekmek kırıntısında kontaminant tespit edilmezken, bütün somundaki 3-MCPD içeriği makul düzeydeydi. Özellikle kızartılmış ekmek yüksek sıcaklığa maruz kaldığından dolayı, daha fazla 3-MCPD oluşmakta ve alınan miktar artmaktadır [14].

Breitling-Utzmann ve ark. [15] ekmeklere ilave edilen bazı katkı maddelerinin etkisini incelemişlerdir. Bu katkı

maddeleri; yağ, kabartma maddesi, ekşi hamur, emülgatörler, şeker ve mayadır. Kabartma maddesi ise, şeker, un, soya unu, kalsiyum sülfat, emülgatör (yenilebilir yağ asitlerinin mono ve diaçilgliseroller, E471), enzimler ve askorbik asitten oluşmaktadır. Tüm bu katkı maddeleri arasında, kabartma ajanlarının kullanımının çok büyük etkiye sahip olduğu görülmüştür ve yüksek düzeylerde 3-MCPD tespit edilmiştir. Kabartma ajanının çeşitli bileşenleri göz önüne alındığında, bu etki emülgatörlerce (ayrı ayrı test edilen) açıklanamazken, şeker içeriğinin 3-MCPD'nin oluşumu üzerinde güçlü bir etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Diğer katkı maddeleri ise sinerjistik etkilere sahiptir.

İngiltere'de gerçekleştirilen başka bir çalışmada, şekerin ve mayanın hamura eklendiği uygulamalarda, şeker içeriği mayada gliserol oluşumunu etkilemezken, pişirme sırasında meydana gelen 3-MCPD'nin düzeyini arttırdığı belirlenmiştir [16]. Diğer gözlem ise bir hafta önce üretilip depolanmış hamur örneğinin 3-MCPD miktarının, taze hazırlanmış hamurdaki 3-MCPD miktarına oranının 2 katı kadar olduğudur ancak bu durumun nedeni tam olarak açıklanamamıştır. Depolama süresinin hem öncüllerin konsantrasyonunu arttırdığı hem de 3-MCPD üretiminin potansiyel inhibitörlerini uzaklaştırdığı öne sürülmüştür. Ayrıca hamura mayanın eklenmesinin kontaminant üretimini önemli ölçüde arttırdığı ve mayayla birlikte bekletmenin daha fazla etkiye sahip olduğu bulunmuştur [16].

Hamlet ve ark. [17] yaptıkları başka bir çalışmada, undaki minör bileşenlerden olan fosfolipitlerin 3-MCPD oluşumu sırasında gliserolden daha iyi reaktiflik gösterdiğini bulmuşlardır. Sonuçta, askorbik asit, soya unu ve monoaçilgliserol kaynağını içeren fırın ürünlerindeki düzenleyicilerin, mayasız hamurdaki 3-MCPD oluşumunu desteklediğini bildirmişlerdir.

Beaz ekmekte yapılan analizlerde en yüksek 3-MCPD miktarına kabukta (547 µg/kg) ve kızarmış ekmek diliminde (160 µg/kg) rastlanmıştır. Buna karşın ekmek içinde oldukça düşük bulunmuştur (26 µg/kg). Serbest 3-MCPD miktarları ise sırasıyla; 477 µg/kg, 93 µg/kg ve 0.5 µg/kg olarak tespit edilmiştir. Ayrıca serbest 3-MCPD bileşiklerinin ticari lipaz hidrolizi aracılığıyla esterlerinden oluştuğu da gösterilmiştir [5].

Malt Ürünleri

Bu ürünler, renklendirme ve tatlandırma amacıyla kullanılan malt ekstraktları, malt unları ve gıdada kullanılabilir malt taneleridir. 3-MCPD, 170°C 'nin üzerindeki sıcaklıklarda maltsız arpa ve maltın kuru fırınlanması sonucu meydana gelmektedir. Bu oluşum kaçınılmaz gibi görünmesine rağmen, düzeyi düşük olduğu sürece önem teşkil etmemektedir. Mayalanma için kullanıldığında ise seyreltilmiş olacak, miktar azalacaktır. Tanenin endojen bileşenlerinin 3-MCPD sentezini destekler nitelikte olduğu da görülmüştür [3].

Yapılan çalışmalarda, soluk maya maltı ve malt ununda düşük düzeylerde 3-MCPD saptanırken, koyu maya maltında yüksek düzeylerde (247µg/kg) saptanmıştır [14]. Son ürün fazlasıyla seyreltilmesine rağmen 3-

MCPD, asitler, aldehitler veya alkol gibi birada bulunan diğer bileşenlere bağlı olarak bulunabilmektedir. 3-MCPD esterlerinin miktarının 3-MCPD'ye göre daha yüksek olduğu görülmüştür [18].

Bebek Mamaları

Bebek mamalarının içeriği, aromasının, raf ömrünün ve dayanıklılığının artırılması amacıyla sürekli olarak modifiye edilmektedir. Üretimde kullanılan rafine bitkisel yağlardan ve katkı maddelerinden kaynaklı 3-MCPD bileşiklerine bebek mamalarında da rastlanmıştır. Zelinkova ve ark. [19] farklı marka bebek mamalarında 3-MCPD içeriklerinin tespiti üzerine yaptıkları çalışmada, bebek mamalarının 62-588 µg/kg arasında 3-MCPD bağı içerdiklerini tespit etmişlerdir. Fakat 1,3-DCP bileşiklerine ve serbest 3-MCPD'ye rastlanmamıştır.

Kahve

Kahve, düşük düzeylerde 3-MCPD içerebilir. Kavrulmuş kahvede bulunur ancak en fazla uzun süre kavrulmuş ürünlerde ve instant kahvede vardır. Kahve çekirdeğinin son rengi, 3-MCPD oluşumu ve yüksek konsantrasyonlu koyu çekirdek ile doğrudan bağlantılıdır. Kahve çekirdeğinde doğal olarak bulunan lipid ve tuzdaki klor, kavurma işlemi sırasında oluşan 3-MCPD'den sorumludur. Bununla birlikte suyla seyreltme olduğu için kahve içeceğinde 3-MCPD bileşiklerine rastlanmamıştır [18, 20].

Peynir

3-MCPD peynirde düşük miktarlarda meydana gelebilmektedir. Özellikle eritilmiş ve kızarmış peynirde bulunmaktadır [3]. Crews ve ark. [21] yaptıkları tüm çalışmalarda ızgaranın peynir örneklerinde 3-MCPD oluşumuna sebep olduğunu, mikrodalga ısıtmanın ise yalnızca Parmesan peynirinde 3-MCPD düzeyinde artışa sebep olduğunu bulmuşlardır.

Tütsülenmiş Gıdalar

Kontaminant, Almanya'da tütsülenmiş et üzerine yapılan çalışmalarda oldukça yüksek düzeyde tespit edilmiştir. 3-MCPD düzeyinin, tütsüleme için kullanılan odunun tipi ve tütsüleme süresine bağlı olduğu görülmüştür [22]. Aynı enstitüden araştırmacılar, üretim işleminin farklı aşamalarındaki tütsülenmiş sosis örneklerini ve onun ingredientlerini analiz etmişlerdir. Tütsüleme işlemi düşük sıcaklıkta (28°C) gerçekleştirilmiştir. Tütsünün kendisinde ve örnek yüzeyinde 3-MCPD miktarının oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir [23].

Tütsü yapmak için kullanılan pelletler hiç 3-MCPD içermezken, denemeler tütsümeden önce pelletlere %20 oranında kalsiyum karbonat eklemenin tütsüdeki 3-MCPD oluşumunu önemli ölçüde azalttığını [23].

İngiltere'de yapılan benzer bir çalışmada, tütsülenmiş gıda, hazır peynir, pişmiş et vb. ürünlerde kontaminanta rastlanmış düzeylerinin Almanya'da yapılan çalışmadaki kadar yüksek olmadığı görülmüştür. Bu durum farklı

tütsü hazırlama teknikleriyle açıklanmış ve bunun doğruluğu kanıtlanmıştır [3].

Çiroz olarak adlandırılan tütsülenmiş tuzlu balıkta 3-MCPD içeriğinin tütsüleme süresi ve işlemde kullanılan salamuranın tuz içeriğiyle yükseldiği görülmüştür. Salamuraya daldırarak yapılan kürelemede kullanılan salamuranın tuz içeriğinin 3-MCPD oluşumu üzerine önemli etkiye sahip olduğu bildirilmiştir [3].

Et Ürünleri

3-MCPD, salam, domuz pastırması, hamburger eti gibi pişmiş etlerde bulunabilir. Fakat et pişirme işleminin kloropropandiol oluşumu üzerine etkisi bilinmemekte ve gliserol gibi öncül maddelerle doğrudan bir ilgisinin bulunmadığı ileri sürülmüştür. Pişirme bazen 3-MCPD oluşumunu desteklemekte bazen de hiçbir etki göstermemektedir [3]. Crews ve ark. [21] yaptıkları çalışmada, 3-MCPD bileşiklerinin 100°C'nin üzerinde bir sıcaklığa ve su içinde pişirme işlemine ihtiyaç duyan kaynamış veya güveç ette oluşmadığını bulmuşlardır. Diğer açıklama ise, kontaminantın salam tabakasındaki epiklorhidriden kaynaklanmış olabileceğidir. Daha da ötesi salam yüksek düzeyde 3-MCPD esterlerini içerebilmektedir [24].

Tuzlanmış Balık

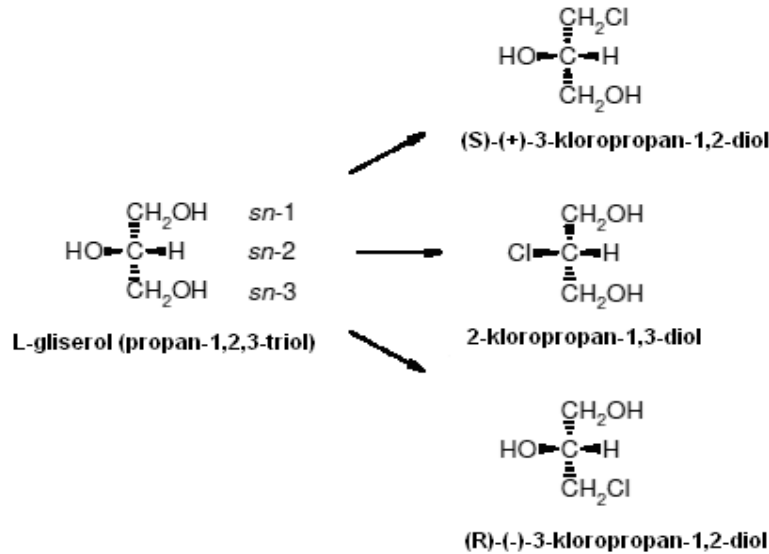
3-MCPD kontaminantına zeytinyağında bekletilen ançuezde de rastlanmıştır [3]. Ancak Reece [25] yaptığı çalışmada, kontaminantın tuzla olgunlaşma sırasında değil paketlenme ve depolama sırasında oluştuğunu ortaya çıkarmıştır.

Ançuez filelerinde 3-MCPD bileşiklerinin oluşum mekanizması bilinmemekte birlikte, enzimlerin yağlar üzerine olan etkinliğinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bu etkileşim, daha sonraları klor iyonlarıyla reaksiyona giren gliserol bağlı öncül maddeleri serbest bırakabilir. Diğer yandan kloresterler, hidrolizden sonra 3-MCPD'yi oluşturan klor ile yağların etkileşiminden oluşabilir. Oluşumun tam mekanizması ne olursa olsun, bu tip yağ/enzim bağlı reaksiyon oldukça yaygın olarak görülmektedir. Ancak şimdiye kadar bu konuyla ilgili pek literatüre rastlanmamıştır [3].

3-MCPD ve ESTERLERİNİN KİMYASAL YAPISI ve OLUŞUM MEKANİZMASI

Kimyasal Yapı

Temel molekül gliserolün bir hidroksil grubu klor atomlarıyla yer değiştirdiğinde 3-MCPD gliserolklorhidrin olarak adlandırılır. Tek pozisyonlu izomer 2-MCPD ve prokiral gliserol molekülü üzerindeki 1 veya 3 numaralı karbon atomlarındaki Cl ile OH'ın yer değiştirmesinden meydana gelen 3-MCPD bileşiği Şekil 1'de gösterilmiştir [1].



Şekil 1. Fischer projeksiyon yöntemine göre gösterilen monokloropropandiol izomerleri [1].

3-MCPD'nin her bir enantiyomerinin farklı biyolojik aktivite gösterdiği yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. (S) izomeri doğurganlığı önleyici aktiviteye, (R) izomeri böbrekler üzerinde zararlı etkiye sahiptir [1].

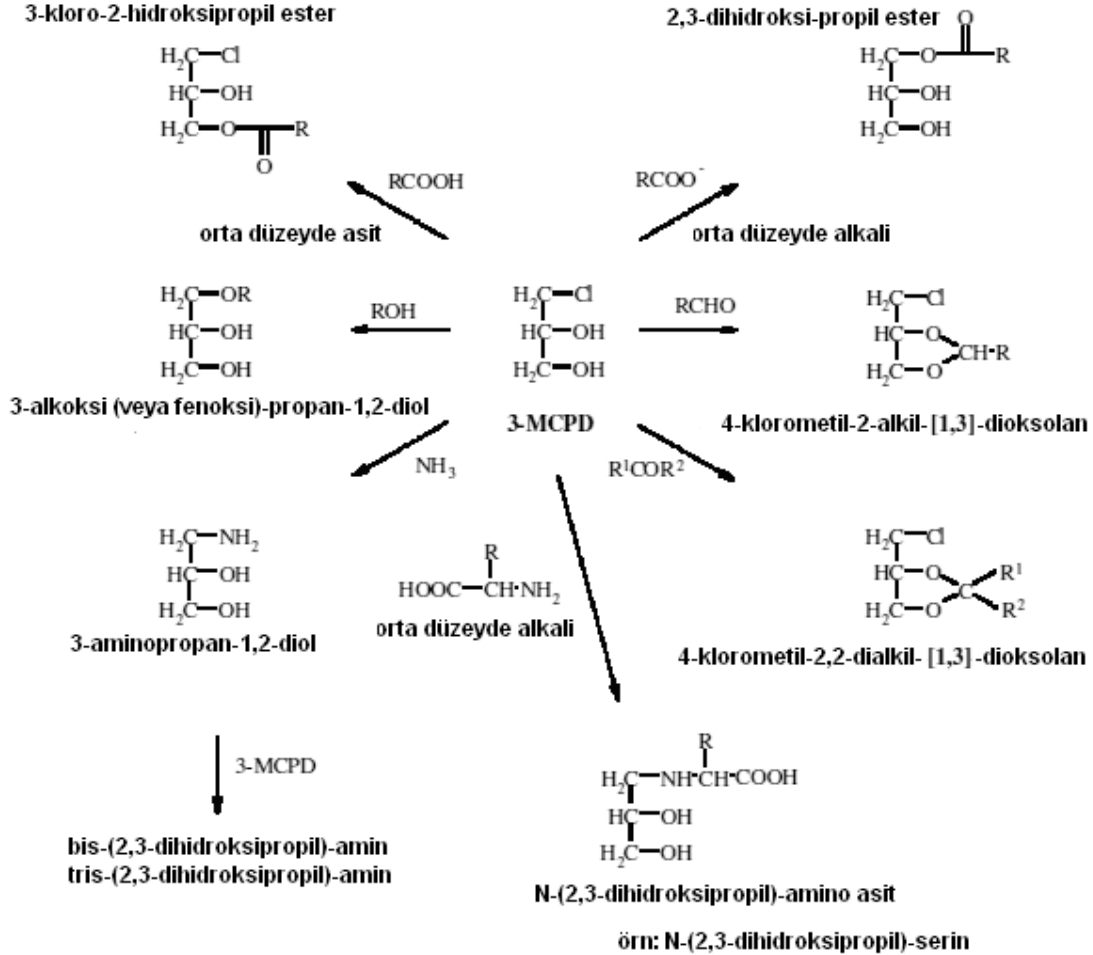
Fiziksel Özellikler

3-MCPD renksiz, hoş kokulu, hafif yağlı bir sıvıdır. 3-MCPD 213°C'de kaynar, yoğunluğu 1,3204g/cm³ (20°C), etanol ve suda kolaylıkla çözünür [1].

Reaksiyonlar

3-MCPD alkol ve alkil klorün her ikisiyle de karakteristik reaksiyona girmekte ve asitler, alkoller, aldehitler, amonyak, amino bileşikleri ve tiollerle kolayca reaksiyon

vermektedir [1]. Bunların bazıları Şekil 2'de özetlenmiştir.



Şekil 2. 3-MCPD'nin tipik reaksiyonları [1].

Oluşum mekanizması

3-MCPD; asit hidrolizi, ısı işlemleri ve 3-MCPD esterleri olmak üzere üç yolla oluşabilmektedir [3].

Asit Hidrolizi

Ticari olarak, NaOH ile nötralizasyonun ardından 4-24 saat aralığında 100-130°C'de 4-6M HCl kullanılarak gerçekleştirilir. 3-MCPD, yemeklik yağlarla asidin reaksiyonu sırasında şekillenir. Hammaddedeki HCl, triağılgliceroller, fosfolipitler ve gliserol, kloropropanollerin öncül maddeleridir. HVP üretimi sırasında, HCl ve gliserolden klorhidrinlerin oluşumu ilk olarak Velisek ve ark. [26] ile Davidek ve ark. [27] tarafından ileri sürülmüş ve doğrulanmıştır. Fakat daha sonraları Hamlet ve ark. [1], asidik şartlar altında triağılglicerollerden kloropropanollerin ısı ile uyarılmasını açıklayan bir mekanizma önermişlerdir. Bu mekanizmadaki önemli basamak, komşu eter gruplarının aktif konuma getirilen klor iyonlarıyla açıl gruplarının nükleofilik yer değiştirmesini içermektedir.

Sonuçta oluşan ara ürün, hidrolitik şartlar altında kloropropanollerini veren kloropropan diesterdir [3].

Isıl İşlem

3-MCPD, HVP proteinlerinin yokluğunda da oluşabilmektedir. Izgara ve fırınlama gibi pişirme prosesleri ve normal üretim sırasında sodyum klorür (doğal olarak bulunan veya eklenmiş) ve lipitlerden oluştuğu ortaya çıkarılmıştır. Trigliseritlerin yüksek sıcaklıktaki hidroliziyle açığa çıkan serbest gliserol de mevcut klor ile tepkime verebilmektedir [3].

Öncü madde olan gliserol ile 3-MCPD üretimi, %30'a kadar nem içeriğiyle artar ancak daha yüksek nem düzeyinde azalır. Bundan başka, yapılan çalışmalarda su içermeyen örneklerde de gliserolün 3-MCPD üretimi mümkün olabilmektedir [17].

Bu nedenle gliserol düşük nem içerikli gıdalarda, yüksek nem içerikli gıdalarda ise lesitin öncül madde olarak görünmektedir. Yapılan çalışmalar 3-MCPD üretiminin

160C'ye kadar artan sıcaklıklarla birlikte arttığını göstermiştir. Sıcaklık ve nemin yanısıra 3-MCPD üretimi pH'dan da önemli düzeyde etkilendir ve pH 6 üzerinde stabil değildir [3].

Esterler

Kontaminant, lipaz tarafından katalize edilmiş hidrolize 3-MCPD esterlerinden canlı içerisinde ortaya çıkabilmektedir. Yapılan çalışmalar, ekmek pişirme işlemi sırasında fırın ölçekli lipazla muamele edildiği zaman önemli ölçüde 3-MCPD oluştuğunu göstermiştir [22]. Aynı zamanda hidrolitik enzimler kloropropanol oluşumunda doğrudan yer almaktadır. Lipazı kapsayan model çalışmalarında; 3-MCPD oluşumunun yemelik sıvı ve katı yağlar, su ve sodyum klorür karışımlarındaki lipaz aktivitesiyle orantılı olduğu gösterilmiştir [3].

Tuz ve katı yağ içeren kurutulmuş hoş kokulu gıdalardaki bazı ingredientlerin lipaz aktivitesi, depolama ve işleme süresinden sonra istenmeyen kontaminantların oluşumunu yansıması açısından kontrol edilmelidir [3].

TOKSİKOLOJİK VERİLER

3-MCPD bileşiğinin toksik olduğuna dair şu ana kadar elde edilen veriler yeterli olmamakla birlikte gıdalarda muhtemel risk faktörüdür. Bu kapsamda yapılan çalışmalar çok çeşitlidir. 3-MCPD bileşiği farelere düzenli olarak yüksek dozlarda verildiğinde, doğurganlık, böbrek işleyişi ve vücut ağırlığını etkilediği görülmüştür. Ayrıca kontaminantın canlı içinde önemli düzeyde genotoksik etkisi olmadığı rapor edilmiştir [24]. Çalışmalar, 3-MCPD bileşiğinin farelere uzun süreli yüksek dozlarda verilmesinin karsinojenik etki yaptığını göstermiştir. Bununla birlikte, Lynch ve ark. [28] toksikolojik ve metabolik değerlendirmeleri sonucunda farelerde oluşan tümörün genotoksik olmayan mekanizma sonucu meydana geldiğini bildirmişlerdir.

3-MCPD'ye karşı, 1,3-DCP genetik materyalin direkt olarak zarar görmesiyle kansere yol açan genotoksik karsinojen olarak kabul edilmektedir. WHO/FAO Komitesi, farelerde farklı organlarda çeşitli tümörleri tetikleyen ve in vitro olarak genotoksik etki gösteren 1,3-DCP'nin hepatotoksik (kimyasal yolla oluşan karaciğer hasarı) olduğu sonucuna varmışlardır. Ayrıca Mutajenite Komitesi kontaminantın canlı içinde genotoksik olmadığını rapor etmiştir. Farelerde tümör oluşumuna neden olan günlük dozun (19 mg/kg) tüketicilerin soya sosundan aldıkları en yüksek 1,3-dikloro-2-propanol miktarından (1 µg/kg) 20.000 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir [3].

Yapılan bir çalışmada, 10 erkek ve 10 dişi Sprague-Dawley faresinin nörodavranışsal etkilerini araştırmak amacıyla 11 hafta boyunca günde 1, 10, 20 veya 30 mg/kg vücut ağırlığı dozda 3-MCPD ağız yoluyla verilmiştir. Yüksek dozlar erkeklerde vücut ağırlığını önemli ölçüde azaltmasına rağmen, tuz alan kontrol fareleriyle karşılaştırıldığında 1, 3, 5, 7, 9 veya 11 haftada uygulamadaki farelerde, ön ayakların gücü, ayak iniş yayvanlığı ve motor aktivite test sonuçlarında

önemli etki gözlenmemiştir. Bu sonuçlar, kullanılan 3-MCPD dozlarında nöromotor bozukluklar üretmediğini göstermiştir [29].

Bakteri ve memeli hüresi ile yapılan mutajenik çalışmalar, 1,3-DCP bileşiğinin yapay ortamda mutajenik olduğunu göstermiştir. Hahn ve ark. [30] 1,3-DCP bileşiğinin in-vitro genotoksitesinin epiklorhidrinin kimyasal oluşumuna bağlı olduğunu savunmuşlardır. 2,3-DCP bileşiğinin absorpsiyonu, yayılması ve atılımına ilişkin oldukça az veri bulunmaktadır. Teorik olarak 2,3-DCP epiklorhidrin ve sonradan da glisidol oluşturmak üzere metabolize olur ve dolayısıyla genotoksik ve karsinojenik açıdan yapısal olarak tehlike oluşturmaktadır [31].

3-MCPD BİLEŞİKLERİNİN TESPİT YÖNTEMLERİ

Tüketicilerin maruz kaldıkları durumları belirlemek amacıyla, gıdalardaki 3-MCPD, 2-MCPD ve glisidolün miktarlarını doğru veren analitik metotlara ihtiyaç duyulmaktadır. Çoğu metot, asit ve alkali içerisinde transesterifikasyon yoluyla 3-MCPD'lerin esterlerden ayrılmasını kapsamaktadır.

Son yıllardaki kütle spektrometrik yöntem ile belirleme analizin duyarlılığını arttırmıştır. Valide edilmiş GC/MS metodu, gıda ve gıda katkı maddelerindeki 3-MCPD'yi 0.010 mg/kg'e kadar düşük konsantrasyonlarda ölçme kapasitesine sahiptir ve AOAC (metod no 2000.01) tarafından ilk kontrol metodu olarak kabul edilmiştir. Bu metot, 3-MCPD'nin belirlenmesinde uzman olmayan araştırmacı tarafından uygulandığında bile elverişli sonuçlar vermiş ve çeşitli gıda ve gıda katkı maddelerinde uygulanabileceğini göstermiştir [21].

CSL (Merkezi Bilim Laboratuvarı) ve FDA aynı GC/MS şartlarında 3-MCPD ve 1,3-DCP'nin analizi ve ekstraksiyonuna izin veren tamamen kurum içi validasyon yöntemini geliştirmişlerdir [21, 32].

3-MCPD nispeten basit kimyasal bir yapıya sahip olmasına karşın, analizinin hassas bir şekilde yapılmasını zorlaştıran bazı karakteristiklere sahiptir. Bunlar uygun kromofor (renk veren), yüksek kaynama noktası ve düşük molekül ağırlığında olmasıdır. Bunlardan ilki kontaminantın tespit edilebilirliğini etkiler ve ultraviyole veya floresans ile HPLC uygulaması olumsuz sonuçlanır. Diğer iki etki GC ile analiz edilir ve MS ile belirlenir. Doğrudan GC analizi, düşük duyarlılık ve zayıf pik şekliyle sonuçlanarak, matristeki diğer maddelerle veya GC sistemin diğer bileşenleriyle istenmeyen etkileşimlere sebep olabileceğinden dolayı, düşük uçuculuk ve yüksek polariteye sahip 3-MCPD'nin türevlendirilmesi gerekir. MS ile belirleme, olası kirliliklerden dolayı fark edilmesi güç olan 3-MCPD'nin düşük molekül ağırlığından etkilendir. Bu nedenle GC ile 3-MCPD'nin analizi için bileşenin türevlendirilmesi ve ayarlanmış matrisle örnek hazırlanması gerekmektedir. Mevcut durumda, katı-faz ekstraksiyonu, türevlendirme ve ardından GC/MS analizine dayanan metotlar, 3-MCPD'nin µg/kg düzeylerinde tayinine olanak sağlamaktadır [1, 33].

Çözücü ekstraktların konsantrasyonunu zorlaştıran yüksek uçuculuğa sahip 1,3-DCP'nin analizi göz önüne alındığında analit kaybı gibi sınırlamalar ortaya çıkmaktadır. Üstelik çözücü ekstraktları GC analizi sırasında 1,3-DCP ile ayrılmayan diğer maddeleri içerdiğinden ve onu tanımlamak zor olduğundan elektron yakalama tespiti dikkatle değerlendirilmelidir [34]. Bu sebeple distile petrol eteri/etil asetat içerisinde ekstraksiyon, ardından buhar distilasyonu ve ardından da GC/ECD ile analiz prosedürü önerilmiştir [3].

Zelinkova ve ark. [5] 25 naturel ve rafine bitkisel yağda 3-MCPD miktarlarını tespit ettikleri çalışmada serbest 3-MCPD bileşiklerini belirlemek için sert bir kimyasal uygulaması yapmaksızın doğrudan ekstraksiyon işlemi kullanmışlar ve tespit seviyeleri çok düşük çıkmıştır. Ekstraksiyon ve kurutmadan sonra kalıntı, fenolboranik asit ile türevlendirilmiş ve 3-MCPD fenolboranat esterleri Divinova ve ark. [35]'nin verdikleri metoda göre analiz edilmiştir. 16 saatte 40°C'deki metanolde konsantre edilmiş sülfürik asidi kullanarak bağlı 3-MCPD'nin belirlenmesi için sert bir asit metanolizisi kullanmışlar ve tüm örneklerde bağlı 3-MCPD seviyesini yüksek bulmuşlardır.

Weißhaar [5] ile Zelinkova ve ark. [36] asit metanoliz prosedürüne klor eklendiğinde 3-MCPD değerlerinin hatalı olarak yüksek bulunduğunu ve metanolde sodyum metoksit kullanılarak katalize dayalı metanoliz prosedürünün daha düşük sonuçlar verdiğini tespit etmişlerdir.

Son zamanlarda, Federal Alman Risk Değerlendirme Enstitüsü'nün geliştirdiği asidik transesterifikasyona dayalı BfR Metod 008 ile alkali transesterifikasyonuna dayalı BfR Metod 009 yaygın olarak kullanılmaktadır [12].

SONUÇ

Farklı gıdalarda farklı işleme koşulları sonucu meydana gelen ve özellikle gıda katkı maddelerinde çok yüksek düzeylerde bulunan 3-MCPD kontaminantının oluşumunu engellemek çok güç olmakla birlikte işlem koşullarını modifiye ederek minimize etmek mümkün olabilir. Bu amaçla, gıdanın tuz içeriği ve maksimum proses sıcaklığının düşürülmesi, düşük su/yüksek sıcaklık uygulamalarından sakınılması, hazırlama ve depolama esnasında gıdada meydana gelen gliserol miktarının sınırlandırılması, lipaz ve esterazların inaktivasyonu, kısmi gliseridlerin katkı olarak kullanımından sakınılması, doğal baharat yerine baharat ekstraktının kullanılması ya da termal uygulama yoluyla mikrobiyal yükün azaltılması, katkı maddelerinin saflığından emin olunması, 3-MCPD ana öncülleriyle temas eden maddelerin gıdadan ayrılması, alınabilecek önlemler olarak sıralanabilir.

Sonuç olarak 3-MCPD esterlerinin hem kendilerinin toksik olma ihtimali hem de vücutta 3-MCPD'yi serbest hale getirmeleri sebebiyle bu bileşikler hususunda gündün güne tüketici sağlığına ilişkin artan kaygılar mevcuttur. Asıl endişe verici husus ise bu esterlerin gıda katkılarında çok yüksek düzeylerde bulunuyor olmasıdır.

Mevcut durum, bilgiler ve analitik yaklaşımlar ışığında bu bileşiklere ilişkin gelecekte daha fazla ve ayrıntılı çalışmalar yapılmasının önem taşıdığı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Hamlet, C.G., Sadd, P.A., Crews, C., Velisek, J., Baxter, D.E., 2002. Occurrence of 3-chloropropane-1, 2-diol (3-MCPD) and related compounds in foods: a review. *Food Addit. Contam.* 19(7):619-631.
- [2] 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 Addit Contam.* 25(4): 391-400.
- [3] Baer, I., de la Calle, B., Taylor, P., 2010. 3-MCPD in food other than soy sauce or hydrolyzed vegetable protein (HVP). *Anal. Bioanal. Chem.* 396:443-456.
- [4] Anon. 2012. Survey of 3-MCPD in foods. Joint Food Safety and Standards Group.
- [5] Zelinkova, Z., Svejtkovska, B., Velisek, J., Dolezal, M., 2006. Fatty acid esters of 3-chloropropane-1,2-diol in edible oils. *Food Addit. Contam.* 23:1290-1298.
- [6] Weißhaar, R., 2011. Fatty acid esters of 3-MCPD: Overview of occurrence and exposure estimates. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 113:304-308.
- [7] Larsen, J.C., 2009. Esters in Food Products. ILSI Europe Report Series. Summary Report of a Workshop held in February 2009 in Brussels, Belgium.
- [8] Anonymous, 2009. 3-MCPD Esters in Foods (from www.aocs.org).
- [9] Haines, T.D., Adlaf, K.J., Pierceall, R.M., Lee, I., Venkatasubramanian, P., Collison, M.W., 2011. Direct determination of MCPD fatty acid esters and glycidyl fatty acid esters in vegetable oils by LC-TOFMS. *J Am Oil Chem Soc* 88:1-14.
- [10] Pudiel, 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. Lipid Sci. Technol.* 113: 368-373.
- [11] Watkins, C., 2009. Chloroesters in foods: An emerging issue Inform Magazine of the AOCS, No. 4.
- [12] Razak, R.A.A., Kuntom, A., Siew, W.L., Ibrahim, N.A., Ramli, M.R., Hussein, R., Nesaretnam, K., 2012. Detection and monitoring of 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) esters in cooking oils. *Food Cont.* 25: 355-360.
- [13] 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. *LWT* 42: 1751-1754.
- [14] Breitling-Utzmann, C.M., Kobler, H., Harbolzheimer, D., Maier, A., 2003. 3-MCPD: occurrence in bread crust and various food groups as well as formation in toast. *Dtsch Lebensm Rundsch* 99(7): 280-285.
- [15] Breitling-Utzmann, C.M., Hrenn, H., Haase, N.U., Unbehend, G.M., 2005. Influence of dough ingredients on 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD)

- formation in toast. *Food Addit. Contam.* 22(2): 97-103.
- [16] Hamlet, C.G., Sadd, P.A., 2004. Effects of yeast stress and organic acids on chloropropanols formation in cereal products. *Czech J. Food Sci.* 22:255-258.
- [17] Hamlet, C.G., Sadd, P.A., Gray, D.A., 2004. Generation of monochloropropanediols (MCPDs) in model dough systems. 2. Unleavened doughs. *J. Agr. Food Chem.* 52(7): 2067-2072.
- [18] Divinova, V., Dolezal, M., Velisek, J., 2007. Free and bound 3-chloropropane-1,2-diol in coffee surrogates and malts. *Czech J. Food Sci.* 25(1): 39-47.
- [19] Zelinkova, Z., Dolezal, M., Velisek, J., 2009. 3-Chloropropane-1,2-diol fatty acid esters in potato products. *Czech J. Food Sci.* 27: 421-424.
- [20] Dolezal, M., Chaloupska, M., Divinova, V., Svejkovska, B., Velisek, J., 2005. Occurrence of 3-chloropropane-1,2-diol and its esters in coffee. *Eur. Food Res. Tech.* 221(3-4): 221-225.
- [21] Crews, C., Brereton, P., Davies, A., 2001. The effects of domestic cooking on the levels of 3-monochloropropanediol in foods. *Food Addit. Contam.* 18(4): 271-280.
- [22] FAO/WHO, 2007. Discussion paper on chloropropanols derived from the manufacture of acid-HVP and the heat processing of food. In: Proc 1st Session of Codex Committee on Contaminants in Foods, Beijing, China, 16-20 April 2007.
- [23] Kuntzer, J., Weibhaar, R., 2006. The smoking process: a potent source of 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) in meat products. *Dtsch Lebensm Rundsch* 102(9): 397-400.
- [24] FAO/WHO, 2006. Discussion paper on acid HVP containing products and other products containing chloropropanols. In: Proc Session 38 of Codex Committee on Food Additives and Contaminants, The Hague, The Netherlands, 24-28 Apr 2006.
- [25] Reece, 2005. The origin and formation of 3-MCPD in foods and food ingredients (final project report). Food Standards Agency, London.
- [26] Velisek, J., Davidek, J., Hajslova, J., Kubelka, V., Janicek, G., Mankova, B., 1978. Chlorohydrins in protein hydrolysates. *Z Lebensm Unters Forsch* 167(4): 241-244.
- [27] Davidek, J., Velisek, J., Kubelka, V., Janicek, G., Simicova, Z., 1980. Glycerol chlorohydrins and their esters as products of the hydrolysis of tripalmitin, tristearin and triolein with hydrochloric acid. *Z Lebensm Unters Forsch* 171(1): 14-17.
- [28] Lynch, B.S., Bryant, D.W., Hook, G.J., Nestmann, E.R., Munro, I.C., 1998. Carcinogenicity of monochloro-1,2-propanediol (α -chlorohydrin, 3-MCPD). *Int. J. Toxicol.* 17(1): 47-76.
- [29] Kim, K., Song, C., Park, Y., Koh, S., Kim, J., Kim, S., Kim, Y., Kim, S.U., Jung, H., 2004. 3-Monochloropropane-1,2-diol Does Not Cause Neurotoxicity in Vitro or Neurobehavioral Deficits in Rats. *Neuro.Toxicol.* 25(3): 377-385.
- [30] Hahn, H., Eder, E., Deininger, C., 1991. Genotoxicity of 1,3-dichloro-2-propanol in the SOS chromotests and in the Ames tests. Elucidation of the genotoxic mechanism. *Chem. Biol. Interactions* 80: 73-88.
- [31] Anon. 2006. Committee on the Carcinogenicity of chemicals in food, consumer products and the environment.
- [32] Nyman, P.J., Diachenko, G.W., Perfetti, G.A., 2003. Determination of 1,3-dichloropropanol in soy and related sauces by using gaschromatography/mass spectrometry. *Food Addit. Contam.* 20(10): 903-908.
- [33] Schlatter, J., Baars, A.J., Dinovi, M., Lawrie, S., Lorentzen, R., 2002. Safety evaluation of certain food additives and contaminants: 3-chloro-1, 2-propanediol. *WHO Food Addit. Ser.* 48: 1-30.
- [34] Wenzl, T., Lachenmeier, D.W., Gokmen, V., 2007. Analysis of heatinduced contaminants (acrylamide, chloropropanols and furan) in carbohydrate-rich food. *Anal. Bioanal. Chem.* 389(1): 119-137.
- [35] Divinova, V., Svejkovska, B., Dolezal, M., Velisek, J., 2004. Determination of free and bound 3-chloropropane-1,2-diol by gas chromatography with mass spectrometric detection using deuterated 3-chloropropane-1,2-diol as internal standard. *Czech J. Food Sci.* 22(5): 182-189.
- [36] Weibhaar, 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(2): 183-186.