




Gıdalarda Monokloropropandiol Esterlerinin Oluşumu ve Belirlenmesi

Semra Turan¹ , Rukiye Solak , Şule Keskin² 

Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Gölköy Kampüsü, Bolu

Geliş Tarihi (Received): 13.10.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 22.03.2018

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): turan_s@ibu.edu.tr (S. Turan)

☎ 0 374 254 10 00 📠 0 374 253 45 58

ÖZ

MCPD (monokloropropandiol) esterleri rafine yağlarda ve yağlı gıdalarda varlığı saptanan ısıl işlem kontaminantlarından biridir. Özellikle yağ ve tuz içeren ürünlerin yüksek sıcaklıklarda işlem görmesi sonucu oluşmaktadır. Diyetle alınan MCPD esterleri gastrointestinal sistemde trigliseritler gibi hidrolize uğrayarak serbest MCPD açığa çıkmaktadır. Serbest MCPD'nin kanserojen olduğu bilindiğinden ısıl işlem görmüş gıdalarda MCPD esterlerinin miktarlarının belirlenmesi önem taşımaktadır. Bu derlemede 3-MCPD esterleri ve benzer bileşiklerin oluşumu, toksisitesi, belirlenmesi ve miktarının azaltılmasına yönelik bilgiler verilmeye çalışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: 3-MCPD, 2-MCPD, Glisidol, Deodorizasyon, Isıl işlem

Formation and Determination of Monochloropropanediol Esters in Foods

ABSTRACT

MCPD (monochloropropanediol) esters are some of the heat treatment contaminants found in refined oils and oily foods. In particular, they occur due to the processing of products containing oil and salt at high temperatures. Dietary MCPD esters are hydrolyzed as triglycerides in gastrointestinal tract, and free MCPD is released. Since free MCPD is carcinogenic, it is important to determine the amounts of MCPD esters in heat-treated foods. In this review, information on the formation, toxicity, identification and reduction of 3-MCPD esters and similar compounds are provided.

Keywords: 3-MCPD, 2-MCPD, Glycidol, Deodorisation, Heat treatment

GİRİŞ

Gıda ürünlerinde raf ömrü veya depolama süresince mikrobiyal bozulmaları sınırlamak için uygulanan koruma yöntemlerinin başında ısıl işlemler gelmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar gıdaların ısıtılması sırasında akrilamid, furan ve kloropropanol türevleri gibi kansere neden olan bileşiklerin ortaya çıktığını göstermiştir. Bu maddeler, oluşumlarına yol açan temel etkenin ısı olması nedeniyle "ısıl işlem bulaşanları" olarak adlandırılmaktadırlar [1].

3-monokloro-1,2-propandiol (MCPD) esterleri veya klorlu propanoller ilk olarak Velisek ve ark. [2] ile

Davidek ve ark. [3] tarafından lezzet artırıcı olarak kullanılan bitkisel proteinlerde tespit edilmiştir. Bağlı ve serbest MCPD, asit hidrolizine uğratılmış protein hidrolizatlarının üretimi sırasında ortamda bulunan trigliseritlerin hidroklorik asit ile reaksiyonu sonucu oluşmaktadır. Daha sonra Zelinkova ve ark. [4] ise 3-MCPD esterlerinin özellikle rafine bitkisel yağlarda bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu bileşiklerin oluşumunda en önemli öncül maddenin klor iyonları olduğu belirtilmiştir. Rafinasyonun deodorizasyon aşamasında polar klorlu bileşiklerin klor kaynağı olduğu bulunmuştur. Diğer taraftan yağda çözünür formda olan organoklorlu bileşiklerin diğer öncül maddelerle birleşerek bu oluşumda etkili olduğu saptanmıştır [5, 6].

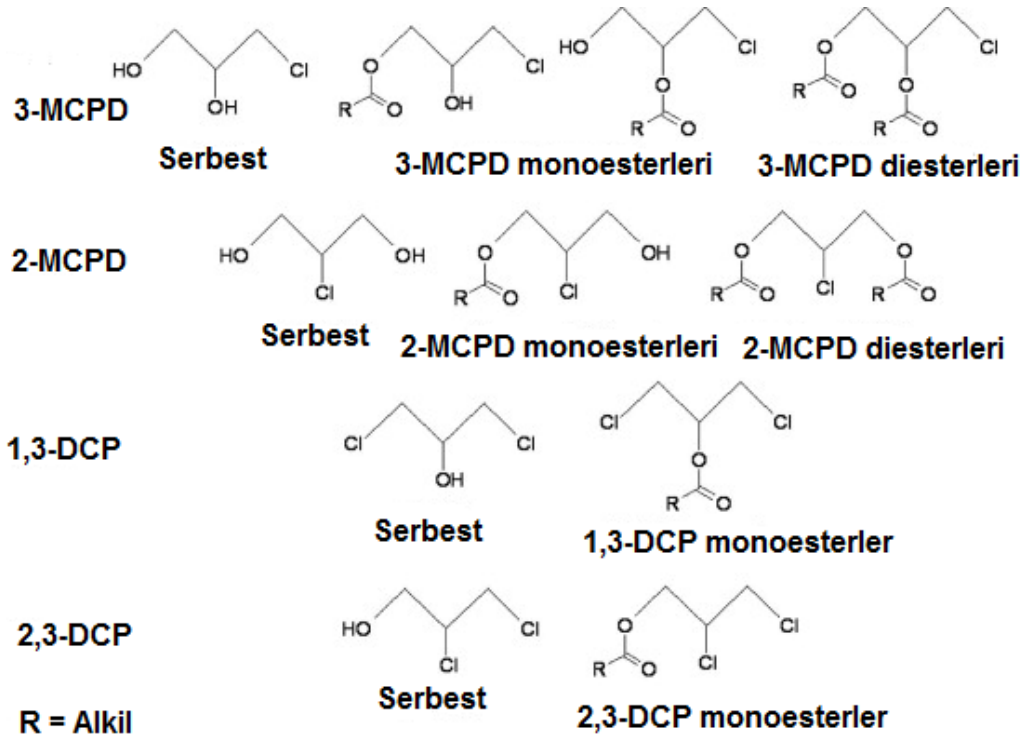
3-MCPD ve glisidil esterleri özellikle yağ içeren gıdalarda önemli bir proses kontaminanı olarak karşımıza çıkmaktadır. Son yıllarda 3-MCPD esterleri ile MCPD'den halojenin (HCl şeklinde) ayrılması ile oluşan glisidolün rafine sıvı ve katı yağlarda, yağ içeren gıdalarda, ısıl işleme maruz kalmış gıdalarda, hatta bebek mamalarında bulunduğu saptanmıştır [5, 7, 8].

3-MCPD'nin kanserojen olduğunun bilinmesi nedeniyle tespitine yönelik metotlar geliştirilmiş, gıda araştırmaları ve toksikolojik testler yapılmıştır. Gıda ürünlerindeki 3-MCPD miktarları belirlenerek azaltılmasına yönelik bazı yasal düzenlemeler yapılmıştır. 3-MCPD birçok gıda maddesinde olduğundan İngiltere Gıda Danışma Komitesi, endüstrinin gıdalarda ve gıda bileşenlerinde 3-MCPD miktarını mümkün olduğunca azaltmaya çalışması gerektiğini belirtmiştir. Yağlarda ve yağlı gıdalarda MCPD analizleri, transesterifikasyon ile serbest MCPD'nin oluşturulması ve gaz-sıvı kromatografisi ile analizine dayanmaktadır. Esterlerin doğrudan veya dolaylı yoldan analizine ilişkin çeşitli

metotlar geliştirilmiştir. Biyolojik sistemlerde MCPD esterleri ve glisidol esterlerinin metabolize edilmesi ve vücut dokularındaki tespiti ile ilgili de araştırmalar yapılmıştır [5, 9].

MCPD ESTERLERİNİN OLUŞUM MEKANİZMASI

Kloropropanol esterleri, kloropropanol iskeleti üzerinde yağ asitleri ile esterleşmiş hidroksil gruplarından oluşmaktadır (Şekil 1). Kloropropanoller yapıya bağlı olan klor atomu sayısına bağlı olarak mono- veya dikloropropanoller (DCP) şeklinde adlandırılmaktadır. Dikloropropanoller monoester formunda bulunurken, monokloropropanoller monoesterler ve diesterler halinde bulunmaktadır. Klorun bağlı olduğu propanol molekülündeki konumuna bağlı olarak da 2-MCPD veya 3-MCPD olarak adlandırılmaktadır. 3-MCPD'nin hidroksil gruplarının yağ asitleriyle kısmi veya tam esterleşmesine bağlı olarak 3-MCPD-monoesterleri veya 3-MCPD-diesterleri oluşmaktadır [7, 8].



Şekil 1. Kloropropanol esterlerinin kimyasal yapısı [8]

3-MCPD esterlerinin önerilen oluşum mekanizmasından biri, triaçilgliserolden klorür iyonlarının varlığında siklik açiloksonyum iyonunun oluşumu ve sonrasında halka yapının açılarak klor iyonları ile reaksiyona girmesi sonucu oluşması şeklindedir. 3-MCPD esterlerinin oluşumuna neden olan öncül maddelerin, klorür iyonları, gliserol, mono- ve diğliseritler olduğu, sıcaklık ve sürenin de etkin olduğu bildirilmektedir [10].

MCPD ESTERLERİNİN TOKSİSİTESİ

3-MCPD esterlerinin toksikolojik olarak önemi ve diyetle alım düzeyleri tam olarak bilinmemektedir. Ancak diyetle

alınan MCPD esterlerinin lipaz enzimi ile gastrointestinal sistemde hidrolizi sonucu açığa çıkabilecek olası serbest 3-MCPD'nin vücuda alınması bu bileşiğin kanserojen olması nedeniyle önem taşımaktadır [5, 11]. EFSA tarafından 2009-2011 yılları arasında 45 gıda grubunu kapsayan rapora göre gıdaların büyük bir kısmı belirlenebilir limitlerden 50 µg/kg'a kadar değişen oranlarda 3-MCPD içermektedir. Bitkisel ve hayvansal katı ve sıvı yağlarda ise 960-1090 µg/kg aralığında sonuçlar bildirilmiştir. Gıdalarla 3-MCPD'nin alım düzeyleri ise popülasyonlara göre değişmekle birlikte günlük <1-3 µg/kg vücut ağırlığı olarak rapor edilmiştir. Raporda 3-MCPD'nin vücuda alımında en fazla katkıyı

margarin ve benzer ürünlerin yaptığı, bu ürünleri de bitkisel katı ve sıvı yağlar, fırın ürünleri ve tütsülenmiş etin takip ettiğini bildirilmiştir [12].

3-MCPD için tolere edilebilir günlük alım miktarı 2 µg/kg vücut ağırlığı olarak belirlenmiş olup, daha fazlasının özellikle böbrekler üzerinde olumsuz etkilere neden olduğu bildirilmiştir [13]. Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesinin ise günlük alım miktarını daha tedbirli olarak 0.8 µg/kg vücut ağırlığı düzeyinde belirttiği ifade edilmektedir [11].

2000 yılında İngiltere’de yapılan çalışmalara göre 3-MCPD’nin kanserojen ve muhtemel genotoksik etkisi olduğu ifade edilmiştir. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda; tümörlerde artışa, uzun vadede kansere ve aynı zamanda memelilerde kronik hormonal düzensizliklere, meme bezi fibromalarına, kronik böbrek tümörlerine yol açtığı rapor edilmiştir [14]. 3-MCPD’nin böbrek tümörlerine neden olduğu, glisidolün de sıçanların çeşitli organlarında tümör oluşumunu teşvik ettiği belirlenmiştir [8]. Ayrıca 2-MCPD’nin bakteriler üzerinde mutajenik etkileri olduğu saptanmıştır [15].

3-MCPD asitle hidrolize edilmiş bitkisel proteinlerin iyi bilinen bir bulaşanıdır. Bu nedenle soya soslarının üretiminde kullanıldığında bu ürünlere de 3-MCPD

geçişine neden olmaktadır. Wong ve ark [16] tarafından soya ve ıstiridye soslarında yapılan bir çalışmada sosların büyük bir kısmının (%89.3) 0.02mg/kg ya da altında 3-MCPD içerdiği belirlenmiş bu nedenle bu ürünlerin sağlık açısından bir risk teşkil etmediği bildirilmiştir. Ancak diyetteki tüm gıda kaynaklarından alınan toplam 3-MCPD miktarlarının da dikkate alınması gerektiği ifade edilmiştir. Çin’de yapılan bir çalışmada da geleneksel olarak üretilen soya soslarında 3-MCPD düzeylerinin 0.02mg/kg’ın altında olduğu belirtilmiştir [17].

MCPD ESTERLERİNİN GIDALARDA TESPİTİNE YÖNELİK ÇALIŞMALAR

Kloropropanoller ve onların yağ asidi esterleri çeşitli gıdaların ve bileşenlerinin üretimi ve işlenmesi sırasında oluşan proses kontaminantlarıdır. 3-MCPD, 1,3-dikloro-2-propanol (1,3- DCP), 2-MCPD ve 2,3-DCP bilinen en önemli kloropropanol türevleridir [5, 18]. Gıdalarda 3-MCPD diesterlerinin, 3-MCPD monoesterlerine kıyasla daha fazla miktarda bulunduğu bildirilmiştir [7].

Tablo 1’de çeşitli gıdalarda 3-MCPD miktarlarının belirlenmesine yönelik yapılan bazı çalışmaların sonuçları verilmiştir.

Tablo 1. Çeşitli gıdalarda belirlenen 3-MCPD konsantrasyonları

Gıda maddesi	3-MCPD konsantrasyonu	Kaynak
Tahıl ve ürünleri	4-23 µg/kg	[19]
Sebzeler ve sebze ürünleri	-	[19]
Meyveler	-	[19]
Balık ve kabuklu deniz ürünleri	3-33 µg/kg	[19]
Et ve ürünleri	4-32 µg/kg	[19]
Patates cipsi	6-11 µg/kg	[19]
Yumurta ve ürünleri	-	[19]
Patates kızartması	0.13 mg/kg	[11]
Soğan kızartması	0.23 mg/kg	[11]
Palm yağı	<0.25-5.8 mg/kg	[20]
Palm yağı	4-5 ppm	[21]
Kolza yağı	1 ppm	[21]
Kızarmış muz	-	[22]
Soğan halkası	0.14 mg/kg	[22]
Ayçiçek yağı	0.1-2.1 mg/kg	[23]
Soya fasulyesi yağı	<0.1-0.5 mg/ kg	[23]
Bebek maması	0.13-4.80 mg /kg yağ	[24]
Soya sosu	<0.01-3 mg/kg	[16]
İstiridye sosu	<0.01-3 mg/kg	[16]

Gıdalardaki MCPD’nin büyük bir kısmının yağ asitleriyle esterleşmiş olduğu, çok az bir kısmının ise serbest halde olduğu bildirilmektedir. Asit hidrolize bitkisel protein, soya sosları, krakerler, ekmek, tost ve diğer fırıncılık ürünleri ile et ürünlerinde düşük düzeylerde de olsa serbest MCPD’nin bulunduğu belirlenmiştir. Kullanıma hazır bebek mamalarında da bu esterlere rastlanmıştır. Anne sütünde dahi tespit edilmesinin annenin diyetinden kaynaklandığı ifade edilmektedir [25, 26]. Yapılan çalışmalarda anne sütü ve bebek mamalarında yüksek miktarda serbest 3-MCPD’ye rastlanmazken, önemli miktarda bağlı MCPD tespit edilmiştir [9].

Doğal yağlar ve ham yağlar 3-MCPD esterlerini içermezken, tüm rafine yağlarda 3-MCPD miktarının 0.2-20 mg/kg arasında değiştiği ifade edilmektedir. Rafine yağlarda 3-MCPD ester içeriği kolza, soya, ayçiçek, aspir, ceviz ve palm yağına doğru gidildikçe artış göstermektedir. Bu bileşiklerin oluşumunda rafinasyondaki en önemli aşamanın deodorizasyon aşaması olduğu belirtilmiştir [11, 25, 27]. Jędrkiewicz ve ark. [28] yaptıkları çalışmada soğuk pres yağlarında bağlı 3-MCPD ve 2-MCPD tespit edememişlerdir. Ancak bu bileşikler rafine edilmiş kolza, ayçiçek ve zeytin yağında 0.18-0.30 mg/kg, şortening ve kızartma yağı karışımlarında 0.63-1.3 mg/kg düzeyinde saptamışlardır. Rafinasyonun deodorizasyon aşamasında uygulanan

yüksek sıcaklığın kloropropanol oluşumuna neden olduğu bildirilmektedir. Palm yağının 250°C'de 1 saatten fazla tutulmasının 2.5 mg/kg düzeyinde 2-MCPD oluşumuna yol açtığı belirlenmiştir. Palm yağında bulunabilecek organoklor bileşikleri yüksek sıcaklığın etkisi ile parçalanmakta, hidroklorik asit serbest kalmaktadır. Organoklor bileşikleri yanında yağda bulunabilecek inorganik klorür de MCPD diesterlerin oluşumunda etkili olmaktadır [8].

Ayçiçek yağı, hindistancevizi yağı ve kolza yağı gibi yağlarda <0.3 mg/kg düzeyinde ester formunda 3-MCPD ve <0.15 mg/kg düzeyinde ise 2-MCPD esterleri saptanmıştır. Palm yağında bu değerler 3-MCPD için 1.5-5 mg/kg ve 2-MCPD esterleri için 0.7-3 mg/kg şeklinde bulunmuştur. 1,3-DCP ise analiz edilen 50 rafine yağın sadece birinde belirlenmiştir. 3-MCPD diesterleri işlem görmemiş anne sütlerinde ve keçi sütünde de saptanmıştır [7].

Yağlı meyve ve tohumlarda lipaz enzimi aktivitesi ile trigliseritler serbest yağ asidi ve digliseritlere parçalanır. Ham yağdaki digliserit ve monogliserit miktarları yağın cinsine ve taşıma, depolama, işleme koşulları ile enzim aktivitesi gibi etkenlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Özellikle meyve pulpundan elde edilen yağlarda digliserit miktarı tohum yağlarına göre daha yüksektir. Rafine palm yağı ve rafine zeytinyağı gibi meyve yağlarında 3-MCPD miktarının tohum yağlarına göre daha yüksek bulunması, yüksek su aktivitesine sahip meyve pulpundan elde edilmelerinden, klor iyonları içeren bir ortam olmasından ve lipaz aktivitesinden kaynaklanmaktadır [14, 21].

Kolza yağı, ayçiçek yağı, zeytin ve soya yağlarında %1-3 oranlarında, palm yağında, lipaz aktivitesi nedeniyle olgunlaşma sırasında %6-10 oranlarında digliserit bulunmaktadır. Hindistan cevizi yağı, palm ve palm çekirdek yağları %7'lere varan oranlarda diğer yağlar ise %1-2 oranlarında serbest yağ asitlerine sahiptir. 3-MCPD esterlerinin oluşmasında gliserol, monogliserit, digliserit ve fosfolipidlerin öncül maddeler olduğu sıcaklık, lipit içeriği, tuz ve suyun bileşiminin de etkili olduğu bildirilmiştir [29].

Franke ve ark. [21] palm yağı ve kolza yağının kimyasal rafinasyonu sırasında oluşan 3-MCPD esterlerini araştırmışlardır. 200°C'nin üzerindeki deodorizasyon sıcaklığı 3-MCPD esterlerinin oluşumuna neden olmuştur. Bu esterlerin kolza yağında daha düşük oranlarda olduğu saptanmıştır. Bu durumun kolza yağının palm yağına kıyasla daha düşük oranda klor ve digliserit içermesinden kaynaklandığı bildirilmiştir.

Chung ve ark. [19] Hong Kong'da satışa sunulan 318 farklı gıdadaki kloropropanollerin miktarlarını belirlemişlerdir. Çalışmada MCPD esterleri sık tüketilen birçok gıdada bulunmaz iken, 101 örnekte 3-66 µg/kg düzeyinde belirlenmiştir. Çerez gıdalarda diğer gıdalara kıyasla daha yüksek oranda MCPD esterleri bulunmuştur. 15 gıda örneğinde ise 1.0-9.5 µg/kg düzeylerinde 1,3-DCP esterleri saptanmıştır. Başka bir çalışmada, Razak ve ark. [20] Malezya'daki çeşitli rafinerilerden alınan palm yağlarının 3-MCPD

esterlerinin miktarını 0.25-5.77 mg/kg olarak belirlemişlerdir.

Ermacora ve Hrciric [6] rafinasyon sırasında 2-MCPD ve 3-MCPD esterlerinin oluşumu üzerine yağın tipinin, kaynağının ve bileşiminin etkili olduğunu ifade etmişlerdir. Çalışmada deodorizasyon öncesi uygulanan işlemlerin de etkili olduğu belirtilmiştir. Trigliseritler, kısmi gliseritler ve klorlu bileşiklerin MCPD oluşumunda öncül maddeler olduğu bildirilmiştir. Kısmi gliserit miktarındaki artış ile MCPD esterlerinin miktarları arasında doğrusal bir ilişki olduğu bulunmuştur.

Klor içeren bileşikler yağlı hammaddede, örneğin palm meyvesinde bulunmakta ve yağ eldesi sonrası yağa geçmektedir. Palm yağı hem organik hem de inorganik klorlu bileşiklere sahiptir. Proses sırasında polar karakterdeki inorganik klorun lipofilik yapıdaki forma dönüşmüş olabileceği düşünülmektedir. İnorganik klor bitkinin gelişimini desteklemek için kullanılan gübrelerden gelmektedir. Organoklorlu bileşiklerin palm meyvesinde yağ üretimi sırasında oluştuğu düşünülmektedir. Bu organoklorlu bileşiklerin 120°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda parçalandığı ve 150°C'nin üzerinde de 3-MCPD esterlerinin oluştuğu saptanmıştır. Ayrıca deodorizasyon sırasında organoklorlu bileşikler parçalanarak hidroklorik asit gibi reaktif forma dönüşmektedir. Bu bileşikler kısmi gliseritler ile birleştiğinde MCPD diesterleri ve serbest yağ asitleri açığa çıkmaktadır [30].

Mogol ve ark. [18] farklı sıcaklıklarda ve sürelerde pişirilen bisküvilerdeki serbest ve ester formundaki 3-MCPD ve 2-MCPD oluşumunu araştırmışlardır. Ayrıca klor kaynağı olan tuzun bu proses kontaminantının oluşumu üzerine etkisini incelemişlerdir. Kinetik hesaplamalar pişirme sıcaklığının artışının bu bileşiklerin oluşum hızlarını yükselttiğini göstermiştir. Tuzun reçeteden çıkarılmasının MCPD oluşumunu önlediği saptanmıştır. Bu nedenle termal yükün ve tuz miktarının azaltılmasının bu kontaminantların oluşumunu önemli ölçüde engelleyeceği bildirilmiştir. Ayrıca farklı rafine yağların kullanılmasının da MCPD miktarlarını etkilediği saptanmıştır.

Pişirme işleminin ekmek ve peynirlerde 3-MCPD miktarını artırdığı belirtilmiştir. Ekmekte kızartma işleminin 3-MCPD oluşturabileceği ve miktarının pişirme süresiyle ilgili olduğu belirtilmiştir. Hamurda 3-MCPD bulunamazken, ekmekte 0.01 mg/kg, kızarmış ekmeklerde ise 0.3 mg/kg düzeyinde saptanmıştır. En yüksek değerler, buğdayın diğer kısımlarına göre daha yüksek oranda gliseride sahip kepek ve ruşeym içeren tam buğday ekmeğinde bulunmuştur [31]. Ekmek yapımında kullanılan bileşenlerin de 3-MCPD oluşumunu etkilediği, emülgatör ve şekerin ise en güçlü etkiye sahip olduğu ifade edilmiştir [9].

Wong ve ark. [32] kızartma işleminde sıcaklık, süre ve tuz konsantrasyonunun 3-MCPD esterlerinin oluşumunu önemli düzeyde etkilediğini ifade etmişlerdir. Yaptıkları çalışmada kızartma sırasında oluşan 3-MCPD esterlerinin tolere edilebilir düzeyin üzerinde olduğunu belirtmişlerdir. Başka bir çalışmada da kızarmış

ürünlerde bu bileşiklerin önemli miktarda bulunduğu belirtilmiş olup, kızarmış patatesten 0.10-0.26 mg/kg, patates cipslerinde 0.10-2.20 mg/kg düzeyinde, kızarmış balık ürünlerinde ise 0.60 mg/kg'ın altında tespit edildikleri bildirilmiştir. Brezilya'da toplanan 85 ticari kızarmış gıdada da konsantrasyonları 0.99 mg/kg'a kadar olan düzeyde çok sayıda gıdaya rastlandığı belirtilmiştir [11].

Isıl işlem uygulanan bir gıda grubu olan malt ürünlerinden, koyu kavrulmuş malta 3-MCPD miktarının 0.247 mg/kg olduğu ifade edilmiştir. Tütsülenmiş gıdaların da önemli miktarda 3-MCPD içerdiği ve oluşumunda, kullanılan odun ve işlem süresi ile tuz miktarının önemli olduğu belirtilmiştir. Ayrıca kavrulmuş kahvede, eritilmiş ya da kızartılmış peynirlerde, bazı et ürünlerinde 3-MCPD bulunduğu rapor edilmiştir [9, 31].

Önal ve ark. [33] patates cipslerinde yaptıkları çalışmada hem öncü bileşenlerin (monogliserit, digliserit ve trigliserit) hem de klor iyonlarının varlığından dolayı bu ürünlerin 3-MCPD ve glisidil esterlerinin oluşumu açısından riskli olduklarını belirtmişlerdir. Analiz ettikleri patates cipslerinde 3-MCPD esterlerinin miktarını en yüksek 2.97 mg/kg olarak bulmuşlardır.

MCPD ESTERLERİNİN ANALİZİ

Doğrudan analiz metodu ile çalışıldığında ilk olarak açıl gliserol fraksiyonu ince tabaka kromatografisi ile uzaklaştırılır. MCPD ester fraksiyonunun ince tabakadan ekstrakte edildikten sonra gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) ile analizi Velisek ve ark. [2] tarafından gerçekleştirilmiştir. Bir başka çalışmada ince tabaka kromatografisi ve silika kolon kromatografisi bir arada kullanılarak örnek saflaştırılmış ve GC-MS ile analiz yapılmıştır. Dolaylı analiz yönteminde katalizör olarak asidin kullanıldığı transesterifikasyon işlemi, yağ asidi metil esterleri ve serbest 3-MCPD elde edildikten sonra GC-MS ile analiz yapılmıştır. 2000'li yıllarda bu yöntem yaygınlaşmış, GC-MS cihazına vermeden önce fenil boronik asit ile türevlendirme işlemi uygulanmıştır. Transesterifikasyonun asit varlığında uygulanması, olduğundan daha fazla miktarda MCPD tespitine yol açtığından bazik bir katalizör olan sodyum metoksitin kullanıldığı yeni bir yöntem geliştirilmiştir. Bu metodun uygulanması sırasında da alkali koşullarda 3-MCPD'nin parçalanmasını önlemek, nötralizasyon ve tuz ilavesiyle uzaklaştırma aşamalarında eklenen sodyum klorürden 3-MCPD oluşumunu kısıtlamak üzere çeşitli modifikasyonlar uygulanmıştır [5].

Bazik koşullarda transesterifikasyon Alman Yağ Araştırmaları Derneği tarafından resmi metot olarak kabul edilmiştir. MCPD analizinde kullanılan asidik veya bazik transesterifikasyon yöntemleri dolaylı analiz yöntemleri olarak bilinmektedir. Çünkü bu metotlarda gıda örneğindeki toplam MCPD ester miktarı veya MCPD ile glisidil ester toplamı saptanmaktadır. Doğrudan analiz metodu transesterifikasyon işlemi içermemekte ve dolaylı analiz yöntemine kıyasla daha kolay uygulanmaktadır. Doğrudan analiz metodunda, MCPD ve glisidil bileşikleri ile ilgili daha ayrıntılı bilgiye

ulaşılabilir. Ancak MCPD ester sayısının çok olması verilerin analizini güçleştirmektedir [5].

Doğrudan metotlar önceleri ince tabaka ve/veya kolon kromatografisi ile fraksiyonların eldesi ve sonrasında GC-MS ile analizi şeklinde uygulanmakta idi. Ancak son yıllarda sıvı kromatografisi ve kütle dedektörünün kullanımı çok daha popüler hale gelmiştir. Örneğin, katı faz ekstraksiyon kartuşu ile ön saflaştırma sonrası sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi (LC-MS) cihazına enjeksiyonu şeklinde işlem uygulanmaktadır. Yağ çözeltilisinin ön saflaştırma yapılmadan doğrudan LC-MS cihazına enjeksiyonu şeklinde de çalışılabilir. Bu doğrudan metot ile glisidil esterlerinin MCPD esterlerinden bağımsız olarak tespit edilebilmesi mümkün olmaktadır. Dolaylı metotlarda ise glisidil esterlerinin ve MCPD esterlerinin serbest MCPD'ye dönüşümü ve toplamın belirlenmesi söz konusudur [5].

Dolaylı Analiz Metotları

Dolaylı metotlar MCPD yağ asidi esterinin tek bir bileşiğe, 2- ve 3-MCPD'ye, dönüşümüne dayanmaktadır. Metot örneğe iç standart ilavesi (serbest veya ester halinde radyoaktif olarak işaretlenmiş olan 3-MCPD); asidik veya bazik ortamda transesterifikasyon; reaksiyon ürünlerinin nötrlenmesi ve tuz ilavesiyle uzaklaştırılma (farklı nötralizasyon ajanları ve tuz çözeltileri kullanılarak); açığa çıkan serbest 2- ve 3-MCPD'lerin türevlendirilmesi ve GC-MS ile analizi aşamalarından oluşmaktadır [5].

MCPD Esterlerinin Hidrolizi

Metanol varlığında transesterifikasyon trigliseritlerin ve kısmi gliseritlerin yağ asidi metil esterlerine ve gliserole dönüşümü ile sonuçlanmaktadır. Bu esnada 2- ve 3-MCPD esterleri sırasıyla serbest 2- ve 3-MCPD'ye dönüşmektedir. Bazik ortamda MCPD'lerin stabilitesinin düşük olması nedeniyle transesterifikasyon süresi mümkün olduğunca kısa tutulmalıdır. Süre uzadıkça 3-MCPD glisidole dönüşmektedir [5].

Nötralizasyon ve Tuz ile Uzaklaştırma

Bu aşamada uygulanan işlemler transesterifikasyon karışımından lipofilik bileşiklerin ekstraksiyonunu kolaylaşmaktadır. En çok kullanılan ajanlar sodyum klorür, sülfat tuzları ve sodyum bromürdür. Ancak bu basamakta kullanılan ajanların ve uygulanan işlemlerin 3-MCPD ester miktarının olduğundan daha fazla tespit edilmesine neden olduğu bildirilmiştir. Bu aşamada oluşan glisidil esterlerinin bunda etkili olduğu belirtilmiştir. Sodyum klorür yerine başka tuzların kullanılması bu aşamada bir çözüm olmaktadır. Asidik transesterifikasyonda glisidil esterleri geri dönüşsüz olarak parçalanmakta ve MCPD esterlerinin analizi bu aşamadaki koşullardan etkilenmemektedir [5].

Türevlendirme

Düşük uçuculuğa sahip olması (kaynama noktası 213°C) ve polaritesinin yüksekliği nedeniyle GC-MS cihazına verilmeden önce türevlendirme yapılması

gerekmektedir. Bu işlem ile MCPD uçucu türevine dönüştürülmektedir. En sık kullanılan türevlendirme ajanı fenil boronik asit ve heptafluoro-butyrylimidazole (HFBI)'dür. HFBI neme duyarlı olduğundan işlemin susuz koşullarda sürdürülmesi gerekmektedir [5].

Asidik Transesterifikasyon

Asidik transesterifikasyon metodunun dezavantajı transesterifikasyon süresinin çok uzun olmasıdır. İşlem 16 saat sürmektedir. Bu metot kullanıldığında nötralizasyon aşamasında aşırı miktarda sodyum klorür ilavesi beklenenden daha fazla miktarda MCPD'nin saptanmasına neden olmaktadır [5].

MCPD ESTERLERİNİN UZAKLAŞTIRILMASI

3-MCPD esterleri ve benzer bileşiklerin uzaklaştırılmasında farklı yaklaşımlar bulunmaktadır. Palm yağının rafinasyonunda ısı işlem öncesinde organoklorlu bileşiklerin uzaklaştırılması MCPD esterlerinin oluşumunu azaltmaktadır. Ham yağların su ve benzeri polar çözücülerle yıkanması reaktif klorlu bileşikler uzaklaştırmakta ve MCPD esterlerinin miktarını düşürmektedir. Diğer bir yöntem rafinasyon koşullarının değiştirilmesi veya rafine üründe oluşan 3-MCPD bileşiğinin bakteriyel enzimler kullanılarak gliserole dönüştürülmesi şeklindedir [8].

Matthäus ve ark. [29] hammaddeden MCPD oluşumuna neden olan bileşiklerin uzaklaştırılması, rafinasyon prosesinin değiştirilmesi veya oluşan 3-MCPD esterlerinin ve benzeri bileşiklerin rafine yağlardan uzaklaştırılması şeklinde üç farklı uygulama önermiştir. Palm yağının rafinasyonu öncesi, palm meyvesinin su veya %75'lik alkol ile yıkanmasının 3-MCPD esterlerini %20-25 oranında azalttığını göstermiştir. Klorür iyonları ve digliseritlerin 3-MCPD esterlerinin ve benzeri maddelerin oluşumunda etkili maddeler olduğu bulunmuştur. Ham maddede %4'ün üzerinde digliserit bulunmasının bu maddelerin oluşması için yeterli bir oran olduğu saptanmıştır. Deodorizasyon sırasındaki buhar distilasyonu esnasında su yerine formik asit içeren sıvının kullanılmasının %35 oranında glisidil ester oluşumunu azalttığı bildirilmiştir.

Strijowski ve ark. [34] 3-MCPD esterlerinin ve benzeri bileşiklerin palm yağından ayrılmasında farklı adsorbanlar kullanmışlardır. Bu adsorbanların bir kısmı kızartma yağlarının iyileştirilmesinde kullanılmaktadır. Toz zeolit ve sentetik magnezyum silikat MCPD esterlerinin %40 oranında azalmasını sağlamıştır.

Ramli ve ark. [35] ham yağın rafinasyonunda yapışkan maddelerin uzaklaştırılmasında fosforik asit yerine suyun ve ağartma işleminde asitle aktifleştirilmiş adsorbanlar yerine ağartma topraklarının kullanılması durumunda 3-MCPD esterlerinin daha düşük düzeyde oluştuğunu bildirmişlerdir. Zulkurnain ve ark. [36] da palm yağının fiziksel rafinasyonu sırasında uygulanan su ile yapışkan maddelerin giderildiği aşamada %84 oranında azalma olduğunu belirtmişlerdir. Magnezyum silikat kullanılarak uygulanan ağartma işleminde de %10 düzeyinde düşme gerçekleşmiştir. Bornscheuer ve

Hesseler [37] ise ilk olarak 3-MCPD ve esterlerini enzimatik yolla gliserole dönüştürerek hammaddeden uzaklaştırmışlardır.

SONUÇ

3-MCPD kanserojen olduğundan gıdalarda yaygın olarak incelenen proses kontaminantlarından biridir. Anne sütü ve bebek mamalarını da kapsayan pek çok gıdada bulunmaktadır. Bu nedenle gıdalarda bulunan 3-MCPD miktarı ve bu miktarı etkileyen faktörlerin dikkatle incelenmesi gerekmektedir. Serbest ve bağlı 3-MCPD miktarını belirlemek için metotlar geliştirilmiş ve pek çok gıdada da hangi şartlarda hangi düzeyde oluştuğu ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Ancak her gıda kendine özgü bileşime ve üretim şartlarına sahip olduğundan bu konu ile ilgili yeni çalışmalara ihtiyaç vardır. Özellikle de oluşumunun azaltılmasına yönelik çalışmalara ağırlık verilmesi gerektiği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Gökmen, V. (2011). Gıdalarda ısı işlem bulaşanları. *Bilim ve Teknik*, 66-67.
- [2] Velisek, J., Davídek, J., Kubelka, V., Bartosova, J., Tuekova, A., Hajslova, J., Janieek, G. (1979). Formation of volatile chlorohydrins from glycerol (triacetin, tributyrin) and hydrochloric acid. *Z. Lebens. Wissen Technol.*, 12, 234-236.
- [3] Davidek, J., Velisek, J., Kubelka, V., Janieek, G., Simicova, Z. (1980). Glycerol chlorohydrins and their esters as products of the hydrolysis of tripalmitin, tristearin and triolein with hydrochloric acid. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, 171, 14-17.
- [4] Zelinkova, Z., Svejtkovska, B., Velisek, J., Dolezal, M. (2006). Fatty acid esters of chloropropane-1,2-diol in edible oils. *Food Additives and Contaminants*, 23, 1290-1298.
- [5] Crews, C., Chiodini, A., Granvogel, M., Hamlet, C., Hrnčirik, K., Kuhlmann, J., Lampen, A., Scholz, G., Weisshaar, R., Wenzl, T., Jasti, P.R., Seefelder, W. (2013). Analytical approaches for MCPD esters and glycidyl esters in food and biological samples: a review and future perspectives. *Food and Additives and Contaminants: Part A*, 30(1), 11-45.
- [6] Ermacora, A., Hrnčirik, K. (2014). Influence of composition on the formation of fatty acid esters of 2-chloropropane-1,3-diol (2-MCPD) and 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) under conditions simulating oil refining. *Food Chemistry*, 161, 383-389.
- [7] Seefelder, W., Scholz, G., Schilter, B. (2011). Structural diversity of dietary fatty esters of chloropropanols and related substances. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113, 319-322.
- [8] Andres, S., Appel, K.E., Lampen, A. (2013). Toxicology, occurrence and risk characterisation of the chloropropanols in food: 2-Monochloro-1,3-propanediol, 1,3-dichloro-2-propanol and 2,3-dichloro-1-propanol. *Food and Chemical Toxicology*, 58, 467-478.

- [9] Jędrkiewicz, R., Kupska, M., Głowacz, A., Gromadzka, J., Namieśnik, J. (2016). 3-MCPD: A worldwide problem of food chemistry. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56, 2268-2277.
- [10] Wong, Y.H., Muhamad, H., Abas, F., Lai, O.M., Nyame, K.L., Tan, C.P. (2017). Effects of temperature and NaCl on the formation of 3-MCPD esters and glycidyl esters in refined, bleached and deodorized palmolein during deep-fat frying of potato chips. *Food Chemistry*, 219, 126–130.
- [11] Ariseto, A.P., Marcolino, P.F.C., Augusti, A.C., Scaranelo, G.R., Berbari, S.A.G., Miguel, A.M.R.O., Morgano, M.A., Vicente, E. (2017). Contamination of fried foods by 3-monochloropropane-1,2-diol fatty acid esters during frying. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 94, 449-455.
- [12] European Food Safety Authority. (2013). Scientific report of EFSA. Analysis. Analysis of occurrence of 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) in food in Europe in the years 2009-2011 and preliminary exposure assessment. *European Food Safety Authority Journal*, 11(9), 3381, 45 pp.
- [13] Hori, K., Koriyama, N., Omori, H., Kuriyama, M., Arishima, T., Tsumura, K. (2012). Simultaneous determination of 3-MCPD fatty acid esters and glycidyl fatty acid esters in edible oils using liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry. *LWT - Food Science and Technology*, 48, 204-208.
- [14] Karabulut, M., Yemişçioğlu, F. (2012). Rafine bitkisel yağlarda 3-MCPD, Gıda Yem ve Analiz'35, T.C. Gıda Tarım Hayvancılık Bakanlığı İzmir Gıda Laboratuvar Müdürlüğü 8-10.
- [15] Schilter, B., Scholz, G., Seefelder, W. (2011). Fatty acid esters of chloropropanols and related compounds in food: Toxicological aspects. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113, 309-313.
- [16] Wong, K.O., Cheong, Y.H., Seah, H.L. (2006). 3-Monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) in soy and oyster sauces: Occurrence and dietary intake assessment. *Food Control*, 17, 408-413.
- [17] Fu, W.S., Zhao, Y., Zhang, G., Zhang, L., Li, J.G., Tang, C.D., Miao, H., Ma, J.B., Zhang, Q., Wu, Y.N. (2007). Occurrence of chloropropanols in soy sauce and other foods in China between 2002 and 2004. *Food Additives and Contaminants*, 24(8), 812-819.
- [18] Mogol B.A., Pye, C., Anderson, W., Crews, C., Gökmen, V. (2014). Formation of monochloropropane-1,2-diol and its esters in biscuits during baking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 7297-7301.
- [19] Chung, S.W.C., Kwong, K.P., Yau, J.C.W., Wong, A.M.C., Xiao, Y. (2008). Chloropropanols levels in foodstuffs marketed in Hong Kong. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21, 569-573.
- [20] 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 Control*, 25, 355-360.
- [21] 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 - Food Science and Technology*, 42, 1751-1754.
- [22] Ariseto, A.P., Marcolino, P.F.C., Vicente, E. (2015). 3-Monochloropropane-1,2-diol fatty acid esters in commercial deep-fat fried foods. *Food Additives and Contaminants: Part A*, 32(9), 1431-1435.
- [23] Kuhlmann, J. (2011). Determination of bound 2,3-epoxy-1-propanol (glycidol) and bound monochloropropanediol (MCPD) in refined oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113, 335-344.
- [24] Jędrkiewicz, R., Głowacz, A., Gromadzka, J., Kloskowski, A., Namieśnik, J. (2016). Indirect determination of MCPD fatty acid esters in lipid fractions of commercially available infant formulas for the assessment of infants' health risk. *Food Analytical Methods*, 9(12), 3460-3469.
- [25] Weibhaar, R. (2008). 3-MCPD-esters in edible fats and oils – a new and worldwide problem. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110, 671-672.
- [26] Weibhaar, R. (2011). Fatty acid esters of 3-MCPD: Overview of occurrence and exposure estimates. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113, 304-308.
- [27] Hammouda, I.B., Zribi, A., Mansour, A.B., Matthäus, B., Bouaziz, M. (2017). Effect of deep-frying on 3-MCPD esters and glycidyl esters contents and quality control of refined olive pomace oil blended with refined palm oil. *European Food Research and Technology*, 243(7), 1219–1227.
- [28] Jędrkiewicz, R., Głowacz, A., Gromadzka, J., Namieśnik, J. (2016). Determination of 3-MCPD and 2-MCPD esters in edible oils, fish oils and lipid fractions of margarines available on Polish market. *Food Control*, 59, 487-492.
- [29] Matthäus, B., Pudiel, F., Fehling, P., Vosmann, K., Freudenstein, A. (2011). Strategies for the reduction of 3-MCPD esters and related compounds in vegetable oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113, 380-386.
- [30] Matthäus, B. (2012). Organic or not organic- that is the question: How the knowledge about the origin of chlorinated compounds can help to reduce formation of 3-MCPD esters. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 114, 1333-1334.
- [31] Crews, C., Brereton, P., Davies, A. (2001). The effects of domestic cooking on the levels of 3-monochloropropanediol in foods. *Food Additives and Contaminants*, 18, 271- 280.
- [32] Wong, Y.H., Lai, O.M., Abas, F., Nyam, K.L., Nehdi, I.A. Muhamad, H., Tan, C.P. (2017). Factors impacting the formation of 3-MCPD esters and glycidyl esters during deep fat frying of chicken breast meat. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 94, 759-765.
- [33] Önal, B., Özdikicierler, O., Yemişçioğlu, F. (2016). Türkiye piyasasında satışı sunulan patates cipslerinde 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri miktarları. *Akademik Gıda*, 17(3), 267-274.

- [34] Strijowski, U., Heinz, V., Franke, K. (2011). Removal of 3-MCPD esters and related substances after refining by adsorbent material. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113, 387-392.
- [35] Ramli, M.R., Siew, W.L., Ibrahim, N.A., Hussein, R., Kuntom, A., Razak, R.A.A., Nesaretnam, K. (2011). Effects of degumming and bleaching on 3-MCPD esters formation during physical refining. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88, 1839-1844.
- [36] Zulkurnain, M., Lai, O.M., Latip, R.A., Nehdi, I.A., Ling, T.C., Tan, C.P. (2012). The effects of physical refining on the formation of 3-monochloropropane-1,2-diol esters in relation to palm oil minor components. *Food Chemistry*, 135, 799-805.
- [37] Bornscheuer, U.T., Hessler, M. (2010). Enzymatic removal of 3-monochloro-1,2-propanediol (3-MCPD) and its esters from oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112, 552-556.
-