

3-Kloropropandiol, 2-Kloropropandiol, Esterleri ve Glisidil Yağ Asidi Esterinin Toksik Etkileri

Can Özgür Yalçın¹ , Sezen Yılmaz-Sarıaltın²  

¹Karadeniz Teknik Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, 61080 Trabzon

²Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, 06100 Tandoğan, Ankara

Geliş Tarihi (Received): 13.09.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 23.12.2018

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): sezen.yilmaz@ankara.edu.tr (S. Yılmaz Sarıaltın)

☎ 0 312 2033121 📠 0 312 213 10 81

ÖZ

3-kloropropandiol (3-MCPD), 2-kloropropandiol (2-MCPD), bunların esterleri ve glisidil yağ asidi esterleri (GE) gıda veya gıda işlem kaynaklı bulaşanlar sınıfında yer almaktadır. İlk olarak, asitle hidrolize olmuş bitkisel proteinlerde (soya sosu ve sebze proteinleri) tespit edilmiştir. Daha sonraki yıllarda farklı gıdalarda da 3-MCPD ve esterlerinin varlığının tespit edilmesiyle bu bileşiklerin güvenliğine yönelik ilgi artmaya başlamıştır. Günümüzde 3-MCPD, 2-MCPD, bunların yağ asidi esterleri ve GE'nin en yüksek düzeyde palm yağı olmak üzere hemen hemen tüm bitkisel yağlarda, margarinlerde, pasta ve kekler gibi birçok işlenmiş gıdada bulunduğu bilinmektedir. Bu bileşikler aynı zamanda bebek mamalarının içeriğinde de yer almaktadır. Bu derlemede tüm bu kullanımlar göz önüne alınarak 3-MCPD, 2-MCPD ve GE'nin toksik etkileri üzerine yapılan çalışmalardan bahsedilmiştir.

Anahtar Kelimeler: 3-MCPD, 2-MCPD, Glisidil yağ asit esterleri, Glisidol, Gıda bulaşanları

Toxic Effects of 3-Chloropropanediol, 2-Chloropropanediol, their Esters and Glycidyl Fatty Acid Ester

ABSTRACT

3-chloropropanediol (3-MCPD), 2-chloropropanediol (2-MCPD), their esters and glycidyl fatty acid esters (GE) are important food contaminants originating mainly during food processing. These materials were firstly identified in acid-hydrolyzed plant proteins such as soybean and other vegetable proteins. Then, the detection of 3-MCPD and its esters in different foods raised interest in the safety profile of these compounds. Nowadays, 3-MCPD, 2-MCPD and their fatty acid esters and GE are known to be present in almost all vegetable oils, mostly in palm oil, margarines and processed foods, especially pastries and cakes. It is also found in baby foods. In this review, studies on the toxic effects of 3-MCPD, 2-MCPD and GE are reviewed.

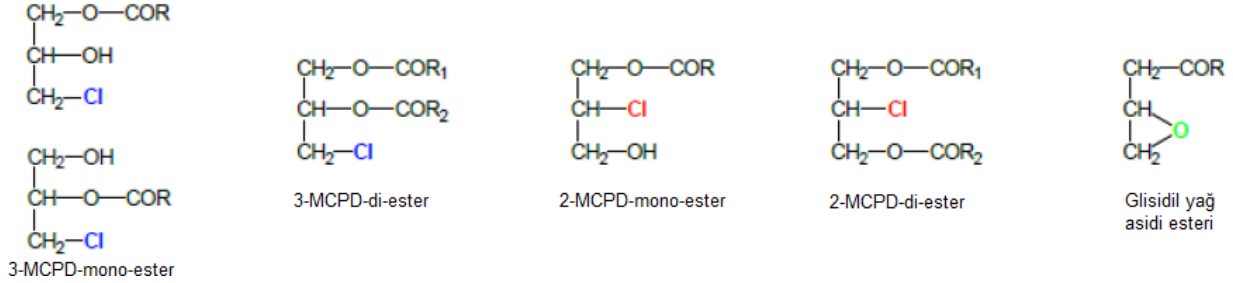
Keywords: 3-MCPD, 2-MCPD, Glycidyl fatty acid esters, Glycidol, Food contaminants

GİRİŞ

Gıda üretimi sürecinde çok sayıda kimyasal; üretim, saklanma, pişirme ve ortamdaki çevre kirleticilerinin varlığı gibi koşullara bağlı olarak gıdalara bulaşabilmektedir [1]. Gıda katkı maddelerinden farklı olarak varlıkları istek dışı olan bu maddeler gıda

kontaminantları (bulaşanları) olarak adlandırılmaktadır. 3-kloropropandiol (3-MCPD), 2-kloropropandiol (2-MCPD), bunların esterleri ve glisidil yağ asidi esterleri (GE), yağların yüksek sıcaklıkta kullanılması veya rafinasyon işlemi sırasında oluşan en önemli bulaşanlardandır. Başta palm yağı olmak üzere bitkisel yağlarda, margarinlerde, işlenmiş gıdalarda özellikle de

hazır kek, pastalarda ve hatta bebek mamalarında bu bulaşanların bulunduğu bildirilmiştir. Palm yağının doğal aromasını ve rengini gidermek amacıyla uygulanan rafinasyon işlemi esnasında diğer yağlara oranla çok daha fazla miktarda 3-MCPD, 2-MCPD ve esterleri ve GE oluşmaktadır [2]. Gıdalarda 3-MCPD ve 2-MCPD



Şekil 1. 3-MCPD ve 2-MCPD esterleri ve GE

Bu esterlerin biyoyararlanımlarının belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada Abraham ve arkadaşları sıçanlara oral yoldan ekimolar dozlarda 3-MCPD diester ve 3-MCPD vermiştir. Sonuç olarak 3-MCPD diesterinin gastrointestinal sistemde enzimatik hidroliz ile serbest 3-MCPD'ye dönüştüğü; kan, organlar ve dokulara yayıldığı ve biyoyararlanımının %86 seviyesinde olduğu bulunmuştur [4]. 3-MCPD'nin hayvan deneylerinde böbrek ve üreme organlarında hasar yaptığı bildirilmektedir [5,6].

3-MCPD, Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (International Agency for Research on Cancer: IARC) tarafından Grup-2B olarak sınıflandırılmıştır [64]. Alman Federal Risk Değerlendirmesi Enstitüsü (Bundesinstitut für Risikobewertung:BfR) 2007 yılında 3-MCPD için tolere edilebilir günlük alım miktarını (Tolerable Daily Intake:TDI) 2 µg/kg olarak belirlemiştir. BfR, yayınladığı raporda; bebeklerin ağırlıklı olarak yenidoğan mamalarıyla beslenmesi durumunda TDI değerinin aşılabileceğini vurgulamıştır [7]. Avrupa Gıda Otoritesi (European Food Safety Authority: EFSA) 2016 yılı "Panel on Contaminants Food Chain (Contam)" raporunda 3-MCPD için TDI değerini 0,8 µg/kg olarak revize etmiştir [8]. Ülkemizde Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nde 3-MCPD'nin bitkisel proteinler ve soya sosunda bulunabileceği en yüksek değer 20 µg/kg olarak belirlenmiştir [9].

Glisidol, IARC verilerine göre Grup-2A altında muhtemel insan karsinojenleri arasında yer almaktadır. EFSA'nın yapmış olduğu risk değerlendirmesinde, bir diğer bulaşan olan GE'nin serbest bileşiği glisidolun, genotoksik ve karsinojenik olduğu rapor edilmiştir [8,10]. GE'nin biyoyararlanımının *in vivo* yöntemlerle araştırıldığı bir çalışmada, sıçanlara oral yoldan ekimolar dozlarda glisidol ve glisidil palmitoil esteri verilmiştir. Glisidolun hemoglobine bağlanma düzeyi ve 2,3-dihidroksipropil merkaptürik asit şeklinde atılma seviyesi ölçülmüştür. Çalışma neticesinde GE'nin hızlı bir şekilde hidrolize olduğu ve organlara dağıldığı gösterilmiştir. Nihai sonuç olarak GE maruziyetinin serbest glisidol maruziyetiyle aynı değerlendirilmesi gerektiği vurgulanmıştır [11].

serbest (-diol) hal yerine -mono (daha yüksek miktarda) ve -di esterleri formunda bulunur (Şekil 1). İntestinal sistemde pankreas tarafından salgılanan lipaz enzimi etkisiyle esterler tamamen 3-MCPD ve 2-MCPD olan serbest formlarına hidroliz olur [3].

3-MCPD VE TOKSİK ETKİLERİ

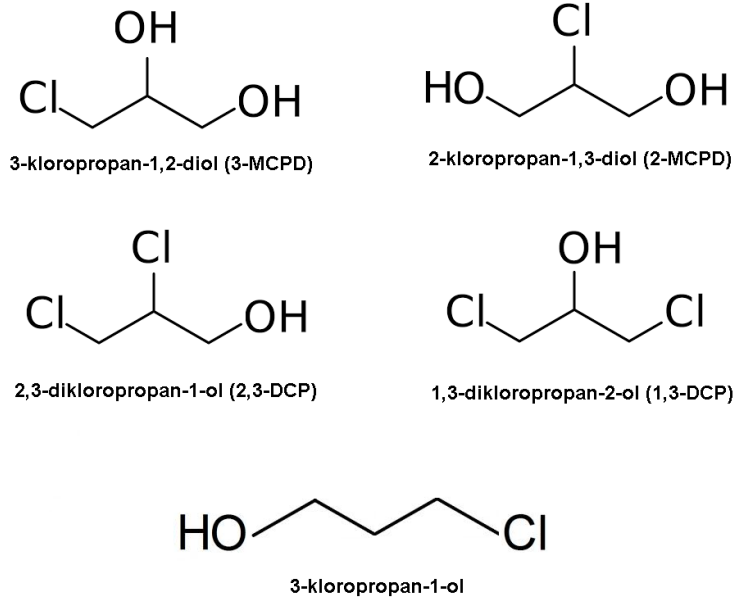
3-MCPD, temel olarak 5 çeşit kloropropanol bileşiğinden biridir (Şekil 2). Yapısında 3 adet karbon (C), 2 adet fonksiyonel alkol (-OH) grubu ve 1 adet klor (Cl) bulunur. Molekül formülü C₃H₇ClO₂, molekül ağırlığı 110.54 g/mol'dür. 3-MCPD, renksiz veya rengi saman sarısına dönmeye meyilli; su, alkol, dietil eter ve asetonda çözünebilir bir bileşiktir. Endüstride kullanılan bir kimyasal olan 3-MCPD aynı zamanda Birleşik Devletler Çevre Koruma Kurumu (United States Environmental Protection Agency: US-EPA) tarafından α-klorohidrin ismiyle rodentisit olarak tanımlanmıştır [12].

3-MCPD'nin bitkisel proteinlerin asit ile hidrolize edilmesiyle oluşabileceği ilk kez Velisek ve arkadaşları [13] tarafından bulunmuştur. Daha sonraki çalışmalar bitkisel yağlar, margarinler, kek, pasta, bebek mamaları, bisküvi, füme etler, tuzlanmış balık, kahve ve peynir gibi birçok işlenmiş gıdada bu bileşiğin bulaşan olarak bulunabileceğini göstermiştir [14,15].

Edwards ve arkadaşları [15] ¹⁴C ve ³⁶Cl içeren 3-MCPD (α-klorohidrin) bileşiklerini kullanarak 3-MCPD'nin kan-beyin ve kan-testis bariyerlerini aşabileceğini bulmuştur. 3-MCPD'nin en önemli toksik etkilerini üreme sistemi üzerinde oluşturduğu bildirilmiştir [17-19]. IARC, karsinojenik etki sınıflandırmasında Grup- 2B altında olası insan karsinojeni olarak yer vermiştir. Jones isimli araştırmacı 3-MCPD'nin üreme sistemi üzerine toksik etkilerinin türler arasında farklılık gösterebileceğini vurgulamıştır. Sıçan, koç, yaban domuzu, Gine domuzu, hamster, Rhesus maymunu ve insan spermeleri üzerinde etkili olabileceği fakat fare ve tavşanlarda etkili olmadığı bulunmuştur [20]. Farklı bir çalışmada 3-MCPD'nin fertilité üzerine etkilerinin glikoliz yolağının blokajı sonucu gerçekleşebileceği açıklanmıştır [21]. Toksikite profilini aydınlatmak amacıyla yapılan *in vitro* çalışmalarda 3-MCPD'nin genotoksik etkileri tespit edilirken [22]; aynı etkiler *in vivo* deneylerle kanıtlanamamıştır [23-25]. Zeiger ve arkadaşları, 3-MCPD'nin *Salmonella typhimurium* türü bakterilerde ters (revers) mutasyonları indüklediğini bulmuştur [26]. El Ramy ve arkadaşları, Çin hamsteri over (CHO)

hücrelerini *in vitro* koşullarda 0.5, 1, 2.5 ve 5 mg/mL konsantrasyonlarda 3-MCPD ile 3 saat maruz bırakmıştır. 2.5 ve 5 mg/mL (22.6 ve 45 mM) konsantrasyonlarda 3-MCPD'nin DNA zincir kırıklarını indüklediğini ve genotoksisiteye neden olduğunu tek hücre jel elektroforezi (komet) yöntemi ile göstermiştir. Aynı çalışmada Sprague-Dawley (SD) ve F344 sıçanlarda 3-MCPD'nin karaciğer, kemik iliği ve lenfosit hücrelerinde DNA zincir kırıklarına *in vivo* koşullarda neden olmadığı rapor edilmiştir [23]. Robjohns ve arkadaşları [24] yaptıkları *in vivo* çalışmada Han Wistar türü erkek sıçanların kemik iliği hücrelerinde 3-MCPD'nin mikroçekirdek (Micronucleus: MN) oluşumuna neden olmadığını ve karaciğer hücrelerinde zamanlanmamış (unscheduled) DNA sentezine yol açmadığını göstermiştir. Jeong ve arkadaşları [27], B6C3F1 farelerinde erkeklerde 4.2, 14.3, ve 33 mg/kg (vücut ağırlığı:va)/gün, dişilerde 3.7, 12.2 ve 31 mg/kg (va)/gün dozlarda karsinojenik etki potansiyeline dair izler bulamamıştır. Fakat Cho ve arkadaşları [5], SD türü erkek sıçanlarda 1.97, 8.27 ve 29.50 mg/kg (va)/gün ve dişi sıçanlarda 2.68, 10.34 ve 37.03 mg/kg (va)/gün dozlarda 3-MCPD'nin böbreklerde (renal tübüler karsinoma) ve testislerde (Leydig hücresi karsinomu) karsinojenik etki potansiyeline sahip olduğunu bulmuştur. Sunahara ve arkadaşları, F334 türü erkek sıçanlarda 1.1, 5.2, 28 mg/kg (va)/gün ve dişilerde 1.4, 7, 35 mg/kg (va)/gün dozlarında 3-MCPD'nin benzer karsinojenik etkiler gösterdiğini bulmuştur [28]. Böbrek tümörlerinin kronik nefropatiyi takiben ortaya çıktığı ve testislerde Leydig hücresi tümörlerinin hormonal düzensizlikler (endokrin bozucu etkiler) sonucu ikincil olarak geliştiğine dair kanıtlar nedeniyle 3-MCPD'nin genotoksik olmayan karsinojenlerden olduğu düşünülmektedir [22, 29]. Swiss türü farelerde 3-MCPD monopalmidik ester ve 3-MCPD dipalmidik esterinin akut oral toksisitesi sonucu renal tübüler nekrozun indüklendiği ve seminifer tübüllerde spermatid sayısının

azaldığı bulunmuştur [30]. Barocelli ve arkadaşları [17], 3-MCPD dipalmidik esterinin Wistar sıçanlar üzerindeki 19 günlük oral toksisite çalışması sonucu meydana gelen renal ve testiküler değişikliklerin ekimolar dozda verilen 3-MCPD'ye çok benzediği fakat daha ılımlı seyrettiğini bulmuştur. Lee ve arkadaşları [31], 14 gün süresince dişi Balb/c farelere 25, 50 ve 100 mg/kg (va)/gün dozunda 3-MCPD vererek immünotoksisite incelemesi yapmıştır. Hematolojik, histopatolojik, antijen-özgü bağışıklık, lenfositlerde proliferatif değişiklikler ve doğal öldürücü hücreler incelenmiştir. Sonuç olarak 100 mg/kg (va)/gün konsantrasyonda dişi sıçanlarda immünotoksik etki görüldüğü rapor edilmiştir. Bir diğer çalışmada [32] 3-MCPD'nin R2C sıçanlarının Leydig hücrelerinde progesteron üretimini azalttığı ve ayrıca Leydig hücrelerinde apoptozis ile sonuçlanan morfolojik değişikliklere ve DNA hasarına neden olduğu bulunmuştur. Buhre ve arkadaşları [33] 3-MCPD'nin 100 µM konsantrasyona kadar CaCo-2 hücre serilerinde WST yöntemi ile hücre proliferasyonunu etkilemediğini ve kaspaz 3/7 aktivitesinde artış olmadığını bulmuştur. NRK-52E ve HEK-293 hücrelerinde 3-MCPD'nin DNA hasarı üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada hücre serilerinde 24 saat süresince 0.5, 1, 2 ve 4 mg/mL konsantrasyonlarda maruziyet oluşturulmuştur. 2 ve 4 mg/mL konsantrasyonlarda DNA hasarında anlamlı düzeyde artış bulunmuştur (p<0.05) [34]. Peng ve arkadaşları [35], HEK293FT embriyonik böbrek hücrelerinde 3-MCPD'nin apoptozis ile olan ilişkisini incelemişlerdir. 2, 3, 4 ve 5 mM konsantrasyonlarda 24 saat boyunca maruz bırakılan hücrelerde 3 mM konsantrasyondan sonra ve özellikle 4 ve 5 mM'da hücre canlılığının anlamlı düzeyde azaldığı ve apoptotik hücrelerin ise anlamlı düzeyde arttığı bulunmuştur (p<0.01). Bcl-2/Bax mRNA ifadesi ve Bcl-2/Bax protein oranının 2 mM ve daha yüksek konsantrasyonlardan sonra anlamlı düzeyde azaldığı bulunmuştur (p<0.01).



Şekil 2. Kloropropanoller

2-MCPD VE TOKSİK ETKİLERİ

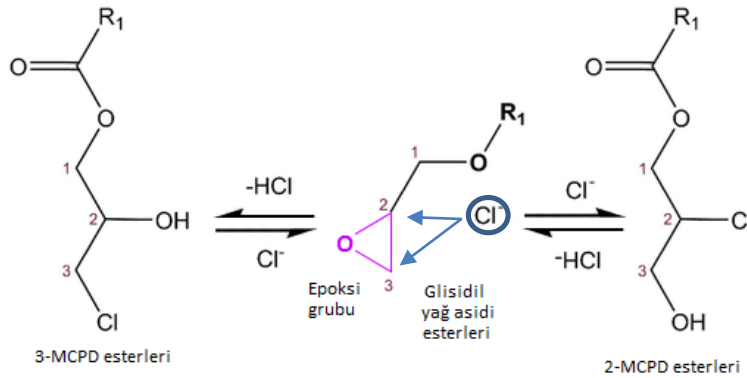
2-MCPD, bir diğer kloropropanol bileşiği olan bulaşandır (Şekil 2). 3-MCPD'nin yapısal izomeri olan 2-MCPD gıdalarda, GE ve 3-MCPD'ye göre daha az düzeyde oluşmaktadır [36].

2-MCPD'nin toksik etkileri ile ilgili kısıtlı veri olması nedeniyle tam bir değerlendirme yapılamamakla birlikte yayınlanan araştırmalar incelenmiştir. Marchesini ve Huggett isimli araştırmacılar azaltma ve artırma prosedürüne (Up and Down Procedure, OECD 425) göre yaptıkları akut toksisite testinde SD sıçanlarında gavaj yoluyla 2-MCPD vererek LD50 değerini 50-60 mg/kg (va) arasında bulmuştur. Deney hayvanlarında ölümün bir dizi konvülsiyonla gerçekleştiği bildirilmiştir [37]. Jones ve Fakhouri [38] ise 3-MCPD'nin renal toksisitesine karşı tek doz 200 mg/kg (va) ip (LD50) 2-MCPD'nin SD sıçanlarda diürezise neden olmadığını bulmuştur. Yaptıkları çalışmada 3-MCPD'nin 90 mg/kg ip (LD50) dozda genişlemiş böbreklere ve hatta böbrek iflasına neden olduğunu rapor etmişlerdir. Perrin ve arkadaşları [39], SD sıçanlar ile yaptıkları 28 günlük tekrarlı doz toksisite testinde 2,16 ve 30 mg/kg dozlarda 2-MCPD gavaj yoluyla uygulamışlar, 30 mg/kg doz grubundaki hayvanlardan bazılarının deneyin 8-23 günleri arasında kalp yetmezliği nedeniyle öldüğünü bildirmişlerdir. Doza bağlı olarak çizgili kaslarda stoplazmik vakulizasyon ve miyositlerde lizis görülmüştür. Patolojik değişiklikler en fazla kalp miyokardiyum dokusunda bulunmuştur. 16 ve 30 mg/kg dozlarda artmış böbrek ağırlığı, proksimal tübüllerde

stoplazmik vakulizasyon tespit edilmiştir. Renal tübül değişiklikleri erkek sıçanlarda dişilere göre daha fazla gerçekleşmiştir. 2 mg/kg (va) dozda herhangi bir advers etki gözlenmediği için bu doz "No Observed Adverse Effect Level" (NOAEL) değeri olarak rapor edilmiştir. Derleme bir çalışmada yayınlanmamış araştırma verilerine göre; 2-MCPD bakteri geri mutasyon testinde mutajenik etkili bulunmuştur. Başka bir çalışmada 2-MCPD'nin, Çin Hamsteri akciğer fibroblast hücreleri (V79) üzerinde 50 mM'a kadar olan yüksek konsantrasyonda bile (metabolik aktivasyon dahilinde ve haricinde) gen mutasyonunu indüklediği gösterilmiştir [40]. *Drosophilla melanogaster* "wing spot" testine göre 2-MCPD'nin *in vivo* genotoksik etkisinin olmadığını bildirilmiştir [41].

GLİSİDOL-GE VE TOKSİK ETKİLERİ

Molekül formülü $C_3H_6O_2$, molekül ağırlığı 74.08 g/mol olan glisidol (2,3-epoksi-1-propanol) oda sıcaklığında renksiz bir sıvı olup, suda ve çoğu polar çözücünde çözünebilmektedir. Glisidil esterleri ve aminlerinin sentezinde ve farmasötik endüstrisinde ara madde; vinil polimer üretiminde stabilizer olarak kullanılmaktadır [42]. GE yağların yüksek sıcaklıklarda rafinasyon işlemleri sırasında oluşan bir gıda bulaşanı olup, yapısında terminal bir epoksit grubu ve farklı yağ asidi bileşimi bulunmaktadır. GE ve MCPD esterlerinin yapısındaki (Şekil 3) benzerlik birçok araştırmacının bu bileşikler birlikte değerlendirmesine neden olsa da içerdikleri farklı gruplardan dolayı farklı toksik etkileri olabileceği düşünülmektedir [40,43].



Şekil 3. 3-MCPD, GE ve 2-MCPD'nin birbirine dönüşüm şeması [44].

Glisidol ve yağ asidi esterleri mideye alının ardından hızla absorbe olur. GE presistemik hidrolize uğradıktan sonra hızla glisidole dönüşür. Glisidol ise glutatyon konjugasyonu ve merkapturat oluşumu dahil olmak üzere birçok enzimatik yolla hızla metabolize olur. Ağırlıklı olarak idrarla atılır [45].

Japon Gıda Güvenlik Komisyonu (Food Safety Commission of JAPAN:FSCJ) glisidol ve GE için yürüttüğü risk değerlendirmesi çalışmasında glisidolun DNA hasarını indüklemesi ve gen mutasyonlarına yol açması nedeniyle genotoksik bir karsinojen olabileceğini bildirmiştir [46]. Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA)

glisidil esterlerinin direk insan tüketimi için bitkisel ve hayvansal yağlar en yüksek seviyenin Eylül 2017'den itibaren geçerli olmak üzere 1.0 mg/kg olacağını bildirmiştir (Tablo 1). Bu maksimum seviye Avrupa Birliği Yağ ve Protein Gıda Endüstrisi verileri ile uyumludur [8].

Erkek sıçanlara oral yolla 5 gün boyunca günlük 100, 200 mg/kg (va) veya 14 gün boyunca 100 mg/kg (va) glisidol uygulanmıştır. 3-MCPD'nin düşük doz etkisine benzer olarak glisidolun infertilite oluşturduğu görülmüştür [47]. Bu etkinin glisidolun mideye 3-MCPD'ye dönüşmesinden dolayı olabileceği düşünülmektedir [48].

Tablo 1. EFSA'nın tavsiye ettiği en yüksek 3-MCPD ve glisidil ester düzeyleri [8]

Gıda	Glisidil esterler (mg/kg)	3-MCPD esterleri (mg/kg)
Direkt insan tüketimi için bitkisel ve hayvansal yağlar/gıdalarda bir içerik olarak kullanım	1.0	2.0
Bebek maması ve devam sütü (toz)	0.075	0.125
Bebek maması ve devam sütü (sıvı)	0.010	0.015

F344/N sıçanlara günlük 300 mg/kg (va) glisidol uygulamasından 16 gün sonra epididimiste granülatöz inflamasyon, epididimal stromada dejenerasyon ve ödemle birlikte testislerde atrofi geliştiği görülmüştür. Ancak bu etkiler aynı deneyin yürütüldüğü B6C3F1 farelerde oluşmamıştır. 13 hafta boyunca sıçanlara günlük 25-400 mg/kg (va), farelere 19-300 mg/kg (va) glisidol uygulanmıştır. Sıçanlarda sperm sayısı ve motilitesi azalmış, epididimal sperm sayımı için (%36 azalma) gözlenen en düşük advers etki düzeyi yani "Lowest Observed Adverse Effect Level" (LOEL) günlük 25 mg/kg (va) olarak bulunmuştur. Sıçanlarda günlük 200 veya 400 mg/kg (va) glisidol maruziyeti testiküler atrofi veya dejenerasyona neden olmuştur. Farelere verilen tüm dozlar sperm sayısı ve motilitesini azaltmış, testiküler atrofi görülmüştür. Fareler için LOEL değeri günlük 75 mg/kg (va) olarak bulunmuştur [49]. Kawashima ve arkadaşları gebe farelere içme suyu ile gebeliğin 6. gününden doğum sonrası 21. güne kadar 800 ve 1600 ppm glisidol uygulamış, glisidol maruziyetinin hipokampal nörogenezis üzerine etkisini değerlendirerek gelişimsel toksisite çalışması yapmıştır. Kontrolle kıyaslandığında her iki konsantrasyonda da gebe farelerde akson terminal hasarı görülmüştür. 1600 ppm'e maruz kalan gebelerin yavrularının hipokampal dentat girus hilusunda nöron-spesifik nükleer protein⁺ postmitotik nöronları ve parvalbumin (PVALB)+ γ -aminobütirik asit (GABA) internöronlarının daha az olduğu görülmüştür. Farelerde gelişimsel glisidol maruziyetinin ilerleyen dönemlerde bilişsel işlev azalmasına neden olabileceği düşünülmektedir [50]. Gebeliğin 6. gününden, gebelik sonrası 21. güne kadar içme suyuyla 0, 300, 1000 ppm glisidol uygulanan SD sıçanlarda, 1000 ppm glisidol maruziyetinin aksonopatiye yol açtığı, bu gebelerin yavrularında ise geç-dönem hipokampal nörogenezde aberasyon olduğu bildirilmiştir [51]. 28 gün boyunca 5 haftalık erkek SD sıçanlara oral gavajla 0, 30, 200 mg/kg (va) glisidol uygulanmıştır. 200 mg/kg'a maruz kalan sıçanlarda gittikçe kötüleşen yürüyüş anomalilerinin yanı sıra histopatolojik ve immünohistokimyasal farklılıklar ortaya çıkmış, santral ve periferel sinir sisteminde lezyonlar oluşmuştur. Glisidolun, geç dönem farklılaşmasını etkileyen hipokampal nörogenez ve aksonopatiji indüklediği bulunmuştur [52]. Glisidol, olgunlaşmamış granül hücrelerinin yeni oluşan sinir terminallerini hedef almaktadır. Bu da geç evre hipokampal nörogenezin supresyonuna neden olmaktadır. Gebe SD sıçanlara gebeliğin 6. gününden, gebelik sonrası 21. güne kadar 0, 100, 300, 1000 ppm glisidol içeren içme suyu uygulanmıştır. 1000 ppm'de annelerde gittikçe kötüleşen yürüyüş anomalileri ve histopatolojik farklılıklar gözlenmiştir. Yetişkin sıçanların santral ve periferel sinir sisteminde akson hasarı oluşmuştur. NOAEL anneler için 300 ppm (48.8 mg/kg va/gün), yavrular için ise 100 ppm (18.5 mg/kg va/gün) olarak bulunmuştur. Yavruların nörogenezinin, yetişkin

aksonal hasarından daha duyarlı olduğu bildirilmiştir [53]. Marks ve arkadaşları, gebe CD-1 farelere gebeliğin 6-15. günleri boyunca gavajla farklı dozlarda (100, 150, 200 mg/kg va) glisidol uygulamışlar ve bu uygulamanın teratojeniteye neden olmadığını bildirmişlerdir [54]. Slott ve Hales ise gebe SD sıçanların amniyotik sıvısına gebeliğin 13. gününde glisidol enjekte edilmesi sonucunda fetüslerin önemli bir kısmında malformasyonların indüklediği ve embriyoların öldüğünü bildirmişlerdir [55].

Glisidol, IARC tarafından olası karsinogen (Grup 2A) grubunda sınıflandırırken ; glisidil oleat ve glisidil stearat insanda karsinogenik etkisi olmayanlar grubunda (Grup 3) sınıflandırılmıştır [64]. Glisidolun gen mutasyonları ve programlanmamış DNA sentezine yol açtığı bildirilmiştir [56]. Kronik glisidol uygulaması sıçan ve farelerin çeşitli dokularında tümör insidansını arttırmıştır. Sıçanlarda günlük 10.2 mg/kg (va) glisidol neoplastik etkiler ortaya çıkmasına neden olmuştur [8]. Glisidole maruz kalan sıçan ve farelerde tümör insidansında artış görülmüştür. GE'nin ise glisidole göre daha düşük genotoksisite potansiyeli gösterdiği, ortalama ve en yüksek düzeyde maruz kalan bireyler için maruziyet sınırının (Margin of Exposure: MOE) sırasıyla 17.800 ve 10.900 bulunduğu bildirilmiştir [46].

p16Ink4a/p19Arf transgenik farelere 40 hafta boyunca haftada beş kez 0, 25, 50, 100, 200 mg/kg (va) glisidol uygulanmıştır. Erkek farelerde alveolar/bronşiyolar adenom insidansı artarken, dişi farelerde bu adenomlarla ilişkili karsinogenik aktivite görülmüştür. Ayrıca her iki cinsiyette ön mide hiperplazisi ve beyinde nöronopati bulgularına rastlanmıştır [10]. Guo ve arkadaşları, dişi B6C3F1 farelere 14 gün boyunca oral gavajla 25, 125 ve 250 mg/kg glisidol uygulamış; glisidolun bu farelerde immunosupresif etkili olabileceğini bildirmiştir [57]. Irwin ve arkadaşları [58] erkek ve dişi F344/N sıçanları 2 yıl boyunca günlük 37.5, 75 mg/kg va (5 gün/hafta) ve B6C3F1 fareleri 0, 25, 50 mg/kg glisidole maruz bırakmıştır. Neoplazma insidansının farelerde ve sıçanlarda birçok dokuda doza bağlı olarak arttığı bulunmuştur. Glisidol uygulanan sıçanlarda neoplastik hastalıkların indüksiyonu nedeniyle yaşam süresi kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azalmıştır. Erkek sıçanlarda erken ölümlerin temel nedeninin periton metastazı ve tunika vajinaliste artan mezotelyomalar, dişi sıçanlarda ise meme bezi neoplazmaları olduğu bulunmuştur. Farelerde ise erkeklerde ön mide, dişilerde meme bezi neoplazma insidansını arttırdığı bildirilmiştir. Lijinsky ve Kovatch [59] erkek ve dişi Suriye altın hamsterına 12 mg glisidol (2 doz/hafta) uygulamıştır. 60 hafta süren çalışmada; her iki cinsiyette bazı tümörler gözlenmiş, adrenal korteks tümörlerinde kontrole göre anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Ancak hayatta kalma oranında kontrol grubuna göre anlamlı bir fark bulunmamıştır. Sıçan ve

fareler ile kıyaslandığında glisidolun hamsterlar üzerinde daha az karsinogenik etki gösterdiği vurgulanmıştır.

Glisidolun çeşitli memeli hücrelerinde genetik mutasyonları, kromozomal aberasyonları, MN oluşumu, kardeş kromatid değişimi (Sister Chromatid Exchange: SCE) ve programlanmamış DNA sentezi gibi birçok genotoksik etkiyi indüklediği bulunmuştur. Sıçan böbrek epitel hücrelerinde (NRK-52E), 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyumbromür (MTT) ve nötral kırmızı yöntemleri kullanılarak glisidolun sitotoksik potansiyeli değerlendirilmiş ve IC₅₀ değerleri sırasıyla 1.67 mM ve 1.13 mM bulunmuştur. 100 µM ve 500 µM konsantrasyonlarda 48 saatlik maruziyet sonrasında DNA metilasyonunda azalma tespit edilmiştir. Metilasyon spesifik polimer zincir reaksiyonu (PCR-MSP) yöntemi ile c-myc ve Rassf1a'nın promotör bölgelerinde metilasyon değişiklikleri gözlenirken, gerçek zamanlı PCR yöntemi sonucuna göre c-myc ve Rassf1a gen ekspresyonlarında değişiklik görülmemiştir. e-Cadherin, p16, VHL ve p15 genleri ise CpG promotör bölgelerinde metillenmemiştir. Glisidolun toksisitesinin değerlendirilmesinde DNA metilasyonunda gerçekleşen bu farklılıkların önemli olabileceği rapor edilmiştir [60].

Aasa ve arkadaşları [61], CHO hücrelerinde Hipoksantin Guanin Fosforibozil Transferaz yöntemini kullanarak glisidolun mutajenik potansiyelini araştırmıştır. Glisidol, zincir kırıklarını indüklemiş ve indüklenen lezyonların replikasyon çatal uzamasını geciktirdiği bildirilmiştir. Ancak bu çalışmada mutajenik etkiye neden olan DNA hasarının türü bulunamamıştır. Glisidol ve glisidol linoleatın (GL) genotoksik potansiyeli bakteriyal ters mutasyon, *in vitro* kromozomal aberasyon ve *in vivo* kemik iliği MN testi kullanılarak araştırılmıştır. Bakteriyal ters mutasyon testi *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 ve *E. coli* WP2uvrA suşlarında uygulanmış, 5000 µg/plaka kadar hiçbir suşta herhangi bir bakteriyal toksisite/çökme görülmemiştir. Glisidol, kromozomal aberasyon testinde yapısal kromozom aberasyonlarını indüklerken; GL indüklememiştir. Her iki maruziyet de kemik iliğinde MN'li olgunlaşmamış eritrositlerde anlamlı bir artışa yol açmamıştır. Toksikokinetik veriler de göz önüne alındığında GL'nin tek başına genotoksik potansiyel göstermediği bildirilmiştir [62].

Glisidolun, CHO hücrelerinde SCE oluşumunu indüklediği bildirilmiştir. S9-karışım yokluğunda, 1.11-15 µg/mL konsantrasyon aralığında güçlü pozitif sonuçlar elde edilirken, S9-karışım varlığında 11.1-150 µg/mL aralığında pozitif sonuçlar elde edilmiştir. Fare lenfoma L5178Y/TK hücrelerinde düşük konsantrasyon glisidol mutasyon indükleyici etki gösterirken, S9-karışım yokluğunda 5-40 ng/mL aralığında konsantrasyona bağlı cevap elde edilmiştir [49]. Glisidolun genotoksik potansiyelini değerlendirmek amacıyla 0-120 mg/kg (va) glisidol uygulanan BalbC farelerin periferik kanında doza bağlı olarak MN oluşumu ve hemoglobin adaktlarının indüklediği bulunmuştur [63]. El Ramy ve arkadaşları [23] çalışmalarında glisidolün CHO hücrelerinde DNA hasarını indüklediğini bulmuştur.

SONUÇ

Gıda güvenliği gerek halk sağlığı, gerekse ekonomik boyutu nedeniyle giderek önem kazanmaktadır. 3-MCPD, 2-MCPD ve bunların esterleri ve GE gibi, gıda veya gıda işlem kaynaklı bulaşanlar gıda kaynaklı hastalıkların ortaya çıkması açısından dikkate değer düzeyde önemli bileşiklerdir. Bu bileşiklerin en fazla palm yağı olmak üzere tüm bitkisel yağlarda, margarinlerde ve işlenmiş gıdalarda ve hatta bebek mamalarında bulunması toplumda her kesim ve yaş grubundan tüketicinin kolaylıkla maruz kalabileceğini göstermektedir. Tüm bunlara bağlı olarak gıda güvenliği otoriteleri tarafından 3-MCPD, 2-MCPD ve bunların esterleri ve GE gibi ısıtma işlem kaynaklı gıda bulaşan miktarlarının azaltılması hususunda yeni stratejiler geliştirilmesi gerektiği belirtilmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Gökırmaklı, Ç., Bayram, M. (2018). Gıda için gelecek öngörüler: Yıl 2050. *Akademik Gıda*, 16(3), 351-360.
- [2] EFSA Journal, (2016). Chemicals in Food. Overview of selected data collection. https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/corporate_publications/files/161215chemicalsinfoodreport.pdf (Erişim tarihi: Aralık 2018)
- [3] Seefeldt, 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.
- [4] Abraham, K., Appel, K., Berger-Preiss, E., Apel, E., Gerlin, S., Mielke, H., Creutzenberg, O., Lampen, A. (2013). Relative oral bioavailability of 3-MCPD from 3-MCPD fatty acid esters in rats. *Archives of Toxicology*, 87, 649-59.
- [5] Cho, W.S., Han, B.S., Lee, H., Kim, C., Nam, K.T., Park, K., Choi, M., Kim, S.J., Kim, S.H., Jeong, J., Jang, D.D. (2008). Subchronic toxicity study of 3-monochloropropane-1,2-diol administered by drinking water to B6C3F1 mice. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 1666-73.
- [6] Cho, W.S., Han, B.S., Nam, K.T., Park, K., Choi, M., Kim, S.H., Jeong, J., Jang, D.D. (2008). Carcinogenicity study of 3-monochloropropane-1,2-diol in Sprague-Dawley rats. *Food Chem Toxicol*, 46, 3172-77.
- [7] Federal Institute for Risk Assessment, (2007). BfR opinion 047/2007. Infant formula and follow-up formula may contain harmful 3-MCPD fatty acid esters. http://www.bfr.bund.de/cm/349/infant_formula_and_follow_up_formula_may_contain_harmful_3_mcpd_fatty_acid_esters.pdf.
- [8] EFSA Journal, (2016). Scientific Opinion: Risk for human health related to the presence of 3- and 2-monochloropropanediol (MCPD), and their fatty acid esters, and glycidyl fatty acid esters in food. EFSA Panel on Contaminants in Food Chain (CONTAM). *EFSA Journal*, 14(5), 4426, 159 p.

- [9] Türk Gıda Kodeksi, Bulaşanlar Yönetmeliği, (2011). <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-8.htm>.
- [10] National Toxicology Program (NTP), (2007). National Toxicology Program, Toxicology and carcinogenesis studies of glycidol (CAS No. 556-52-5) in genetically modified haploinsufficient p16Ink4a/p19Arf mice (gavage study). Technical Report Series No. 13. National Institutes of Health Publication No. 08-5962. Research Triangle Park, NC.
- [11] Appel, K., Abraham, K., Berger-Preiss, E., Hansen, T., Apel, E., Schuchardt, S., Vogt, C., Bakhiya, N., Creutzenberg, O., Lampen, A. (2013). Relative oral bioavailability of glycidol from glycidyl fatty acid esters in rats. *Archives of Toxicology*, 87, 1649-1659.
- [12] Lee, B.Q., Khor, S.M. (2015). 3-Chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) in soy sauce: A review on the formation, reduction, and detection of this potential carcinogen. *The Comprehensive Reviews in Food Science App*, 14(1), 48-66.
- [13] Velisek, J., Davidek, J., Kubelka, V., Janicek, G., Svobodova, Z., Simicova, Z. (1980). New chlorine-containing organic compounds in protein hydrolysates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28(6), 1142-1154.
- [14] Baer, I., de la Calle, B., Taylor, P. (2010). 3-MCPD in food other than soy sauce or hydrolysed vegetable protein (HVP). *Anal Bioanal Chem*, 396(1), 443-456.
- [15] Crews, C., Breerton, P., Davies, A. (2001). The effects of domestic cooking on the levels of 3-monochloropropanediol in foods. *Food Additives & Contaminants*, 18(4), 271-280.
- [16] Edwards, N., Jones, A.R., Waites, G.M.H. (1975). The entry of α -chlorohydrin into body fluids of male rats and its effect upon incorporation of glycerol into lipids. *Journal of Reproduction and Fertility*, 43, 225-232.
- [17] Barocelli, E., Corradi, A., Mutti, A., Petronini, P.G. (2011). Comparison between 3-MCPD and its palmitic esters in a 90-day toxicological study. *EFSA Supporting Publications*, 8(9), 1-131. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/sp.efsa.2011.EN-187/pdf>.
- [18] Li, J., Wang, S., Wang, M., Shi, W., Du, X., Sun, C. (2013). The toxicity of 3-chloropropane-1,2-dipalmitate in Wistar rats and a metabolomics analysis of rat urine by ultra-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Chemico-Biological Interactions*, 206, 337-345.
- [19] Onami, S., Cho, Y., Toyoda, T., Mizuta, Y., Yoshida, M., Nishikawa, A., Ogawa, K. (2014). A 13-week repeated dose study of three 3-monochloropropane-1,2-diol fatty acid esters in F344 rats. *Archives of Toxicology*, 88, 871-80.
- [20] Jones, A.R. (1983). Antifertility actions of alpha-chlorohydrin in the male. *Australian Journal of Biological Sciences*, 36, 333-350.
- [21] Stevenson, D., Jones, A. (1984). The action of (R)- and (S)- α -chlorohydrin and their metabolites on the metabolism of boar sperm. *International Journal of Andrology*, 7, 79-86.
- [22] WHO, (2002). 3-Chloro-1, 2-Propandiol, WHO Food Add. Ser. 48 Geneva, Switzerland. p. 401-432.
- [23] El Ramy, R., Ould Elhkim, M., Lezmi, S., Poul, J.M. (2007). Evaluation of the genotoxic potential of 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) and its metabolites, glycidol and beta-chlorolactic acid, using the single cell gel/comet assay. *Food and Chemical Toxicology*, 45(1), 41-48.
- [24] Robjohns, S., Marshall, R., Fellows, M., Kowalczyk, G. (2003). *In vivo* genotoxicity studies with 3-monochloropropan-1,2-diol. *Mutagenesis*, 18(5), 401-404.
- [25] Scientific Committee on Food (SCF), (2001). Opinion on 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD), updating the SCF opinion of 1994 adopted on 30 May 2001. <http://ec.europa.eu>.
- [26] Zeiger, E., Erson, B., Haworth, S., Lawlor, T., Mortelmans, K. (1988). Salmonella mutagenicity tests: IV. Results from the testing of 300 chemicals. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 11(12), 1-157.
- [27] Jeong, J., Han, B.S., Cho, W.S., Ha, C.S., Lee, B.S., Kim, Y.B., Son, W.C., Kim, C.Y. (2010). Carcinogenicity study of 3-monochloropropane-1, 2-diol (3-MCPD) administered by drinking water to B6C3F₁ mice showed no carcinogenic potential. *Archives of Toxicology*, 84, 719-729.
- [28] Sunahara, G., Perrin, I., Marchesini, M. (1993). Carcinogenicity study on 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) administered in drinking water to Fischer 344 rats. Report No RE-SR 93003, Nestec Ltd, Research & Development, Switzerland.
- [29] Lynch, B.S., Bryant, D.W., Hook, G.J., Earle, N.R., Ian, C.M. (1998). Carcinogenicity of monochloro-1,2-propanediol (α -chlorohydrin, 3-MCPD). *International Journal of Toxicology*, 17, 47-76.
- [30] Liu, M., Gao, B.Y., Qin, F., Wu, F.F., Shi, H.M., Luo, W., Ma, A.N., Jiang, Y.R., Xu, X.B., Yu, L.L. (2012). Acute oral toxicity of 3-MCPD mono- and di-palmitic esters in Swiss mice and their cytotoxicity in NRK-52E rat kidney cells. *Food and Chemical Toxicology*, 50(10), 3785-3791.
- [31] Lee, J.K., Byun, J.A., Park, S.H., Kim, H.S., Park, J.H., Eom, J.H., Oh, H.Y. (2004). Evaluation of the potential immunotoxicity of 3-monochloro-1, 2-propanediol in Balb/c mice: I. Effect on antibody forming cell, mitogen-stimulated lymphocyte proliferation, splenic subset, and natural killer cell activity. *Toxicology*, 204, 1-11.
- [32] Sun, J., Bai, S., Bai, W., Zou, F., Zhang, L., Su, Z., Zhang, Q., Ou, S., Huang, Y. (2013). Toxic mechanisms of 3-monochloropropane-1,2-diol on progesterone production in R2C rat Leydig cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 9955-9960.
- [33] Buhrke, T., Frenzel, F., Kuhlmann, J. (2015). 2-Chloro-1,3-propanediol (2-MCPD) and its fatty acid esters: cytotoxicity, metabolism, and transport by human intestinal Caco-2 cells. *Archives of Toxicology*, 89, 2243-2251.
- [34] Ozcaglı, E., Alpertunga, B., Fenga, C., Bertkas, M., Tsitsimpikou, C., Wilks, M.F., Tsatsakis, A.M. (2016). Effects of 3-monochloropropane-1,2-diol (3-

- MCPD) and its metabolites on DNA damage and repair under *in vitro* conditions. *Food and Chemical Toxicology*, 89, 1-7.
- [35] Peng, X., Gan, J., Wang, Q., Shi, Z., Xia, X. (2016). 3-Monochloro-1,2-propanediol (3-MCPD) induces apoptosis via mitochondrial oxidative phosphorylation system impairment and the caspase cascade pathway. *Toxicology*, 372, 1-11.
- [36] 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.
- [37] Marchesini, M., Huggett, A. (1992). The acute toxicity of 2-chloropropan-1,2 diol (up and down test) Unpublished report No. FS-RN920011 submitted to WHO by Nestec Ltd, Research & Development, Switzerland.
- [38] Jones, A.R., Fakhouri, G. (1979). Epoxides as obligatory intermediates in the metabolism of a-halohydrins. *Xenobiotica*, 9, 595-599.
- [39] Perrin, I., Marchesini, M., Sunahara, G. (1994). Repeated dose oral toxicity 28 day gavage in Sprague Dawley rats of 2 chloropropan-1,3 diol (2-MCPD). Unpublished report No. RE-SR94026 submitted to EFSA by Nestec Ltd, Research & Development, Switzerland.
- [40] 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.
- [41] Frei, H., Würzler, F.E. (1997). The vicinal chloroalcohols 1,3-dichloro-2-propanol (DC2P), 3-chloro-1,2-propanediol (3-CPD) and 2-chloro-1,3-propanediol (2-CPD) are not genotoxic *in vivo* in the wing spot test of *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research*, 394, 59-68.
- [42] National Institute of Standards and Technology (NIST) Chemistry WebBook, SRD 69, (2017). <http://webbook.nist.gov/cgi/inchi/InChI%3D1S/C3H6O2/c4-1-3-2-5-3/h3-4H%2C1-2H2>, (Erişim tarihi: Aralık 2018).
- [43] Habermeyer, M., Guth, S., Eisenbrand, G. (2011). Identification of gaps in knowledge concerning toxicology of 3-MCPD and glycidol esters. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113, 314-318.
- [44] Cheng, W., Liu, G., Wang, L., Liu, Z. (2017). Glycidyl fatty acid esters in refined edible oils: a review on formation, occurrence, analysis, and elimination methods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16.2, 263-281.
- [45] Hamlet, C.G., Asuncion, L., Velisek, J., Dolezal, M., Zelinkova, Z., Crews, C. (2011). Formation and occurrence of esters of 3-chloro-1,2-propanediol (3-CPD) in foods: what we know and what we assume. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113, 279-303.
- [46] Food Safety Commission of JAPAN (FSCJ) (2015). Considerations on Glycidol and Its Fatty Acid Esters in Foods. *Executive summary*, 3(2), 67-69.
- [47] Cooper, E.R.A., Jones, A.R., Jackson, H. (1974). Effects of a-chlorohydrin related compounds on the reproductive organs and fertility of the male rat. *Journal of Reproduction and Fertility*, 38, 379-386.
- [48] Brown-Woodman, P.D.C., White, I.G., Ridley, D.D. (1979). The antifertility activity and toxicity of a-chlorohydrin derivatives in male rats. *Contraception*, 19, 517-529.
- [49] NTP, (1990). Toxicology and carcinogenesis studies of glycidol (CAS No. 556-52-5) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies). Technical Report Series No. 374. National Institutes of Health Publication No. 90-2829. Research Triangle Park, NC.
- [50] Kawashima, M., Watanabe, Y., Nakajima, K., Murayama, H., Nagahara, R., Jin, M., Yoshida, T., Shibutani, M. (2017). Late effect of developmental exposure to glycidol on hippocampal neurogenesis in mice: Loss of parvalbumin-expressing interneurons. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 69(7), 517-526.
- [51] Akane, H., Saito, F., Shiraki, A., Imatanaka, N., Akahori, Y., Itahashi, M., Wang, L., Shibutani, M. (2014). Gene expression profile of brain regions reflecting aberrations in nervous system development targeting the process of neurite extension of rat offspring exposed developmentally to glycidol. *Journal of Applied Toxicology*, 34(12), 1389-1399.
- [52] Akane, H., Shiraki, A., Imatanaka, N., Akahori, Y., Itahashi, M., Abe, H., Shibutani, M. (2014). Glycidol induces axonopathy and aberrations of hippocampal neurogenesis affecting late-stage differentiation by exposure to rats in a framework of 28-day toxicity study. *Toxicology Letters*, 224(3), 424-432.
- [53] Akane, H., Shiraki, A., Imatanaka, N., Akahori, Y., Itahashi, M., Ohishi, T., Mitsumori, K., Shibutani, M. (2013). Glycidol induces axonopathy by adult-stage exposure and aberration of hippocampal neurogenesis affecting late-stage differentiation by developmental exposure in rats. *Toxicological Sciences*, 134(1), 140-54.
- [54] Marks, T.A., Gerling, F.S., Staples, R.E. (1982). Teratogenic evaluation of epichlorohydrin in the mouse and rat and glycidol in the mouse. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 9(1), 87-96.
- [55] Slott, V.L., Hales, B.F. (1985). Teratogenicity and embryo lethality of acrolein and structurally related compounds in rats. *Teratology*, 32, 65-72.
- [56] Bakhia, N., Abraham, K., Gürtler, R., Appel, K.E., Lampen, A. (2011). Toxicological assessment of 3-chloropropane-1,2-diol and glycidol fatty acid esters in food. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55, 509-521.
- [57] Guo, T.L., Mc Cay, J.A., Brown, R.D., Musgrove, D.L., Butterworth, L., Munson, A.E., Germolec, D.R., White, K.L. (2000). Glycidol modulation of the immune responses in female B6C3F1 mice. *Drug and Chemical Toxicology*, 23(3), 433-457.
- [58] Irwin, R.D., Eustis, S.L., Stefanski, S., Haseman, J.K. (1996). Carcinogenicity of glycidol in F344 rats and B6C3F1 mice. *Journal of Applied Toxicology*, 16(3), 201-209.

- [59] Lijinsky, W., Kovatch, R.M. (1992). A study of the carcinogenicity of glycidol in Syrian hamsters. *Toxicol Ind Health*, 8(5), 267-271.
- [60] Senyildiz, M., Alpertunga, B., Ozden, S. (2017). DNA methylation analysis in rat kidney epithelial cells exposed to 3-MCPD and glycidol. *Drug and Chemical Toxicology*, 40(4), 432-439.
- [61] Aasa, J., Vare, D., Motwani, H.V., Jenssen, D., Törnqvist, M. (2016). Quantification of the mutagenic potency and repair of glycidol-induced DNA lesions. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*, 805, 38-45.
- [62] Ikeda, N., Fujii, K., Sarada, M., Saito, H., Kawabata, M., Naruse, K., Yuki, K., Nakagiri, H., Honda, H., Tamaki, Y., Nishiyama, N., Kasamatsu, T. (2012). Genotoxicity studies of glycidol fatty acid ester (glycidol linoleate) and glycidol. *Food Chem Toxicol*, 50(11), 3927-3933.
- [63] Aasa, J., Abramsson-Zetterberg, L., Carlsson, H., Törnqvist, M. (2017). The genotoxic potency of glycidol established from micronucleus frequency and hemoglobin adduct levels in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 100, 168-174.
- [64] IARC, (2000). Some Industrial Chemicals. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, vol. 77, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France, pp. 1-529.
-