



SELÇUK
ÜNİVERSİTESİ

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**BAZI KIZARTMA YAĞLARINDA BULUNAN
2-MCPD, 3-MCPD ve GE MİKTARLARININ
KROMATOĞRAFİK METOTLARLA TAYİNİ**

Oktay KALKAN

YÜKSEK LİSANS

Kimya Anabilim Dalı

Aralık-2018
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Oktay KALKAN tarafından hazırlanan “Bazı Kızartma Ya larında Bulunan 2-MCPD, 3-MCPD ve GE Miktarlarının Kromatografik Metotlarla Tayini” adlı tez' çalı ması 18/12/2018 tarihinde a a ıdaki jüri tarafından oy birli i ile Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda YÜKSEK L SANS olarak kabul edilmiştir.

İmza

Jüri Üyeleri

Başkan

Prof. Dr. Hüseyin KARA

Danışman

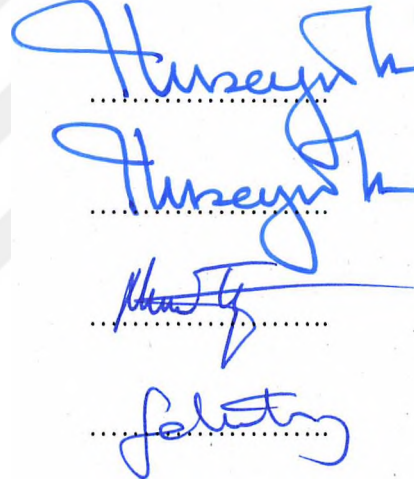
Prof. Dr. Hüseyin KARA

Üye

Doç. Dr. Mustafa TOPKAFA

Üye

Öğr. Üy. Dr. Fatih DURMAZ



Yukarıdaki sonucu onaylıyorum.

Prof. Dr. Mustafa YILMAZ
FBE Müdürü

Bu tez çalışması Selçuk Üni. BAP Komisyonu tarafından 18201088 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.



Oktay KALKAN

Tarih: 19.12.2018

ÖZET**YÜKSEK LİSANS TEZİ****BAZI KIZARTMA YAĞLARINDA BULUNAN 2-MCPD, 3-MCPD ve GE MİKTARLARININ KROMATOĞRAFİK METOTLARLA TAYİNİ****Oktay KALKAN****Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı****Danışman: Prof. Dr. Hüseyin KARA****2018 - 68 Sayfa****Jüri****Prof. Dr. Hüseyin KARA****Doç. Dr. Mustafa TOPKAFA****Öğr. Üye. Dr. Fatih DURMAZ**

Bu tez çalışmasında; insan sağlığı açısından karsinojenik ve genotoksik etkiye sahip olduğu bilinen ve bitkisel yağların rafinasyonu veya kızartma işlemi sırasında ortaya çıkan 3-monokloropropaniol (3-MCPD), 2-monokloropropaniol (2-MCPD) ve glisidil esterlerinin (GE) ayçiçek yağı ile yapılan kızartma işlemlerindeki oluşumlarının incelenmesi amaçlanmıştır.

Kızartma işlemleri sırasında 3-MCPD, 2-MCPD ve GE türlerinin oluşumuna neden olan sıcaklık, süre ve tuz miktarı parametreleri, merkezi kompozit tasarımı yardımıyla belirlenmiş ve bu şartlardaki oluşum miktarlarının tespiti resmi olarak yayınlanmış AOCS metodu kullanılarak GC-MS cihazında SIM modunda yapılmıştır. Araştırma sonuçları göz önünde bulundurulduğunda, en yüksek 3-MCPD (0.30 mg/kg), 2-MCPD (0.09 mg/kg) ve GE (0.72 mg/kg) türlerinin 40 dk süre, 180 °C sıcaklık ve 300 mg/100mL tuz miktarının olduğu en ağır şartlarda görülmüştür. Ayrıca merkezi kompozit tasarımda, 3-MCPD (0.05 mg/kg) için 26 dk süre, 175 °C sıcaklık, 200 mg tuz miktarı, 2-MCPD (0.01 mg/kg) için 60 dk süre, 166 °C sıcaklık, 200 mg/100mL tuz miktarı ve GE (0.06 mg/kg) miktarı için 60 dk süre, 175 °C sıcaklık ve 31 mg tuz miktarı olduğu şartlarda bu kirleticilerin miktarları en düşük seviyelerde tespit edilmiştir.

EFSA'nın günlük vücuda alınması gereken MCPD esterlerinin maksimum tolere edilebilir miktarı (2µg/kg) göz önünde bulundurulduğunda, yapılan tez çalışmasında kızartma işlemlerinde bu türlerin düşük miktarlarda oluştuğu gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: 2-MCPD, 3-MCPD, GE, Ayçiçek, Merkezi Kompozit Tasarımı, Kromatografi

ABSTRACT**MS THESIS****DETERMINATION OF QUANTITIES OF 2-MCPD, 3-MCPD AND GE IN
SOME FRYING OILS BY CHROMATOGRAPHIC METHODS****Oktay KALKAN****THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN CHEMISTRY****Advisor: Prof. Dr. Hüseyin KARA****2018, 68 pages****Jury****Prof. Dr. Hüseyin KARA****Assoc. Prof. Dr. Mustafa TOPKAFA****Asst. Prof. Fatih DURMAZ**

The aim of this study was to investigate the formation of 3-monochloropropanediol (3-MCPD), 2-monochloropropanediol (2-MCPD) and glycidyl esters (GE), which are known to have a carcinogenic and genotoxic effect on the human health and formed during the refining or frying of vegetable oils, in sunflower oil frying processes.

The parameters of temperature, duration time and salt amount which caused formation of 3-MCPD, 2-MCPD and GE species during frying operations were determined with the help of central composite design and the amount of formations in these conditions were determined by using the officially published AOCS method with GC-MS in SIM mode. Considering the results of the study; the highest 3-MCPD (0.30 mg/kg), 2-MCPD (0.09 mg/kg) and GE (0.72 mg/kg) species were observed in the hardest conditions with 40 min., 180 °C and 300 mg/100mL salt amount. The amounts of 3-MCPD in 26 min., 175 °C, 200 mg salt amount, 2-MCPD in 60 min., 166 °C and 200 mg/100mL salt amount and GE in 60 min, 175 °C and 31 mg salt amount were found at the lowest level in central composite design.

In the thesis study, it was observed that MCPD species formed in low amounts in the frying process with sunflower oil considering the maximum tolerable amount (2µg/kg) of these species in the EFSA report.

Keywords: 2-MCPD, 3-MCPD, GE, Sunflower, Central Composite Design, Chromatography,

ÖNSÖZ

Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Hüseyin KARA danışmanlığında hazırlanarak, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne Yüksek Lisans Tezi olarak sunulan bu çalışma, S.Ü. BAP tarafından 18201088 nolu proje ile desteklenmiştir.

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmanın planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda ilgi ve desteğini benden esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren ilmî ve ahlaki sorumluluk bilincimin gelişmesine büyük katkı sağlayan kıymetli hocam Prof. Dr. Hüseyin KARA Beyefendi'ye minnetlerimi sunarım.

Bana faydalı olabilmek için ellerinden gelenin fazlasını sunan, her sorun yaşadığımda yanlarına çekinmeden gidebildiğim, güler yüzlerini ve samimiyetlerini benden esirgemeyen ve çalışmalarına önemli katkıları olan çok kıymetli hocalarım sayın; Doç. Dr. Hamide Filiz AYYILDIZ' a ve Doç. Dr. Mustafa TOPKAFA' ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım süresince maddî ve manevî yardımlarından ötürü başta, Dr. Öğr. Üyesi Fatih DURMAZ, Arş. Gör. Dr. İsmail TARHAN ve Doktora Öğrencisi Aslan TAŞ'a ayrı ayrı teşekkür ederim.

Her daim yanımda olan, sıkıntı ve sevinçlerimi benimle paylaşan maddî ve manevî desteklerini benden esirgemeyen gerektiği zamanlarda yardımına koşan dostlarım Muhammed Raşit BAKIR, Orhan ARAZ ve Mustafa Enden PEKCİCİ' ye teşekkür ederim.

Son olarak; hayatım boyunca bu günlere gelmem için çok emek harcayan, beni sürekli motive eden çıkmış olduğum bu yolda desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen canım aileme teşekkür ederim iyi ki varsınız.

Son olarak pek yanlarında bulunamadığım zamanların bir telafisi olması ümidiyle yüksek lisans tezimi yeğenlerim Yusuf Toprak KALKAN ve Elif Naz KALKAN'a atfediyorum.

Oktay KALKAN
KONYA-2018

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
1.GİRİŞ	1
1.1. Yağın Tanımı ve Önemi	1
1.2. Ayçiçek Yağı ve Özellikleri	7
1.3. Kızartma İşlemi.....	8
1.3.1. Kızartma İşlemi ile Yağda Görülen Fiziksel ve Kimyasal Değişiklikler	10
1.3.2. Kızartma İşlemi Sırasında Dikkat Edilmesi Gereken Hususlar.....	11
1.4. MCPD ve GE' in Genel Tanımı	11
1.4.1. Fiziksel Özellikleri.....	15
1.4.2. Kimyasal Özellikleri	15
1.4.3. Toksikolojik Etkileri	15
1.4.4. 3-MCPD Miktarının Belirlenmesinde Kullanılan Analiz Yöntemleri.....	16
1.5. Kemometri	18
1.5.1. Kemometri'nin Tanımı ve Analitik Kimyada Önemi.....	18
1.5.2. Yanıt Yüzey Metodu.....	18
1.5.3. Merkezi Kompozit Tasarım	19
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	20
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	24
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	24
3.2. Stok Standartların Hazırlanması	24
3.3. Kalibrasyon Çözeltilerinin Hazırlanması.....	25
3.4. Kızartma İşlemi.....	25
3.5. MCPD ve GE Türlerinin Tespiti.....	28
3.5.1. Yağ Örneklerinin Hazırlanması	28
3.5.2. GC-MS Koşulları.....	31
3.5.3. Sonuçların Hesaplanması.....	31
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	34
4.1. Toplam 3-MCPD (Serbest 3-MCPD, Bağlı 3-MCPD ve GE) Tayinleri	34
4.1.1. Kalibrasyon Eğrisi	34
4.1.2. Kızartma Yağındaki Toplam 3- MCPD Miktarlarının Tespiti ve Üç Boyutlu Grafikler.....	37
4.2. Serbest ve Bağlı Formdaki 3-MCPD Tayinleri	42
4.2.1. Kalibrasyon Eğrisi	42

4.2.2. Kızartma Yağındaki Serbest ve Bağlı 3- MCPD Türlerinin Miktarlarının Tespiti ve Üç Boyutlu Grafikler	42
4.3. Toplam Glisidil Ester Tayinleri	47
4.3.1. Kızartma Yağındaki GE Miktarlarının Tespiti ve Üç Boyutlu Grafikler	48
4.4. Toplam 2-MCPD Tayinleri.....	52
4.4.1. Kalibrasyon Eğrisi	52
4.4.2. Kızartma Yağındaki Toplam 2- MCPD Miktarlarının Tespiti ve Üç Boyutlu Grafikler.....	54
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	61
KAYNAKLAR	64
ÖZGEÇMİŞ	68



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

$W_{2-MCPD(A)}$: 2-MCPD'nin mg/kg cinsinden kütlesi

$W_{d5-2-MCPD(A)}$: 2-MCPD-d5'nin mg/kg cinsinden kütlesi

SF_A : 2-MCPD'nin alanı

SF_{iA} : 2-MCPD-d5'nin alanı

$W_{3-MCPD(A)}$: 3-MCPD'nin mg/kg cinsinden kütlesi

$W_{d5-3-MCPD(A)}$: 3-MCPD-d5'nin mg/kg cinsinden kütlesi

SF_A : 3-MCPD'nin alanı

SF_{iA} : 3-MCPD-d5'nin alanı

$W_{3-MCPD(B)}$: 3-MCPD'nin mg/kg cinsinden kütlesi

$W_{d5-3-MCPD(B)}$: 3-MCPD-d5'nin mg/kg cinsinden kütlesi

SF_B : 3-MCPD'nin alanı

SF_{iB} : 3-MCPD-d5'nin alanı

t: Dönüşüm faktörü

m/z: Kütle /yük oranı

Kısaltmalar

3-MCPD: 3-kloropropan 1,2 diol

3-MCPD-d5: 3-kloro-1,2-propane-1,1,2,3,3-d5-diol

2-MCPD: 2-kloropropan 1,3 diol

2-MCPD-d5: 3-kloro-1,2-propane-1,1,2,3,3-d5-diol

GE: Glisidil ester

GC-MS: Gaz kromatografisi kütle spektrometresi dedektörü

Gly-Pal-d5: Glisidil palmitat-d5

PBA: Fenil boranik asit

CCD: Merkezi kompozit tasarım

AOCS: Amerikan yağ kimyacıları derneği

EFSA: Avrupa gıda güvenliği ajansı

YYM: Yanıt yüzey yöntemi

BBD: Box behnken denklemi

1.GİRİŞ

Kızartma işlemi, geniş bir ürün yelpazesini pişirmek için antik çağlardan beri kullanılan, en önemli yiyecek hazırlama metotlarından bir tanesidir. Kızartılmış yiyecekler, 20. yüzyılın sonlarında hızla büyüyen fast-food endüstri zincirleri yardımıyla önemli ve çok sayıda ürün yelpazesi olması nedeniyle gıda sektörünün vazgeçilmez ve popüler bir ürünü haline gelmiştir. Kızartmış yiyeceklerin lezzeti, dokusu ve görünümü tüketiciler için dikkate alınan en önemli parametreler arasında yer almaktadır (Saguy ve Dana, 2003).

Derin yağ'da kızartma prosesi sırasında oksidatif ve termal ayrışmalar meydana gelebilir, uçucu ve uçucu olmayan yeni türler oluşabilir. Bu ayrışma ürünlerinin vücuda aşırı miktarlarda alımı insan sağlığı açısından oldukça tehlikeli sonuçlar doğurabilmektedir (Chang ve ark., 1978). Bu yeni türlerden biri olan 3-MCPD, ilk defa 1978 yılında asitle hidroliz edilmiş bitkisel proteinlerde ve soya sosu gibi ürünlerde tespit edilmiştir. Bu tarihten itibaren 3-MCPD ve diğer bazı kloropropanol esterleri gıdalarda işlem bulaşanı olarak tanımlanmıştır (Velíšek ve ark., 1978). 3-MCPD oluşumunda ana etken Cl^- iyonu, gliserol, monogliserit, digliserit ve trigliserit varlığıdır. Aynı zamanda sıcaklık ve süre de bu oluşumu etkileyen parametlerin başında gelmektedir (Calta ve ark., 2004).

Avrupa Gıda Güvenliği Ajansı (EFSA), bitkisel yağların rafinasyonu sırasında veya kızartma işlemi sırasında ortaya çıkan 3-MCPD, 2-MCPD ve GE'in insan sağlığı açısından önemli bir tehdit unsuru oluşturduğunu yayınladığı bir raporda belirtmiştir. Yayımlanan raporda bu türlerin oluşumunun temel kaynağı, ortamda bulunan tuz ve klor iyonlarından kaynaklandığı düşünülmüş, bu kirleticilerin insan sağlığı açısından kanser olma riskini arttırdığı belirtilmiştir (Efsa, 2016b).

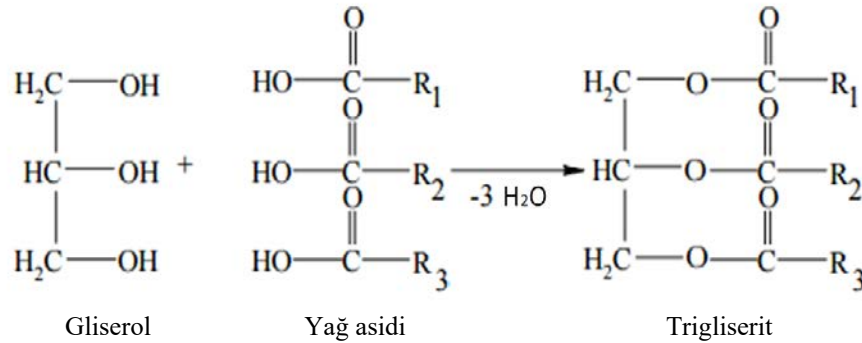
Bu tez çalışmasında; ayçiçek yağı ile yapılan kızartma işleminde, yağlarda oluşumu istenmeyen; 3-MCPD, 2-MCPD ve GE türlerinin miktarlarındaki değişimler kromatografi teknikleri ile tespit edilmiş ve kızartma şartlarının ürün oluşumuna etkisi incelenmiştir.

1.1. Yağın Tanımı ve Önemi

Yağlar, proteinler ve karbonhidratlar gibi insan vücudu için yaşamsal değeri olan ve insanların gerekli olan fizyolojik ihtiyaçlarını sürdürebilmeleri için oldukça önemli temel besin maddelerinden bir tanesidir. İnsan hayatında vazgeçilmez bir yere sahip

olan yağlar, bitkisel ve hayvansal kaynaklı dokularda bulunan, yağ asitlerinin gliserol molekülü ile esterleşmesi sonucu meydana gelen trigliserit yapılarıdır (**Şekil I. 1**) (Ayyıldız, 2010). Yağlar, canlı organizmanın varlığını sürdürebilmesi için en önemli yapı taşıdır, vücuda alındıkları zaman 1 gramında 9 kalorilik bir enerji açığa çıkarmasından dolayı vücudun enerji ihtiyacının önemli bir bölümünü karşılarlar. Saf yağların genel yapıları; karbon (C), hidrojen (H) ve oksijen (O) elementlerinden meydana gelir (Gurur, 2013). Genel olarak suda çözünmeyen, ancak eter, benzen, kloroform gibi organik çözücülerde çözünebilen bileşikler olarak adlandırılmaktadırlar (Özdemir ve Denkbay, 2003).

Bitkisel yağlar, doymuş yağ oranlarının düşük olması, hücre yapısı için gerekli olan elzem yağ asitlerini içermeleri ve insan vücudunda A,D,E,K gibi yağda eriyen vitaminleri çözmeleri gibi özellikleri sayesinde, insan sağlığına katkılarında dolayı ayrı bir öneme sahiptirler (Gadoth, 2008). Yağlar, bitkisel ve hayvansal kaynaklı olarak ikiye ayrılır. Bitkisel yağlar sıvı veya katı olarak bitkilerin çekirdek ve meyvelerinde bulunabilmektedirler. Zeytin, ayçiçeği, soya, pamuk, badem, yer fıstığı ve fındık en önemli bitkisel yağ kaynaklarıdır. Hayvansal yağlar ise, daha çok koyun, sığır ve balıklardan elde edilmektedirler (Megep, 2013).

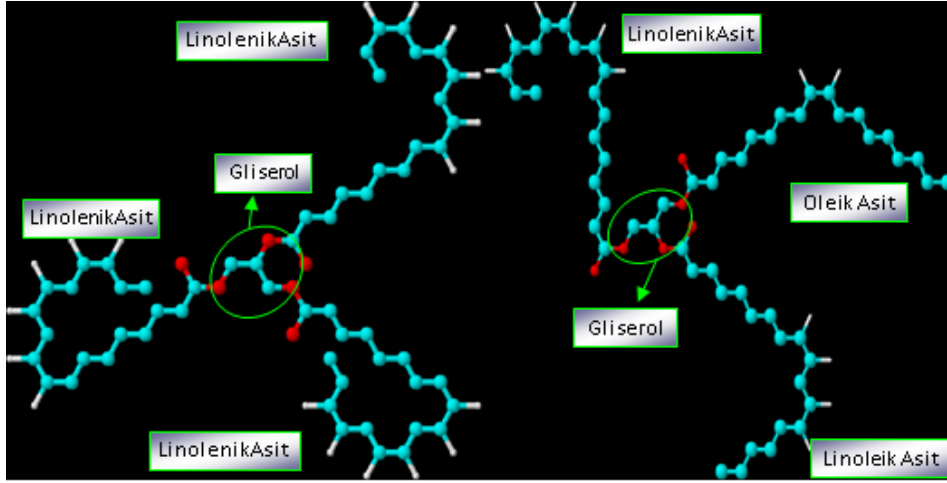


Şekil I. 1 Trigliserit oluşum reaksiyonu (Megep, 2013)

Trigliseritler yağların % 95-99 oluştururken % 1-5 lik kısmını ise minör bileşik olarak nitelendirilen tokoferoller, serbest yağ asitleri, steroller, fosfatitler, fenolik bileşikler, waksar, metaller, renkli maddeler, ester bileşikleri, peroksitler, aldehit ve ketonlar, polimerik maddeler ve insan sağlığını olumsuz yönde etkileyen 3-MCPD, 2-MCPD ve GE'den oluşurlar (Ayyıldız, 2010).

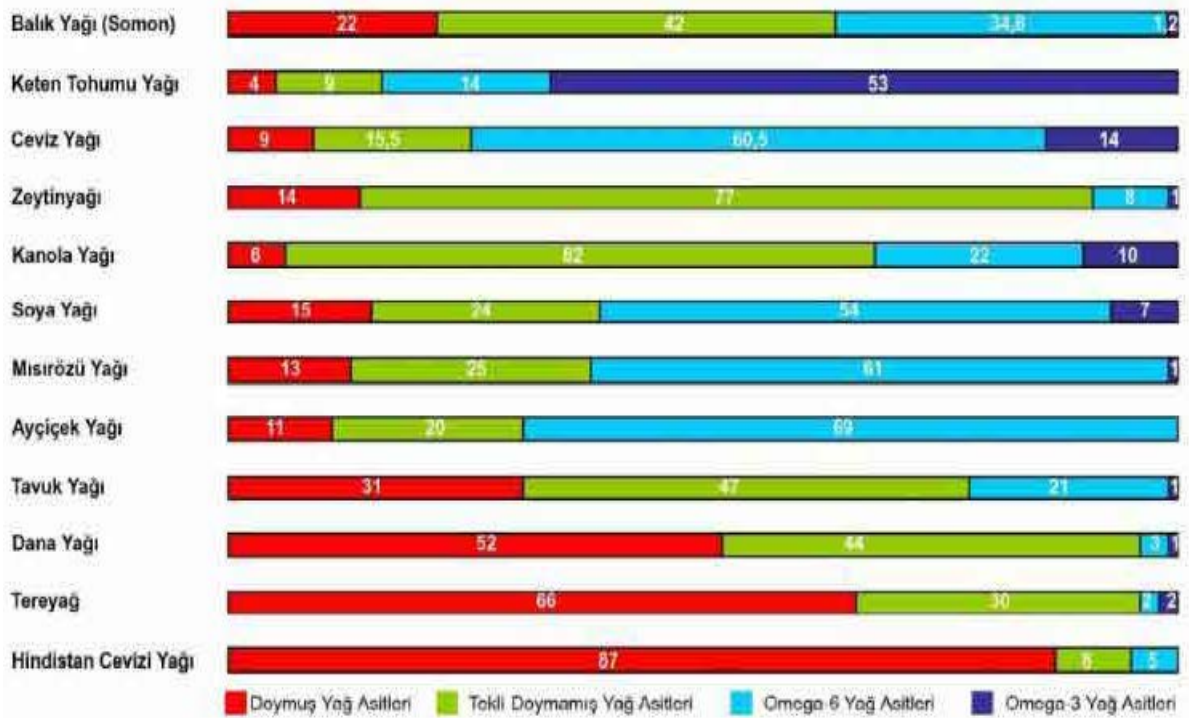
Trigliseritler yapılarındaki yağ asitlerinin kompozisyonuna göre ikiye ayrılırlar. Trigliseriti oluşturan yağ asitlerin hepsi aynı türden ise basit trigliserit olarak, iki veya

üç yağ asidinden oluşuyorsa karışık trigliserit olarak isimlendirilirler (Şekil 1. 2) (Arslan, 2009).



Şekil 1. 2 Basit ve karışık trigliserit yapılar (Ayyıldız, 2010)

Bütün yemeklik ve kızartma yağları kimyasal yönden kökeni her ne olursa olsun, (bitkisel, hayvansal ve deniz ürünleri) gliserol ve yağ asitlerinden oluşur. Gliserol bütün yağlarda aynı forma sahip iken, yağ asitleri her bir yağ için değişik bir kompozisyona sahip olabilmektedir. Bu tanıma göre, yağların fiziksel ve kimyasal özelliklerinin farklılık göstermesinin sebebinin, yağ asitlerinden kaynaklandığı ortaya çıkmaktadır. (Kayahan, 2017).



Şekil 1. 3 Bazı yağlara ait yağ asit kompozisyon % değerleri (Demirkol, 2004)

Hayvan ve insan organizmasında sadece tek çift bağılı yağ asitleri sentezlenebildiğinden birden fazla doymamış bağına sahip olan linoleik, alfa -linolenik ve araşidonik asitler, dışarıdan organizmaya alınması zorunludur. Hayvan ve insan organizmasında sentezlenemeyen ve beslenme yoluyla vücuda alınmaları gerekli olan bu yağ asitlerine, esansiyel yağ asitleri denir (Topkafa, 2004).




Yağ asitlerindeki karbon sayısı 2-34 arasında değişmektedir, karbon sayısı arttıkça kaynama noktaları da artar. Yağ asidi molekülünde karbon sayısı 6 dan az ise “kısa zincirli”, 6-10 arasında ise “orta zincirli” ve 12 ila daha fazla ise “uzun zincirli” yağ asidi olarak bir alt gruplandırma oluşturulabilir (Topkafa, 2013b). Yağlar; içerdikleri yağ asitlerinin doymuşluk derecesine göre doymuş ve doymamış olmak üzere iki gurubu ayrılır. Doymamış yağ asitleri bir çift bağı bulduklarları zaman tekli doymamış yağ asitleri, birden fazla çift bağı içerdiklerinde çoklu doymamış yağ asitleri olarak adlandırılırlar (Sarıkaya, 2010). **Şekil 1. 3**'de bazı yağlara ait yağ asit kompozisyon değerleri ve bu değerlerin yağlarda ne kadar bulunduğu % olarak verilmiştir.

Tablo 1. 1 Doymuş yağ asitleri (Sarıkaya, 2010)

Yağ Asidinin Yaygın Adı	Karbon sayısı ve çift bağı sayısı	Mol Ağ. /g mol ⁻¹	Bulunduğu Yer
Butirik (Butanoik)	C4:0	88.11	Tereyağı
Kaproik (Heksanoik)	C6:0	116.16	Tereyağı
Kaprilik (Oktanoik)	C8:0	144.22	Hindistan cevizi yağı
Kaprik (Dekanoik)	C10:0	172.27	Hindistan cevizi yağı
Laurik (Dodekanoik)	C12:0	200.32	Hindistan cevizi yağı
Miristik (Tetradekanoik)	C14:0	228.38	Hindistan cevizi yağı, tereyağı
Palmitik (Heksadekanoik)	C16:0	256.43	Pek çok katı ve sıvı yağlar
Stearik asit (Octadekanoik)	C18:0	284,48	Hayvansal yağlar
Araşidik (Eikosanoik)	C20:0	312.54	Yer fıstığı yağı
Behenik (Dokosanoik)	C22:0	340.60	Yer fıstığı yağı
Lignoserik (Tetrakosanoik)	C24:0	368.65	Yer fıstığı yağı, kolza yağı

Doymuş yağ asitleri

Doymuş yağ asitlerinin yaygın olarak nerelerde bulunduğu ve zincir uzunluğu arttıkça molekül ağırlığının arttığı **Tablo 1. 1**'de verilmiştir.

 Palmitik asit $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14} \text{COOH}$ $\text{C}_{15}\text{H}_{31} \text{COOH}$	 Stearik asit $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16} \text{COOH}$ $\text{C}_{17}\text{H}_{35} \text{COOH}$	 Araşidik asit $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18} \text{COOH}$ $\text{C}_{19}\text{H}_{39} \text{COOH}$
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Şekil 1. 4 Bazı doymuş yağ asitleri (Megep, 2011b)

Palm ve hindistancevizi yağları gibi bazı yağlar, diğer yağlardan daha yüksek oranda doymuş yağ asidi içerirler. Bu yağlar; doymamış yağ asitleri yüzdeleri içermelerine rağmen, oda sıcaklığında katı halde bulunduğundan dolayı doymuş yağlar olarak adlandırılırlar. Doymuş yağ oranı yüksek bir yağ, pişirme ve kızartma da dahil olmak üzere çok çeşitli gıda imalat uygulamalarında çok daha kararlıdır. Tekli ve çoklu doymamış yağlar doymuş yağlara göre daha az stabildirler, fakat genellikle hidrojenasyon adı verilen bir işlemle stabil hale gelirler. Doymuş yağ asidi oranı yüksek olan yağların iyot sayısı 50'nin altında iken doymamış yağ asidi oranı yüksek olan yağlarınki 100'ün üzerindedir (Topkafa, 2013a).

Doymuş yağ asitlerinin genel özellikleri

- Doymuş yağ asitlerinin karbon sayısı 4-32 arasında değişir,
- Çoğunluğu hayvansal kökenlidir,
- Erime noktaları karbon sayısı (zincir uzunluğu) arttıkça yükselir,
- Karbon atomları arasında çift bağ bulunmaz,
- 8 karbonluya kadar olanları oda sıcaklığında sıvıdır. Daha fazla karbonlu olanlar ise katıdır,
- En çok bilinen doymuş yağ asitleri 16 karbonlu palmitik asit, 18 karbonlu stearik ve 20 karbonlu araşidik asittir (**Şekil 1. 4**) (Megep, 2011b)

Doymamış yağ asitleri;






Doymamış yağ asitlerinin cis formu molekülde bükülmeye yol açarken trans formu doymuş yağ asitlerinin düz zincirine benzer özellik göstermektedir. Bu nedenle aynı sayıda karbon, hidrojen ve oksijen atomlarına sahip olan cis ve trans izomerlerin üç boyutlu yapıları, fiziksel ve kimyasal özellikleri farklıdır. Trans yağ asitleri bitkisel sıvı

yağların kısmen hidrojenasyonu ile oluştuğu gibi bunun yanı sıra geviş getiren hayvanların iškembelerinde bulunan bakteriler yoluyla da doğal olarak oluşmaktadır (Megep, 2011a).

Doymamış yağ asitlerinin, doğada genellikle doymuşlara göre daha fazla bulunduğu bilinmektedir (**Tablo 1. 2**). Özellikle oleik ve linoleik asit doğada en fazla bulunan yağ asitleridir. Ancak bu yağ asitlerinin çift bağ sayısı arttıkça oksidasyona uğrama hızı da paralel olarak artmaktadır. Tekli doymamış bir yağ asidinin oksidasyon hızı bir iken, çoklu doymamış bir yağ asidinin yaklaşık iki yüz kata kadar daha hızlı oksidasyona uğradığı bilinmektedir (Topkafa, 2013b).

Tablo 1. 2 Doymamış yağ asitleri (Sarıkaya, 2010)

Yağ Asidinin Yaygın Adı	Karbon ve çifte bağ sayısı	Mol Ağ. /g mol ⁻¹	Bulunduğu Yer
Palmitoleik (9-heksadesenoik)	C16:1	254.42	Bazı balık ve sığır yağlarında
Petroselinik (cis-6-oktadesenoik)	C18:1	282.47	Maydanoz tohum yağı
Oleik (cis-9-oktadesenoik)	C18:1,cis	282.47	Pek çok katı ve sıvı yağlar
Elaidik (trans-9-oktadesenoik)	C18:1,trans	282.47	Pek çok hayvansal yağlarda
Vaksenik (11-oktadesenoik)	C18:1,cis	282.47	Pek çok hayvansal yağlarda
Linoleik (cis-9,12-oktadesenoik)	C18:2	280.46	Pek çok bitkisel sıvı yağlar
Linoleik (trans-9,12-oktadesenoik)	C18:2	280.46	Pek çok bitkisel sıvı yağlar
Linolenik (cis-9,12,15-oktadekatrienoik)	C18:3	278.44	Soya yağı, keten ve kenevir yağları
Gadoleik (9-eikosenoik)	C20:1	310.53	Bazı balık yağlarında
Gondoic cis-11-eikosenoik	C20:1	310.53	Bazı balık yağları
Araşidonik (cis-5,8,11,14-eikosatetraenoik)	C20:4	304.48	Domuz yağı
Timnodonik (cis-5,8,11,14,17eikosapentaenoik)	C20:5	302.46	Bazı balık yağları
Erusik (cis-13-dokosaenoik)	C22:1	338.58	Düşük erusik asitli kolza yağı
Klupanodonik (4,8,12,15,18,21dokosaheksaenoik)	C22:6	324.47	Bazı balık yağları
Nervonik (cis-15-tetrakosenoik)	C24:1	366.62	Bazı balık yağları

				
Oleik asit	Erüsik asit	Linoleik asit	Linolenik asit	Araşidonic asit
[C18H34O2]	[C22H42O2]	[C18H32O2]	[C18H30O2]	[C20H32O2]
1 çift bağ	1 çift bağ	2 çift bağ	3 çift bağ	4 çift bağ

Şekil 1. 5 Bazı doymamış yağ asitleri (Megep, 2011a)

Doymamış yağ asitlerinin özellikleri

- Bitkisel kökenlidirler
- Oda sıcaklığında sıvıdırlar
- Yapılarında bir çift bağ içeren yağ asitlerine tekli doymamış yağ asidi denir,
- Birden fazla çift bağ bulundurabilirler, (Şekil 1. 5)
- Doymamış yağların yüksek sıcaklık ve basınç altında hidrojenle doyurulmasıyla margarinler elde edilir (Megep, 2011a).

1.2. Ayçiçek Yağı ve Özellikleri

Ayçiçeği (*Helianthus annuus*) çiçekli bitkilerin en geniş familyalarından biri olan Asteraceae (Compositae) familyasındandır. Ayçiçeği ilk olarak M.Ö. 3000'lerde Orta ve Kuzey Amerika'da ortaya çıkmıştır. İspanyol kaşif Monardes bu bitkiyi 1569'da Avrupa'ya getirmiştir. Burada Hintliler tarafından yemek ve saç yağı için kullanılmıştır (El Bassam, 2010).

Ayçiçeği dünyada ve ülkemizde en önemli yağ bitkilerinden biri olup, ülkemizde Trakya bölgesinde çoğunlukla yağlık olarak yetiştirilir. Dünyada ayçiçeği yaklaşık 23 milyon ton civarında üretilmektedir (Megep, 2013). Türkiye'de ekimi yapılan yağ bitkileri arasında ise birinci sırayı ayçiçeği almaktadır. Ayçiçeğinin fazla sıcaklığa ihtiyaç duymaması ve geniş adaptasyon kabiliyeti sayesinde ülkemizin hemen hemen her bölgesinde tarımı yapılabilir (İlbaş ve ark., 1996).

Tablo 1. 3 Ayçiçek tohumunun özelliği (Yazicioğlu ve Karaali, 1983)

Kabuk	% 26 - 35
İç	% 65 - 74
Nem	% 6 - 11
Yağ	% 39 - 45

Ayçiçek tohumunun içeriği incelendiğinde yağ miktarının en yüksek olduğu bilinmektedir (**Tablo 1. 3**). Ayçiçek yağı, oda sıcaklığında sıvı halde bulunur. Ayrıca katı yağ üretiminde yaygın kullanım alanı bulan ayçiçek yağı temiz ve hafif yağ kokusuyla açık sarı renkli bir yağdır (Tokuşoğlu, 2017). Ayçiçek yağının % 15'i doymuş yağ asidi, % 85 ise doymamış yağ asitinden oluşmaktadır; % 1-7 sterarik, % 4-9 palmitik, % 48-74 linoleik ve % 14-40 oleik asittir (Tokuşoğlu, 2017).

Ayçiçek ham yağı üretiminin yan ürünü olan yağsız kúspe hayvan yemi üretiminde sıklıkla kullanılmaktadır. Yüksek protein içeriği sahip olmasından dolayı ayçiçeği kúspesi oldukça değerli bir yan ürün konumundadır.

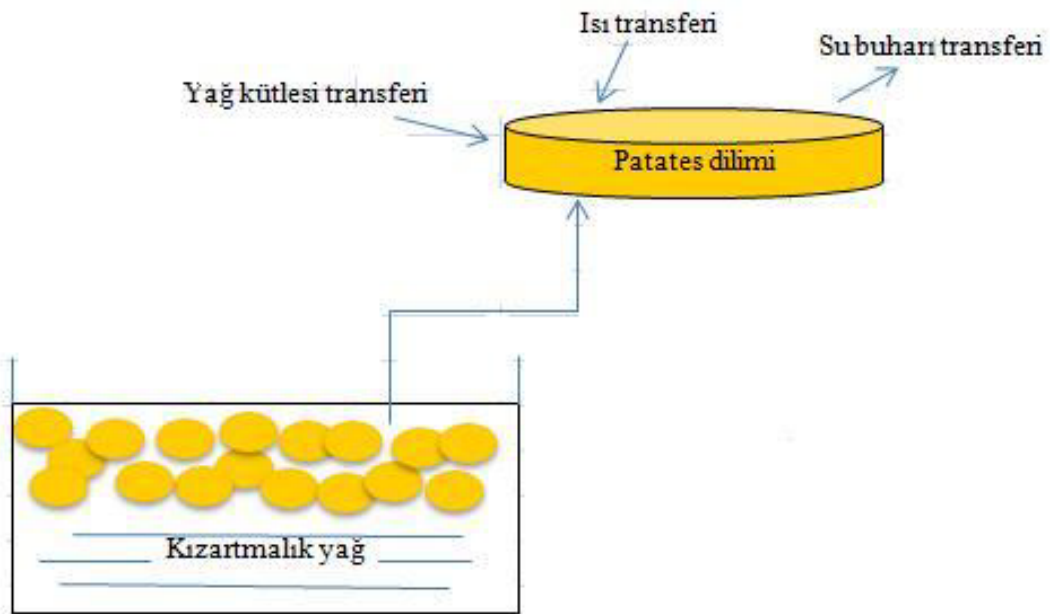
1.3. Kızartma İşlemi

Bitkisel ve hayvansal ürünleri daha fazla lezzetli hale getirmek için yiyeceklerin hazırlanma metotlarından bir tanesi de kızartma işlemidir (Vitrac ve ark., 2000). Kızartma işlemi genellikle işlenmiş gıdalarda eşsiz tat ve doku yaratma kabiliyeti nedeniyle geleneksel pişirme tekniklerinden daha hızlı, daha verimli ve daha basit bir yöntemdir ve hem restoranlarda hem de endüstride sıklıkla tercih edilmektedir (Bengtsson ve Jakobsson, 1974; Gertz, 2014).

Geniş bir ürün çeşitliliğine sahip olan hazır gıdalar ve kızartılmış yiyeceklerin tüketimi, her yıl belirgin bir şekilde artmaktadır. Bu sebeple kaliteli kızartma ürünlerinin elde edilmesi, kızartma sektörü için son derece önem arz etmektedir (Arslan, 2009). Tüketicilerin gıda, beslenme ve sağlık arasındaki ilişkilere dair farkındalıklarının artmasına rağmen, kızartılmış ürünler sıklıkla tüketilmektedir (Saguy ve Dana, 2003). Kızartma işlemi için özellikle tercih edilen doymuş yağlar, koroner kalp hastalığı, kanser, diyabet ve hipertansiyon gibi sağlık risklerini artıran bir faktör olarak kabul edilmektedir. Yine de, yüksek kalori değerlerinin yanı sıra; kızartılmış yiyeceklerin, pişirme ve haşlama gibi diğer pişirme yöntemleriyle karşılaştırıldığında daha fazla

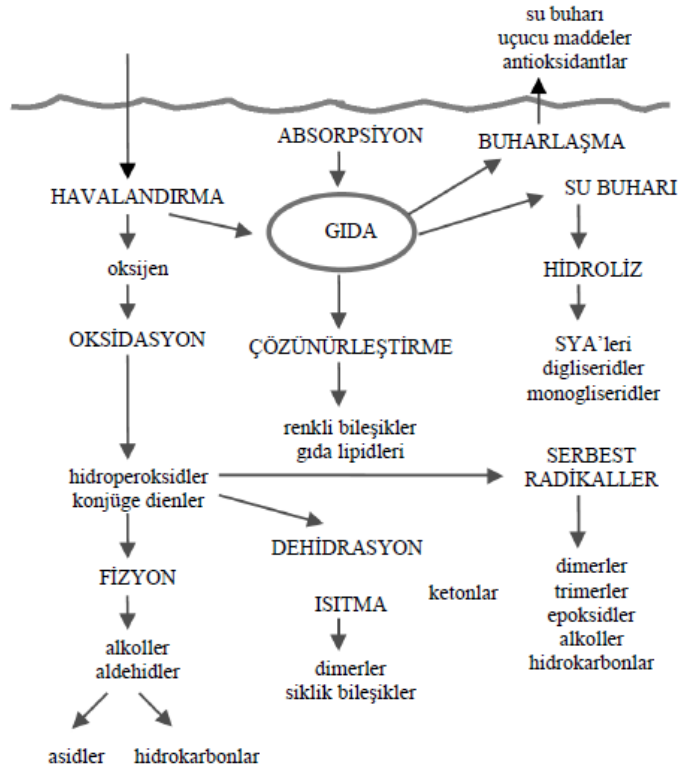
tercih edildiği görülmektedir (Saguy ve Dana, 2003). Bunun sebebi, kızartma prosesinde kullanılan yüksek sıcaklıkların (160-180°C) gıdanın proteinler ve karbonhidratlar gibi gıda bileşenlerinin kabuk yüzey dehidrasyonu ve yağ alımı arasındaki reaksiyonları teşvik etmesi, haşlanmış ve pişirilmiş yiyeceklerden çok daha lezzetli olmasıdır (Perkins, 2007).

Kızartma işlemi, gıda ile kızartma maddesi arasındaki eş zamanlı ısı ve kütle aktarımından dolayı karmaşık bir işlemdir ve bu işlem sırasında ısı, konveksiyon yoluyla yağdan gıdaya aktarılır. Isıtma ortamı ve gıda arasındaki sıcaklık farkı arttıkça, pişirme işlemi içindeki ısı transferi çok daha hızlı artmaktadır. Su ve hava ile dolu gözeneklere sahip olan gıda ürünü sıcak yağa daldırıldıktan hemen sonra, yüzeydeki su çok hızlı bir şekilde buharlaşır ve yüzeyde şiddetli bir kabarcıklanma ve kuruma meydana gelir. Köpüren hava ve yağ arasındaki temas alanı genişler ve böylece yağ ve hava arasındaki ısı transferini ve yağın oksidatif bozunmasını hızlandırır (Costa ve ark., 1999; Farinu ve Baik, 2005; Gertz, 2014).



Şekil 1. 6 Kızartma süresince ısı kütle transferi (Wu ve ark., 2013)

Şekil 1. 6’da kızartma süresince patates dilimi ve yağ arasındaki ısı transfer kütlesi gösterilmiştir. Kızartma işleminde yağların özellikle yüksek ısı kararlılığına, ve düşük doymuş yağ asit içeriğine sahip olması istenir (Gertz, 2004).



Şekil 1. 7 Kızartma esnasında yağda meydana gelen reaksiyonlar (Fritsch, 1981)

Kızartma yağları yüksek sıcaklıklarda kimyasal değişimlere maruz kaldığı için, fritözden çıkartılan kızartılmış gıdaların, tüketicileri toksikolojik, mutajenik ve aşırı kilo gibi sağlık risklerine maruz bıraktığı bilinmektedir (Vitrac ve ark., 2000). Kızartma yağlarında; oksidasyon, polimerizasyon, hidroliz ve piroliz gibi kimyasal reaksiyonların sonucunda oluşan 500'den fazla farklı kimyasal bileşik tespit edilmiştir (Şekil 1. 7). Bu bileşikler arasında; yeni keşfedilen ve insan sağlığını olumsuz yönde etkileyen 3-MCPD, 2-MCPD ve GE de bulunmaktadır. Bu reaksiyon ürünlerinin tipleri ve miktarları bir kızartma işleminden diğerine göre değişiklik gösterebilir. Kızartma işleminin kalitesini artırmak için, mümkün olduğunca en kısa sürede işlemi bitirmek sıcaklığı azaltmak veya Cl⁻ iyonlarının minimum seviyede kullanılması gerekmektedir (Gertz, 2004).

1.3.1. Kızartma İşlemi ile Yağda Görülen Fiziksel ve Kimyasal Değişiklikler

- Serbest yağ asit değeri artar,
- İyot sayısı azalır,
- Erime noktası ve dumanlanma noktası düşer,
- Yağın viskozitesi artar

- Yağ acılaştır ve köpürür,
- Kızartma işleminden sonra yağın rengi kararır,
- Kızartma yağının besin değeri azalır (E vitamini değerinin azalması sonucu kızartılan gıdadaki C vitamini miktarı da azalır),
- Yağlarının sindirimi güçleşir (Megep, 2011b).

1.3.2. Kızartma İşlemi Sırasında Dikkat Edilmesi Gereken Hususlar

- Yağ kızgın olmalıdır ve derin kapta kızartma yapılmalıdır,
- Bitkisel yağlar kullanılmalıdır,
- İçine antioksidan katılmış özel kızartma yağları tercih edilmelidir,
- Tereyağı kullanılmamalıdır. Çünkü dumanlanma noktası düşüktür (Megep, 2011b).



Şekil 1. 8 Kızartılmış patates cipsi

Kızartma işleminde farklı çeşitlerde bitkisel yağlar kullanılmaktadır. Bu yağlar arasında bulunan zeytinyağı yapısında oleik asit bulunması, pahalı oluşu ve çabuk bozunması gibi sebeplerden dolayı kızartma işleminde çok tercih edilmemektedir. Ancak ayçiçek, mısır özü, pamuk gibi yağların yapısında linoleik asit miktarının fazla olmasından dolayı bu yağlar çok daha fazla tercih edilmektedirler. Ayrıca bu yağların dumanlama noktası zeytinyağından daha yüksektir (Gurur, 2016).

1.4. MCPD ve GE' in Genel Tanımı

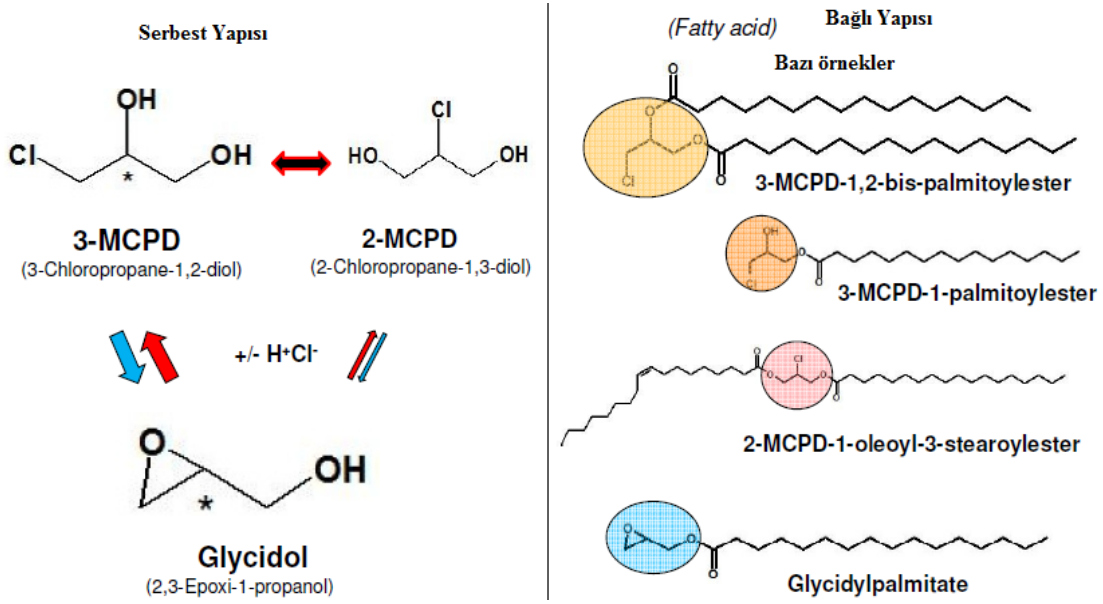
3-monokloropropan-1,2-diol (3-MCPD) ilk defa 1978 yılında asitle hidroliz edilmiş, lezzet arttırıcı gıda maddesi olarak kullanılan hidrolize bitkisel protein (HVP) ve soya sosu gibi ürünlerde tespit edilmiştir. Bu tarihten itibaren 3-MCPD ve diğer bazı kloropropanol esterleri gıdalarda oluşumu istenmeyen işlem bulaşanı olarak kabul

edilmektedir (Velíšek ve ark., 1978). MCPD esterlerinin başlıca ısıl işlem görmüş yağlar, birçok gıda ürünü, bitkisel protein, soya sosu, kraker, ekmek, unlu mamüller, malt, çorbalar, kızartma yağları ve daha pek çok gıda ürünlerinde bulunduğu tespit edilmiştir (Weißhaar, 2008b).

Gıdalarda serbest (diol) ya da ester formunda bulunan kloropropanoller, çeşitli konfigürasyonlarda bir veya iki klor atomuna sahip olan, gliserolün, klorlu türevleridir (Velíšek ve ark., 1978). Bu kloropropanoller arasında bulunan başlıca bileşikler, 2,3-dikloropropan-1-ol (2,3-DCP), 3-monokloropropan-1,2-diol (3-MCPD), 2-monokloropropan-1,3-diol (2MCPD) ve bunların yağ asit esterleridir (Velíšek ve ark., 1978; Davidek ve ark., 1980). Glisidil ester (2,3-epoksi-1-propanol) ise, 3-MCPD'den dehalojenasyon yoluyla oluşabilmektedir (Andres ve ark., 2013).

3-MCPD, kloropropanol adı verilen gıda kirleticileri arasında en yaygın olarak bilinen bileşendir. Gıdaların işlenmesi sırasında açığa çıkan 3-MCPD miktarı son yıllarda arttığından dolayı günlük olarak bu kirleticilere ne kadar maruz kaldığımız son derece önem arz etmektedir. Kloropropanol esterleri, genellikle gıdalarda 3-MCPD'den çok daha düşük konsantrasyon seviyelerinde bulunur. Bu sebeple gıdalarda 3-MCPD miktarının tespiti diğer kirleticilere göre çok daha fazla önem arz etmektedir (Baer ve ark., 2010).

Avrupa Gıda Güvenliği Ajansı (EFSA) tarafından yayınlanan bir raporda 3-MCPD, 2-MCPD ve GE'in insan sağlığı için tehdit oluşturduğu belirtilmiştir. Bu gıda kirleticilerinin rafine bitkisel yağlarda, kızartma yağlarında ve daha birçok hazır gıda ürününde bulunduğu rapor edilmiş ve günlük tolere edilebilir MCPD esterlerinin maksimum miktarı $2 \mu\text{g kg}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Ayrıca yayınlanan raporda, bu gıda kirleticilerinin yüksek miktarlarda tüketilmesi sonucu kanser olma riskini de arttırdığı dile getirilmiştir (Efsa, 2016b). Bu konuda in vitro ve in vivo birçok çalışma yapılmış ve GE'lerin insanlarda muhtemel genotoksik ve kanserojen (2A Grubu) etkisine sahip iken, 3-MCPD'nin genotoksik olmayan olası kanserojen (2B Grup) etkiye sahip olduğu belirtilmiştir. Ancak 2-MCPD için herhangi bir sınıflandırma henüz yapılmamıştır (Thomas Wenzl, 2015). **Şekil 1. 9**'da serbest ve bağlı formda bulunan bazı kloropropanollerin yapısı gösterilmiştir.



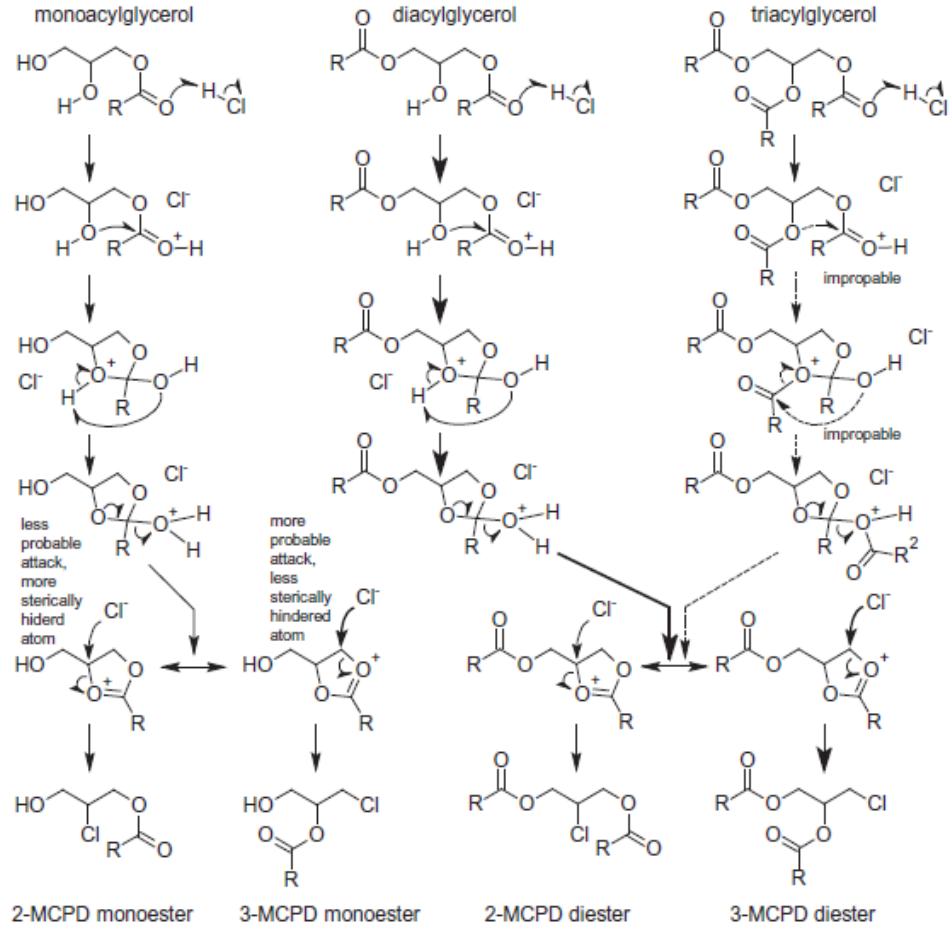
Şekil 1. 9 3-mcpd-2-mcpd ve Ge in serbest ve bağlı yapısı (Kuhlmann, 2015)

3-MCPD esterleri, özellikle yağların rafinasyon prosesinin bir basamağı olan deodorizasyon kademesinde yüksek sıcaklık ve düşük basınçta oluşmaktadırlar. Şimdiye kadar elde edilen veriler doğrultusunda, 3-MCPD esterlerinin azaltılması için rafinasyon sürecinin optimize edilmesi ve rafine ürün kalitesinin değişmeden kalması tavsiye edilmiştir. Rafinasyon işleminin optimizasyonun oldukça zahmetli bir iş olması ve yağın gerekli saflaştırma aşamaları ile proses kaynaklı kirletici maddelerin oluşumu arasında bir dengeleme eylemi mevcuttur. Bu soruna çözüm bulabilmek için 3-MCPD esterlerinin oluşum mekanizmalarının daha iyi anlaşılması gerekmektedir (Larsen, 2009).

Şekil 1. 10'da verilen reaksiyonlar göz önüne alındığında mono-, di- ya da tri açilgliserollerden bir su molekülü ayrıldıktan sonra bir siklik oksonyum iyonu oluşmaktadır. Klorür anyonu ile nükleofilik süstitüsyondan sonra oksonyum iyonu 2 yada 3-MCPD di esterini oluşturur. 3-MCPD esterlerinin oluşumu için ana faktörler; klorür iyonları, gliserol, tri-, di- veya mono-gliseritlerin yanı sıra sıcaklık ve zamandır. Özellikle, yağdaki artan miktarlarda mono- ve di- gliseritler, 3-MCPD esterlerinin artan oluşumu ile doğrusal bir korelasyon göstermektedir (Larsen, 2009).

Gıdalarda 3-MCPD oluşum mekanizması üzerine yapılan bir çalışmada; gliserol, triolein, soya lesitini ve sodyum klorür (NaCl) varlığında farklı su aktivitesine sahip ısıtılmış işlem uygulanmış ürünlerin simülasyonu sonucu oluşan 3-MCPD miktarları araştırılmıştır. Oluşturulan modelde gliserol, triolein, lesitin bileşiklerinin farklı oranlarda su ve NaCl ile karışımı kullanılmış ve bu karışımlar farklı sıcaklıklarda ısıtılmıştır.

işleme tabi tutulup 3-MCPD miktarının en yüksek oranda NaCl içeriğine bağlı olduğu belirlenmiştir. Sıcaklık artışının 100 °C- 200 °C düzeyinde gerçekleştirildiği durumda 3-MCPD miktarında artış gözlenmiştir (Calta ve ark., 2004).



Şekil 1. 10 MCPD esterlerinin oluşum mekanizması (Šmidrkal ve ark., 2016)

Bu kirleticilerin etkisini azaltmak ve kalite kontrol stratejilerinin uygulanması için, hem yağlar hem de yağ bazlı gıda ürünlerinde, miktarlarının belirlenmesi için güvenilir prosedürlerin geliştirilmesi gerekmektedir. Bu nedenle gıda analizlerine yönelik güvenilir ve hızlı bir metodolojinin oluşturulması, aynı zamanda gıda üretim koşullarının bu kirletici maddelerinin seviyelerindeki etkilerini incelemek için çok değerli bir amaç teşkil edecektir (Ermacora ve Hrnčirik, 2014).

1.4.1. Fiziksel Özellikleri

3-MCPD, oda sıcaklığında 1.32 g/cm³ yoğunluğuna ve 760 mm-Hg' basınçta 213 °C kaynama noktasına sahip olan renksiz veya açık sarı, viskoz bir sıvıdır. 3-MCPD, hidroskopik bir yapıya sahip olmasından dolayı, su, metanol, etanol, kloroform ve etil asetat dahil olmak üzere orta yüksek polariteye sahip organik çözücüler içinde oldukça iyi çözünür. 2-MCPD de benzer, hidroskopik bir yapıya sahip olduğundan sıcaklığında renksiz veya açık sarı bir sıvıdır. 1.3 g/cm³ yoğunluğa ve 760 mm-Hg' basınçta 213 °C kaynama noktasına sahiptir. GE ise oda sıcaklığında renksiz bir sıvı olup, suda ve çoğu polar çözücüde iyi çözünür (Efsa, 2016b).

1.4.2. Kimyasal Özellikleri

3-MCPD bir kiral moleküldür ve prokiral L-gliserolden elde edilen (R) - ve (S) - enantiyomerlerin karışımı olarak bulunur. Enantiyomerlerin biyolojik aktivitesi farklılık gösterebilmektedir (Efsa, 2016b). 3-MCPD, asit alkoller, aldehytler, amonyak, amino bileşikler, ketonlar ve tiyoller ile kolayca reaksiyona girebilir (Velíšek ve ark., 1991). 2-MCPD'nin bu bileşikler ile reaksiyonları da benzer şekildedir. Bu kirleticiler yağın rafinasyonunda deodorizasyon basamağının yüksek sıcaklık koşulları altında gerçekleşmesiyle oluşmaktadırlar. 3-MCPD ve 2-MCPD'nin hidroksil grubunda farklı yağ asitleri bulunabilir (Efsa, 2016b).

1.4.3. Toksikolojik Etkileri

Günümüzde 3-MCPD esterleri ve glisidil esterlerinin kullanılabilir toksikolojik verileri sınırlıdır, glisidil stearat ile yapılan çalışmada ilk sonuçlar, bir bakteriyel mutajenik uygulamalardan elde edilmiştir. Mutajenite için çoğu bakteri tahlili 3-MCPD ile pozitif sonuçlar göstermiş, ancak memeli dokusunda eksojen bir metabolik aktivasyon sisteminin varlığında negatif sonuçlar elde edilmiştir (Tritscher, 2004). Sindirim sırasında MCPD ve GE'lerin serbest hale geçmeleri ile ilgili tehlikeli olabilecekleri yönünde temel toksikolojik endişeler bulunmaktadır (Efsa, 2016b).

İnsanlarda olabilecek, MCPD ve GE'in toksikolojik etkisinin endişe sebebi ise, sıçanlarda yapılan in vitro araştırmalardan elde edilen bulgulara göre, sindirim sisteminde sindirilmeleri sırasındaki serbest hale geçmelerinin tümöre neden olmasıdır (Efsa, 2016b).

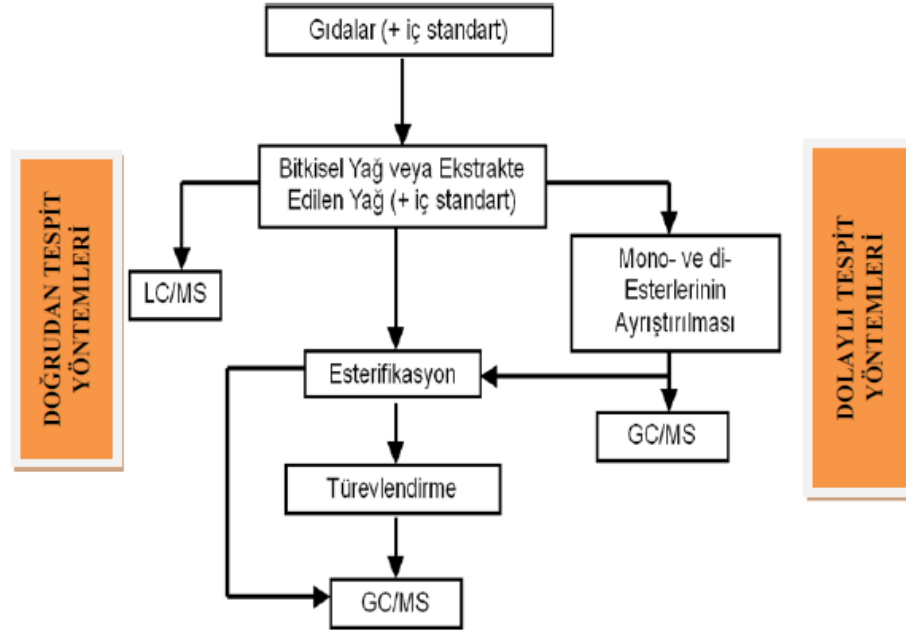
Sindirim sisteminde pankreatik lipaz enzimi aktivitesi ile bağılı formdaki mono ve diesterlerin tamamı serbest formdaki 3- MCPD'ye hidrolize olduğundan, toplam ester miktarının tespit edilmesi önem kazanmıştır (Seefelder et al., 2008).

1.4.4. 3-MCPD Miktarının Belirlenmesinde Kullanılan Analiz Yöntemleri

3-MCPD esterlerinin miktarının belirlenebilmesi için birçok analiz yöntemleri geliştirilmeye çalışılmıştır. Bu yöntemler; analiz prensiplerine göre dolaylı ve doğrudan analiz yöntemleri olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Özdikicierler, 2016).

Doğrudan analiz yöntemleri MCPD yağ asidi esterlerinin transesterifikasyon aşaması olmadığı yöntemlerdir. Doğrudan analiz yönteminde, katı faz ekstraksiyon kartuşu ile ön saflaştırma işlemi gerçekleştirildikten sonra sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi (LC-MS) cihazına enjeksiyonu şeklinde doğrudan analizler yapılmaktadır. Doğrudan yöntemlerin hem daha kolay hem de daha basit olduğu düşünülebilir. Fakat uygulamada metodolojinin uygulanması zor olduğu için ve her bir MCPD esteri için referans standart maddesinin bulunmaması sebebiyle veri analizlerinin yorumlanması güçleşmektedir. Doğrudan yöntemlerin dezavantajlarından dolayı geliştirilmiş olan yeni yöntemlerde, MCPD esterlerinin asidik veya bazik ortamda esterleşmesi sonucu elde edilen serbest 3-MCPD'nin tespit edilmesi yolu izlenmektedir (Crews ve ark., 2013; Karabulut, 2015; Turan ve ark., 2018).

Dolaylı analiz yöntemlerinden biri olan AOCS-Cd 29c-13 yönteminde MCPD yağ asidi esterinin serbest 2- ve 3-MCPD'ye dönüştürülmektedir. Bu metotta yağ örneğine iç standart ilavesi (3-MCPD-d5) yapılır. Yağ örneğinin bazik ortamda sodyum hidroksit çözeltisi ile transesterifikasyonu yapıldıktan sonra asidik tuz ilavesi ile reaksiyon durdurulur. Elde edilen serbest 2- ve 3-MCPD türlerinin fenil boronik asit ile türevlendirmesi yapılarak GC-MS analizi gerçekleştirilir (Crews ve ark., 2013; Turan ve ark., 2018).



Şekil 1. 11 3-MCPD analiz yöntemleri(Karabulut, 2015)

Alman Yağ Bilimi Topluluğu (DGF) tarafından DGF C VI 18(10) yayınlanan metot ile 2-MCPD, 3-MCPD ve GE'leri gaz kromatografisi (GC) ile belirlenebildiği ve bu türlerin kütle spektrofotometresi (MS) ile de tanımlanabildiği belirtilmektedir. Bu metota göre yağ örneğinin bazik ortamda sodyum metoksi çözeltisi ile transesterifikasyonu sonucu, reaksiyonun amonyum sülfat ile durdurulması ile açığa çıkan serbest 2-MCPD ve 3-MCPD türlerinin GC-MS ile analizine dayanmaktadır (Weiβhaar, 2008a; Özdikicierler, 2016).

Tablo 1. 4. Yağlarda 3-MCPD miktarının belirlenmesinde kullanılan analiz yöntemleri (Özdikicierler, 2016)

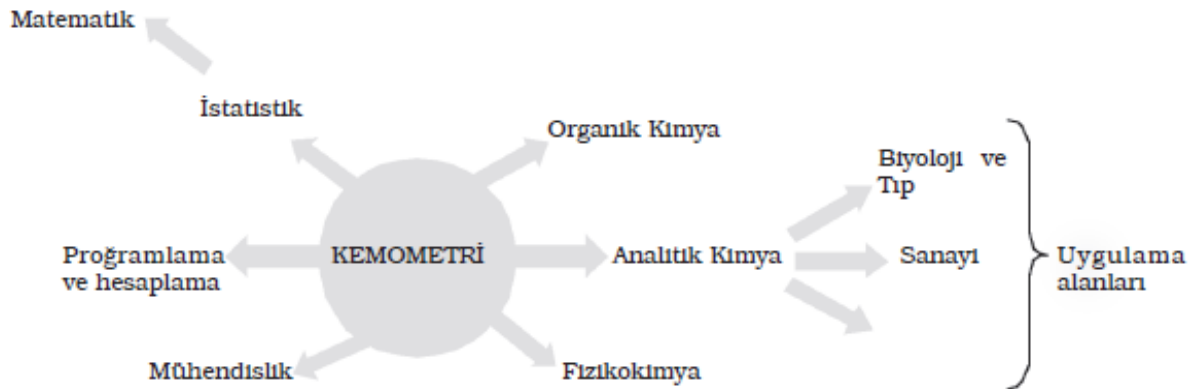
Referans	Yıl	Analiz Yöntemi
Weiβhaar	2008	Gaz Kromatografisi Kütle Spetkrofotometresi Dedektörü (GC/MS)
Leon et al.	2008	Yüksek Hacimli Gaz kromatografisi (LVI) ile MS/MS dedektörü
Karasek et al.	2011	Gaz Kromatografisi Kütle Spetkrofotometresi Dedektörü (GC/MS)
Hori et al.	2012	Süperkritik Akışkan ekstraksiyonu ve Çift MS/MS Spektrofotometresi
Razak et al.	2012	Gaz Kromatografisi Kütle Spetkrofotometresi Dedektörü (GC/MS)
Zhao et al.	2012	Sıvı fazlı mikroekstraksiyon (LPME) ve Manyetik katı faz ekstraksiyonu (MSPE)

1.5. Kemometri

1.5.1. Kemometri'nin Tanımı ve Analitik Kimyada Önemi

Kemometri, kimyadaki uygulamaları için matematiksel ve istatistiksel yöntemler ile birlikte bilgisayar ve yazılımların kullanıldığı bir yöntemdir. Kemometri ilk defa, 1972 yılların başında Bruce R. Kowalski ve Svante Wold tarafından ileri sürülmüştür (Dinç, 2007).

Kemometrik yöntem, yapılacak olan analizlerin hızlı bir şekilde, doğru, kesin ve güvenilir sonuçları kısa sürede elde etmek için esnek ve çok yönlü çözümler sunmasından dolayı kimyacılar tarafından sıklıkla kullanılmaktadır. Çalışmalar sonucu yayınlanan bilimsel araştırmalar, problemlerin çözümü için gelişmiş analitik cihazlardan elde edilen verilerin kolay işlenmesinden dolayı kemometrik yöntemlerin en büyük kullanıcılarının analitik kimyacılar olduğunu göstermiştir (Dinç, 2007). Kemometrinin ilişkili olduğu çalışma alanları **Şekil 1.12.** verilmiştir.



Şekil 1.12. Kemometrinin ilişkili olduğu uygulama alanları (Dinç, 2007).

1.5.2. Yanıt Yüzey Metodu

İstatistiksel ve matematiksel yöntemlerin kullanıldığı bağımsız değişkenlerin bağımlı değişkenlere değerine optimize etmek için kullanılan yöntemlere yanıt yüzey yöntemi (YYM) denir. Bu yöntem de bağımsız değişkenler faktör olarak, bağımlı değişkenler ise yanıt olarak adlandırılırlar. Bu tasarımlardan elde edilen ikinci derecede model denklemlerden yanıt yüzey grafikleri elde edilir ve optimum noktaya ulaşmak için Merkezi Kompozit Tasarım (CCD) ve Box Behnken (BBD) tasarımları kullanılır (Myers ve Montgomery, 1995; Özçelik, 2013).

1.5.3. Merkezi Kompozit Tasarım

Optimum değerlerin bulunması için Box Behnken tasarımı (BBD) veya Merkezi Kompozit Tasarım (CCD) kullanıldığı tasarımlarda merkezi kompozit tasarım 3 ya da 5 seviyeli iken, Box-Behnken tasarımı da sadece 3 seviyeli yapılabilmektedir. Merkezi kompozit tasarımı için deney sayısını belirten formül aşağıda belirtilmiştir (Matthias, 1999; Özçelik, 2013).

$$\text{Deney sayısı} = 2^k + 2k + 1$$

Merkezi noktaların olduğu 0 seviyesindeki noktalar için seviye ve faktörler belirlediğimiz verilerin minimum ve maksimum değerlerin ortalaması alınarak hesap edilir. 0 seviyesindeki merkezi noktalar, deneysel hataların tespiti için 4-6 kez tekrarlanması gerekmektedir (Matthias, 1999; Özçelik, 2013).

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

3-MCPD ilk defa 1978 yılında asitle hidroliz edilmiş, hidrolize bitkisel protein (HVP) ve soya sosu gibi ürünlerde tespit edilmiştir. Bu tarihten itibaren 3-MCPD ve diğer bazı kloropropanol esterleri gıdalarda oluşumu istenmeyen işlem bulaşanı olarak kabul edilmektedir (Velíšek ve ark., 1978). Gıdaların işlenmesi sırasında açığa çıkan 3-MCPD miktarı son yıllarda arttığından dolayı günlük olarak bu kirleticilere ne kadar maruz kaldığımız son derece önem arz etmektedir (Baer ve ark., 2010). 3-MCPD, kloropropanol adı verilen gıda kirleticileri arasında en yaygın olarak bilinen bileşendir. Bu bileşikler arasında; yeni keşfedilen ve insan sağlığını olumsuz yönde etkileyen 3-MCPD, 2-MCPD ve GE de bulunmaktadır.

(Zelinková ve ark., 2009) tarafından yapılan çalışmada; patates kızartması ve patates cipslerinde yüksek miktarlarda 3-MCPD esterlerinin olduğu rapor edilmiştir. Patates kızartması işleminin başında 3-MCPD miktarı 27–64 µg/kg iken kızartma işlemi sonunda 100–258 µg/kg seviyelerine ulaşmıştır. Patates kızartması için kullanılan palm yağı ile ilgili yapılan çalışmada ise 3-MCPD ester miktarının 654 ila 1920 µg/kg arasında değiştiği görülmüştür.

Dingel ve Matissek (2015) tarafından yapılan çalışmada; yüksek oleik asit değerine sahip olan ayçiçek yağı ile yapılan kızartma işlemi sırasında 3-MCPD ve GE'in oluşumunun, patates cipslerinde en aza indirilmesi amaçlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda GC-MS'de analiz edilen numuneler için (cips ve kızartma yağı) 3-MCPD miktarı 0.10-0.85 mg/kg, GE'de ise 0.09-0.91 mg/kg arasında olduğu görülmüştür

Razak ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada; farklı rafinerilerden elde edilmiş palm yağı ürünlerinde 3-MCPD içeriği analiz edilmiştir. Numuneler, asidik transesterifikasyon yoluyla gaz kromatografisi tekniği (GC-MS) kullanılarak tayin edilmiştir. 3-MCPD esterleri genel olarak ham yağlarda tespit edilememiş, fakat ağartılmış yağlarda bulunduğu, yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur. Koku giderme işleminde veya tamamen rafine edilmiş yağlarda çok daha yüksek miktarlarda 3-MCPD esterleri tespit edilmiştir. Palm yağı için elde edilen değerler 0.25-5.77 mg/kg arasında değişirken, diğer rafine yağlar da ise bu değer 0.25-2.45 mg/kg arasında değiştiği belirtilmiştir.

Franke ve ark. (2009) tarafından yapılan çalışmada; Kimyasal rafine işlemi sırasında palm ve kolza yağlarında 3-MCPD oluşumu incelenmiştir. Ek olarak, mono- ve digliseritlerin içeriği ve toplam klorür iyonlarının miktarları da belirlenmiştir. Tüm

yağlar için, koku giderme basamağı olan deoderizasyon basamağı, 3-MCPD esterlerinin oluşumu üzerinde ana etkiye sahiptir. Palm yağı için 4-5 ppm, kolza yağı için ise 1 ppm aralığında 3-MCPD değerleri bulunmuştur. Ayrıca rafine palm yağında bulunan toplam klorür iyonlarının önemli bir kısmının da 3-MCPD'ye dönüştüğü görülmüştür.

Zhou ve ark. (2014) tarafından yapılan çalışmada; kızartma yağı olarak kullanılan palm yağında, 3-MCPD'nin oluşumu; NaCl ilavesi, su içeriği, ısıtma sıcaklığı ve ısıtma süreleri dikkate alınarak incelenmiş, elde edilen sonuçlara göre, bu dört faktörün hepsi de 3-MCPD'nin oluşumunda önemli rol almıştır. 2 saatlik ısıtma süresi 3-MCPD içeriğini belirgin bir şekilde yükseltmiş, su dozajı ise % 7'den % 10'a yükseltirken 3-MCPD'nin oluşumu 1,260 ila 2,950 mg/kg arasında değişmiş ve yaklaşık % 130' luk bir artış olduğu görülmüştür.

Wong ve ark. (2017) tarafından yapılan çalışmada; kızartma süresinin, kızartma sıcaklığının ve sodyum klorür konsantrasyonunun rafine edilmiş, palm yağındaki 3-MCPD ve GE oluşumundaki etkileri incelenmiştir. 100 dakika boyunca dondurulmuş patates cipsi (% 0, % 1, % 3 ve % 5 NaCl) farklı sodyum klorür konsantrasyonlarında bekletildikten sonra kızartma işlemi, 160 °C ve 180 °C sıcaklıklarda gerçekleştirilmiştir. Kızartma süresi arttıkça 3-MCPD miktarı azalırken, kızartma sıcaklığı ve NaCl konsantrasyonu arttıkça 3-MCPD miktarının da arttığı görülmüştür. Yağın kızgınlık derecesi, kızartma süresi ve NaCl konsantrasyonu arttıkça, GE miktarı da artmıştır.

Jędrkiewicz ve ark. (2016a) tarafından yapılan çalışmada; 3-MCPD ve 2-MCPD'nin çeşitli gıda ürünlerinde bulunmaları ile ilgili endişe söz konusudur, çünkü sindirim sırasında bağlı formdan serbest forma dönüşmesi, bu toksik maddelerin günlük alımının artmasına neden olmaktadır. Rafine edilmiş bitkisel yağlarda önemli miktarlarda bulunan 3-MCPD ve 2-MCPD esterleri toz haline getirilmiş bebek mamalarında özellikle dikkat edilmelidir. Bu tür gıda ürünleri ile beslenen bebekler, bu kirleticilerin riskli miktarlarını alabilirler, bu da büyük bir endişe kaynağı doğurmaktadır. Bebek mamalarındaki 3-MCPD ve 2-MCPD esterleri 0.13-4.80 mg/kg arasında bulunmuştur.

Merkle ve ark. (2018) tarafından yapılan çalışmada; Klorür içeren ürünlerin (örneğin, dondurulmuş balık ürünleri) önceden kızartılması, 2-MCPD, 3-MCPD ve GE'in oluşumuna neden olabileceği vurgulanmıştır. Yapılan bu çalışma, iki aşamadan oluşup ilk aşamada ön kızartma sürecinde oluşan kirleticiler ile ilgili parametreler belirlemiş ve ikinci aşamada ise, bu kirleticilerle ilgili çeşitli azaltma yaklaşımları izlenmiştir. Balık ürünlerinde MCPD ve GE'in büyük kısmı ön kızartma işleminde

yağın absorbe olmasından kaynaklanırken, ön kızartmada yağın sıcaklığı ve ısıtma süresi de bu kirleticilerin oluşmasında etkili olduğu görülmüştür. Ön kızartma yağındaki MCPD içeriğinin önemli oranda azaltılması, katı ekmek parçacıklarının filtrelenmesi ile başarılmıştır. Ek olarak, GE içeriği adsorbent materyallerin kullanımından dolayı düşmüştür.

Yamazaki ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada; 3-MCPD esterlerinin tayin edilmesi için yeni ve doğrudan analitik bir yöntem geliştirilmiştir. Hedeflenen 3-MCPD esterleri, beş çeşit monoester ve 20 çeşit diester türünden oluşmaktadır. Numuneler (yağlar) tert-bütül metil eter ve etil asetat (4:1) karışımı içinde çözülmüş, katı faz ekstraksiyonu (SPE) (C18 ve silika) kartuşu kullanılarak saflaştırılmış ve daha sonra LC/MS-MS ile analiz edilmiştir. Tayin sınırları (LOQ) 3-MCPD esterinin türüne bağlı olarak 0.02 ila 0.08 mg/kg arasında olduğu tahmin edilmektedir. Bağlı standart sapma (RSD%) olarak ifade edilen tekrarlanabilirlik değeri % 5.5 ila % 25.5 arasındadır. Yeni yöntem, çeşitli ticari yenilebilir yağlarda 3-MCPD esterlerinin seviyelerini 0.58 ila 25.35 mg/kg arasında uygulanabilir olduğunu göstermiştir. Mono- ve diester seviyeleri, sırasıyla, 0.10 ila 0.69 mg/kg ve 0.06 ila 16 mg/kg değerler aralığındadır.

Ergönül ve Göldeli (2013) tarafından yapılan derleme makale çalışmasında; potansiyel karsinojenik olan 3-MCPD bileşiği gıda veya gıda işlem kaynaklı kontaminant olarak adlandırılmaktadır. 3-MCPD esteri 1978 yılında ilk olarak, asitle hidrolize olmuş bitkisel proteinlerde tespit edilmiştir daha sonraki yıllarda farklı gıdalarda da 3-MCPD ve esterlerinin varlığının tespit edilmesiyle insan sağlığı üzerine olan etkileri araştırılmıştır. 3-MCPD ve esterleri yağların rafinasyonu sırasında deodorizasyon basamağında oluştuğu bilinmektedir. Birçok gıdada varlığı tespit edilen 3-MCPD, gliserol veya açilgliserollerin hidroklorik asit ile reaksiyonu sonucu oluşmaktadır. Yapılan çalışmalarda, yüksek ısı uygulanan gıdalarda ve ortamda klorür iyonu bulunan gıdalardaki miktarları oldukça fazla bulunmuştur. Avrupa Komisyonu tarafından günlük alınması gereken kabul edilebilir maksimum miktarı ise vücut ağırlığı başına 2 µg/kg olarak belirlenmiştir.

Svejkovska ve ark. (2004) tarafından yapılan çalışmada; marketlerden alınan yirmi adet gıda üründe (turşu zeytin, kavrulmuş kahve ve fıstık, açık ve koyu malt, gevrek ekmek, tuzlu kraker, çörek, patates cipsi, patates kızartması, yumuşak veya mayalanmış salam, jambon, ızgara tavuk, füme uskumru, salamura ringa, peynir) serbest ve bağlı 3-MCPD miktarları analiz edilmiştir. Elde edilen analiz sonuçlarına

göre serbest 3-MCPD miktarı 9.6-82.7 µg/kg aralığında bağlı 3-MCPD miktarı ise (monoesterleri ve diesterleri), 1.1 mg/kg - 36.8 mg/kg olarak tespit edilmiştir.

Hrcirik ve van Duijn (2011) tarafından yapılan çalışmada; rafinasyon işleminde deodorizasyon basamağında, yağ yüksek sıcaklıklara maruz kaldığı için ortamda 3 - MCPD esterlerin oluşumu vurgulanmıştır. Yapılan çalışmada, palm ve kolza yağının rafinasyonu sırasında oluşan 3 - MCPD esterler miktarı araştırılmıştır. Palm yağında, 3 - MCPD esterleri ve GE, yağın deodorizasyonu sırasında oluştuğunu görülürken kolza yağında 3 - MCPD esterleri ve GE oluşmadığını görülmüştür. Rafine palm yağında 3 - MCPD esterleri 3.5-4.9 mg/kg arasında bulunmuştur. Palm yağında 230 ° C'nin üzerindeki deodorizasyon işleminde GE miktarı ise 3.8 mg/kg'a arasında bulunmuştur.

Jędrkiewicz ve ark. (2016b) tarafından yapılan çalışmada; son zamanlarda toksik etkilerinden dolayı 3-MCPD ve 2-MCPD türlerinin gıdalarda yüksek miktarlarda bulunduğu belirtilmiştir. Toksik etkilerinden dolayı bu kirleticilerin yemeklik yağ ve katı yağlardaki konsantrasyonlarının tespiti oldukça önemlidir. Yapılan çalışmada, 3-MCPD ve 2-MCPD, (yenilebilir yağlar, balık yağları ve margarin) miktarları tayin edilmiştir. Kuhlmann (2011) tarafından geliştirilen SGS “3-in-1” metodolojisi kullanılarak analizler hazırlanmıştır. Soğuk pres yağlarında MCPD esterleri tespit edilmemiştir. Fakat rafine edilmiş yağ numunelerinde, 3-MCPD ve 2-MCPD esterleri tespit edilmiştir. En yüksek MCPD esterleri, margarin ürünlerinde ve rafine balık yağlarında 7,3 ve 5,5 mg/kg arasında bulunmuştur.

Bu tez çalışmasında; ayçiçek yağı ile yapılan kızartma işleminde, yağlarda, insan sağlığı açısından karsinojenik ve genotoksik etkiye sahip olduğu bilinen ve bitkisel yağların rafinasyonu veya kızartma işlemi sırasında ortaya çıkan 3-MCPD, 2-MCPD ve GE türlerinin kızartma işlemlerindeki oluşumlarının incelenmesi amaçlanmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Analizlerde kullanılan kimyasal standart maddeler Toronto Research Chemicals, Merck ve Sigma firmaları tarafından temin edilmiştir. Kullanılan her bir kimyasal madde kromatografik saflıkta olup, **Tablo 3. 1** de belirtilmiştir.

Tablo 3. 1 Kullanılan materyaller

Kullanılan Standartlar
<ul style="list-style-type: none"> ✓ 2-kloro-1,3-propanediol, ✓ 2-kloro-1,3-propanediol-d5, ✓ 3-kloro-1,2-propanediol, ✓ 3-kloro-1,2-propanediol-d5, ✓ Glisidil stearate, ✓ Glisidil palmitate-d5,
Kullanılan Kimyasallar
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Metanol ✓ Toluen ✓ Tersiyel butil metil eter ✓ Isohexane ✓ Di etil eter ✓ Etil acetat ✓ İzo oktan ✓ Sülfirik asit ✓ NaCl ✓ NaBr ✓ NaOH ✓ Fenil boronik asit
Kullanılan Cihazlar
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi Dedektörü ✓ Fritöz ✓ VWR ısı kontrollü termometre

3.2. Stok Standartların Hazırlanması

Bu çalışmada kullanılacak olan her bir stok standart ve iç standart **AOCS'** in resmi (AOCS, 2013) metoduna göre hazırlanmıştır.

- ✓ 3-MCPD: 3-MCPD standartı 1000 ppm'lik olacak şekilde toluen içerisinde hazırlanmıştır.
- ✓ 3-MCPD-d5: 3-MCPD-d5 standartı 500 ppm'lik olacak şekilde metanol içerisinde hazırlanmıştır.
- ✓ 2-MCPD: 2-MCPD standartı 250 ppm'lik olacak şekilde toluen içerisinde hazırlanmıştır.
- ✓ 2-MCPD-d5: 2-MCPD-d5 standartı 100 ppm'lik olacak şekilde metanol içerisinde hazırlanmıştır.
- ✓ Glisidil stearate: Glisidil Stearate standartı 50 ppm'lik olacak şekilde toluen içerisinde hazırlanmıştır.
- ✓ Glisidil palmitate-d5: Glisidil palmitate-d5 standartı 100 ppm'lik olacak şekilde metanol içerisinde hazırlanmıştır.
- ✓ Hazırlanan standartlar ultrasonik banyoda 10 dk. 30 °C'de bekletilmiş daha sonra her bir standart çözeltisi -18 °C de saklanmış ve d-5'li standartlarımızın güneş ışığına maruz kalmayacak şekilde saklanmasına özen gösterilmiştir.

3.3. Kalibrasyon Çözeltilerinin Hazırlanması

Kızartma yağı numunelerinde bulunan MCPD ve GE türlerinin belirlenmesi için kalibrasyon eğrisi konsantrasyon aralığı, daha önce yapılmış çalışmalarda bulunmuş miktarlar göz önünde bulundurularak belirlenmiştir. Kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanma prosedürü aşağıda verilmiştir.

Deney tüpünde hazırlanan standart ve iç standart kalibrasyon çözeltisi çözücüleri, azot gazı altında uzaklaştırılmıştır. Daha sonra, dietil eter:etil asetat (3:2) karışımından 500 µL ve türevlendirme reaktifi olan fenil boranik asitten (% 2 m/V dietileter) 50 µL ilave edilmiştir. Deney tüpünün ağzı kapatılarak 5 dk 50 °C'de ultrasonik su banyosunda türevlendirilmeye bırakılmıştır. Türevlendirilme işleminden sonra tüpteki çözücü azot gazı altında uçurularak 500 µL izo-oktanda tekrar çözülerek viallere alınmış ve GC/MS'de analizi gerçekleştirilmiştir.

3.4. Kızartma İşlemi

Kızartma işlemi sırasında var olan değişkenler ele alındığında çoklu analiz sayısını daha aza indirmek ve daha doğru sonuç elde edebilmek için merkezi kompozit tasarım kullanılması öngörülmüştür. Merkezi kompozit tasarım (CCD) bir deneysel tasarım tekniğidir ve metot optimizasyonu ve geliştirilmesinde

kullanılmaktadır. Merkezi kompozit tasarım, çok değişkenli deneysel sistemlerde her bir değişkenin elde edilecek olan sonuca etkisinin değerlendirilmesi, deney sayısının minimuma indirgenmesi, çok seviyeli deneysel tasarımdan elde edilecek bilgiler kadar bilgi edinilmesi gibi birçok avantaja sahiptir. Bu çalışmada değişken parametreler olarak sıcaklık, süre ve tuzluluk kullanılmış ve bu değişkenlere ait merkezi kompozit tasarımı **Tablo 3. 2** de verilmiştir.

Ayçiçek yağı ile yapılacak olan kızartma işleminde, kızartma prosesinde yağlarda oluşumu istenmeyen; 3-MCPD, 2-MCPD ve GE bileşenlerinin miktarlarındaki artışı incelemek için gerçekleştirilen kızartma işlemi 2500 W gücünde, 3 L kapasiteye ve 130 °C-190 °C sıcaklık aralığında çalışabilen, yüksek hassasiyetli termostat ve güç göstergesi bulunan bir fritöz içerisinde gerçekleştirilmiştir. Her bir kızartma işleminde 2 litre kızartmalık yağa göre %10 oranında patates dilimleri kullanılmış ve patatesler 7 dakika arayla kızartılmıştır. Kızartma işlemi tamamlandıktan sonra, patatesler fritözden alınmış ve yeni patatesler merkezi kompozit tasarımında her bir deney için belirtilen sürenin sonuna kadar eklenmiştir. Kızartma işlemi sonrasında fritözden (**Şekil 3. 1**) alınan 50 mL'lik yağ örnekleri, ağzı kapaklı amberli şişelere konulmuş, oda sıcaklığına kadar iyice soğutulduktan sonra analiz edilinceye kadar -18 °C'de saklanmıştır. Merkezi kompozit tasarıma göre yapılan her bir kızartma işleminden elde edilen yağ örnekleri AOCS nin Cd 29c-13 resmi metoduna göre hazırlanarak analiz edilmiş ve elde edilen sonuçlardan Demo Desing Expert 10 programı kullanılarak grafikler çizilmiştir (AOCS, 2013).



Şekil 3. 1 Patates kızartması işleminde kullanılan fritöz makinası

Tablo 3. 2 Kızartma yağı için belirlenen merkezi kompozit tasarım parametreleri

2-MCPD, 3-MCPD ve GE Tayini - Optimizasyon Çalışmaları İçin Deneysel Tasarım					
Merkezi Kompozit Tasarım / 3 faktör	-1,68	-1	0	+1	+1,68
<i>Süre</i>	26.4	40	60	80	93.6
<i>Sıcaklık (°C)</i>	166,6	170	175	180	183,4
<i>Tuzluluk (mg/100mL yağ için)</i>	32	100	200	300	368

<u>Deney No</u>	<u>Süre (min.)</u>	<u>Sıcaklık (°C)</u>	<u>Tuzluluk (mg)</u>
1	40	170	100
12	60	183,4	200
4	80	180	100
13	60	175	31,8
8	80	180	300
20	60	175	200
10	93,6	175	200
6	80	170	300
18	60	175	200
15	60	175	200
16	60	175	200
7	40	180	300
5	40	170	300
19	60	175	200
2	80	170	100
3	40	180	100
11	60	166,6	200
9	26,3	175	200
17	60	175	200
14	60	175	368,6

3.5. MCPD ve GE Türlerinin Tespiti

2-MCPD, 3-MCPD ve glisidil ester türlerinin tespiti ve tayini için literatürde ve resmi olarak birçok metot tanımlanmaktadır. Ancak yaygın kullanım AOCS'nin resmi olarak yayınlamış olduğu Cd 29a-13, Cd 29b-13 ve Cd 29c-13 metotlarıdır. Yapılan bu tez çalışmasında Cd 29c-13 metodu dikkate alınmıştır. Bu metoda göre, numune iki ayrı kısma alınır ve ilk kısımda 2-MCPD, 3-MCPD ve glisidil esterlerinin serbest ve bağlı türlerinin tamamı, seyreltik metanollü sodyum hidroksit veya sodyum metoksit çözeltisinin eklenmesiyle serbest 2-MCPD ve 3-MCPD formlarına dönüştürülür. Daha sonra bu reaksiyon, asit klorür içeren tuz çözeltisinin eklenmesiyle durdurulmaktadır. Asidik koşullar altında serbest glisidil esterler, 3-MCPD ve 2-MCPD oluşturmak için inorganik klorür ile reaksiyona girmektedirler. Serbest forma dönüştürülen türlerin tamamı (serbest ve bağlı 2-MCPD, serbest ve bağlı 3-MCPD ve glisidil esterden gelen), fenil boranik asit ile türevlendirilerek GC/ MS'de analiz edilirler.

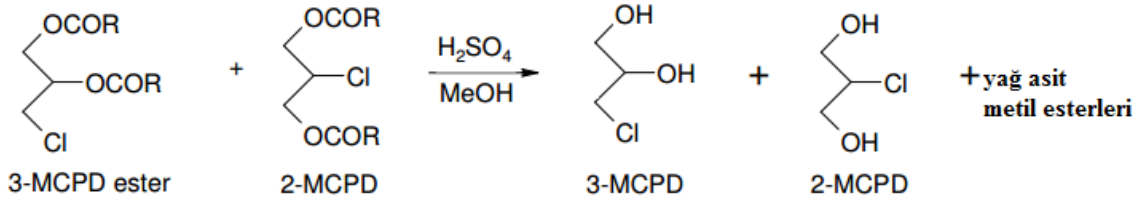
İkinci kısımda ise; serbest ve bağlı 3-MCPD esterleri ilk kısımda olduğu gibi seyreltik metanollü sodyum hidroksit veya sodyum metoksit çözeltisinin eklenmesiyle serbest 3-MCPD formuna dönüştürülürler. Ancak reaksiyon bu kısımda asitli sodyum bromür ilavesiyle durdurulur. Reaksiyon durdurulduktan sonra ilk kısımda olduğu gibi sadece serbest ve bağlı 3-MCPD türleri, fenil boranik asit ile türevlendirilerek GC/MS'de analiz edilirler. Her iki kısım için uygulanan deney prosedürü ayrıntılı olarak aşağıda verilmiştir.

Kullanılan Standartlar

- ✓ 3-MCPD-d5,
- ✓ 3-MCPD,
- ✓ 2-MCPD-d5,
- ✓ 2-MCPD,
- ✓ Glisidil Palmitat-d5,
- ✓ Glisidil Stearate

3.5.1. Yağ Örneklerinin Hazırlanması

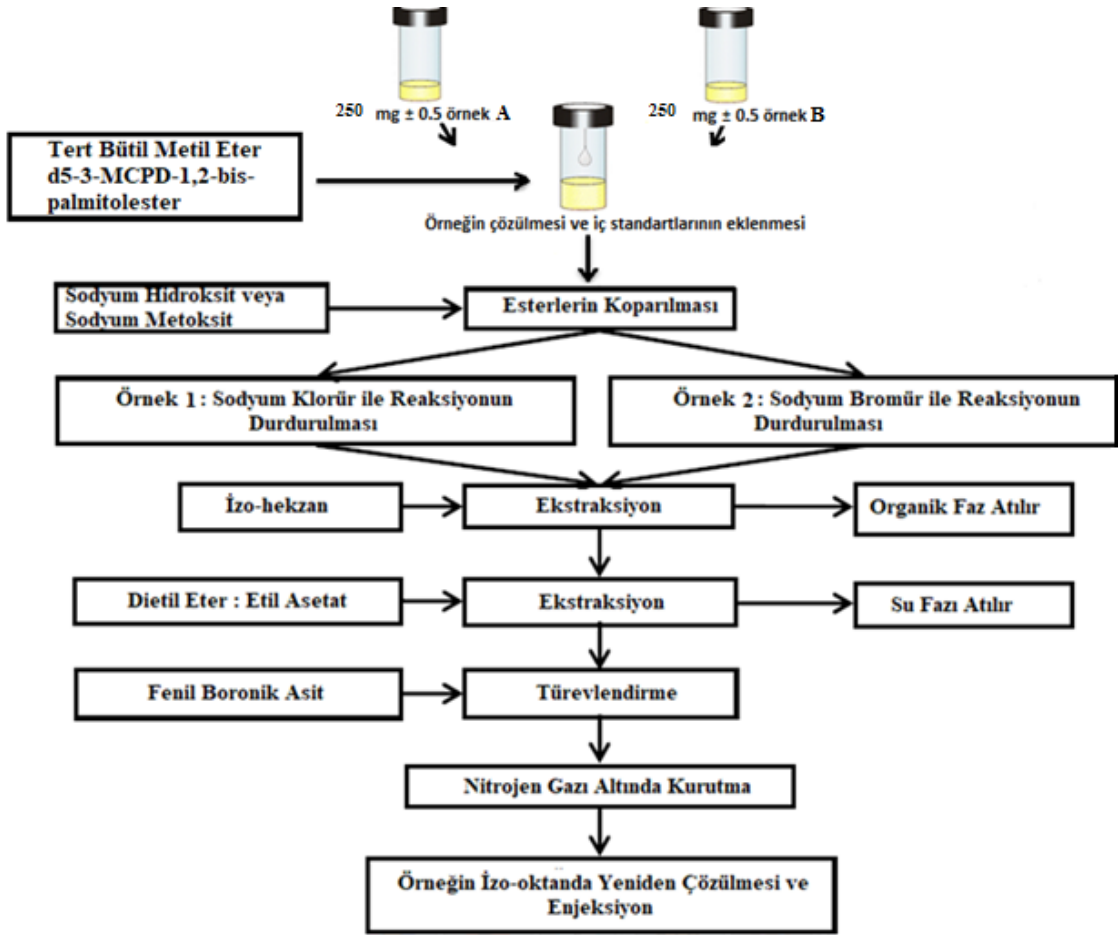
Yağ numunesi; 2 ayrı vialde 250 (\pm 0.5) mg tartılmış, her bir vialde 100 μ L'lik iç standartlardan eklenmiş (3-MCPD-d5, 2-MCPD-d5) ve 100 μ L tert-bütül metil eter de çözünmüştür.



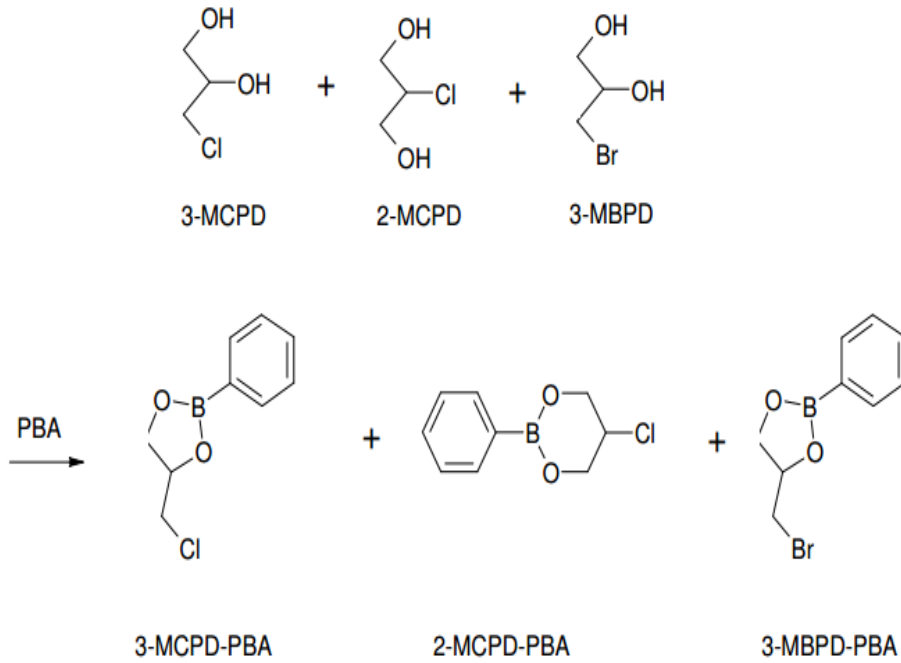
Şekil 3. 2 Esterlerin koparılması

- ✓ Sonra her bir vialde, 200 μL metanollü NaOH çözeltisi ilave edilmiştir.
- ✓ Birinci vialde 600 μL asitlendirilmiş NaCl çözeltisi eklenmiştir (Örnek A).
- ✓ İkinci vialde ise 600 μL asitlendirilmiş NaBr çözeltisi ilave edilmiştir (Örnek B).
- ✓ Her iki vialde de 600 μL izo-hekzan ilave edilmiş ve oda sıcaklığında yaklaşık 5 dakika fazların birbirinden ayrılması için bekletilmiştir.
- ✓ Her iki vialde kuvvetlice çalkalanmış ve organik fazı ayrılarak atılmıştır. Sulu fazlar 600 μL lik izo-hekzan ile 3 kez yıkanmıştır.
- ✓ Daha sonra her iki vial için, 600 μL dietil eter:etil asetat (600 μL :400 μL) karışımı ilave edilmiş ve fazların ayrılması beklenmiştir. Ayrılan fazlardan üst faz, ayrı deney tüplerine alınmış ve bu işlem 3 kez tekrar edilmiştir.
- ✓ Örneklerde kalan nemin uzaklaştırılması için susuz sodyum sülfat ilave edilmiştir.
- ✓ Her iki organik ekstrakta da türevlendirme reaktifinden (PBA) 50 μL ilave edilmiş ve azot gazı altında çözücüleri uzaklaştırılmıştır.
- ✓ Çözücüsü uzaklaştırılan numuneler 500 μL izo-oktan ile tekrar çözülerek GC-MS'de analizi gerçekleştirilmiştir.

Yukarıda detayları verilen numune hazırlama aşamalarının şematik gösterimi Şekil 3. 3'de, Fenil Boranik Asit (PBA) ile 3-MCPD, 2-MCPD ve 3-MBPD'in türevlendirme reaksiyonları Şekil 3. 4'de verilmiştir.



Şekil 3. 3 MCPD esterleri ve GE analizi akış şeması



Şekil 3. 4 Fenil Boranik Asit (PBA) ile türevlendirme reaksiyonu

3.5.2. GC-MS Koşulları

Ekstraksiyon ve türevlendirme işlemi sonunda elde edilen numuneler, HP-5 MS kolonu (5%-Phenyl methylpolysiloxan) kullanılarak GC-MS cihazında analiz edilmiştir. GC-MS analiz şartları **Tablo 3. 3**'de verilmiştir. MS'de çalışma modu olarak Seçilmiş İyon Görüntüleme (SIM) kullanılmış ve SIM parametreleri **Tablo 3. 4** de verilmiştir.

Tablo 3. 3 GC-MS analiz şartları

Enjektör		Taşıyıcı Gaz		Kolon Fırını			MS Sıcaklık	
Mod	Sıcaklık	Türü	Akış Hızı	°C/dk	°C	dk	Source	Quadropole
Pulsed splitless	275 °C	He	1mL/dk		85	0,5	230	150
				6	150	0		
				12	180	0		
				25	280	7		

Tablo 3. 4 SIM Parametreleri

Tür	<u>Quantifier</u>	<u>Qualifier</u>
3-MCPD	147	196
3-MCPD-d5	150	201
2-MCPD	196	198
2-MCPD-d5	201	203
3-MBPD	147	240
3-MBPD-d5	150	245

3.5.3. Sonuçların Hesaplanması

3.5.3.1. Toplam 2-MCPD (Serbest ve Bağlı 2-MCPD)

2-MCPD esterleri asitli bir tuz çözeltisi (Cl^- iyonları ihtiva eden) ile bazik ortamda metanollü NaOH varlığında parçalanarak serbest forma dönüştürülmüştür. Örnek A'da toplam 2-MCPD bulmak için; analitin ve iç standardın sinyal alanına karşılık gelen iyonlarına dayalı oranı, iç standardın konsantrasyonu ile çarpılarak bulunmuştur.

$$W_{2-MCPD(A)} = \frac{SF_a \times W_{d5-2MCPD(A)}}{SF_i A}$$

$W_{2-MCPD(A)}$: Örnek A'daki 2-MCPD'nin mg/kg cinsinden kütlesi.

$W_{d5-2-MCPD(A)}$: Örnek A'daki 2-MCPD-d5'nin mg/kg cinsinden kütlesi.

SF_A : Örnek A'daki 2-MCPD'nin alanı.

SF_{iA} : Örnek A'daki 2-MCPD-d5'nin alanı.

3.5.3.2. Toplam 3-MCPD (Serbest 3-MCPD, Bağlı 3-MCPD ve GE)

Yağ numunesi içerisinde bulunan serbest 3-MCPD, bağlı 3-MCPD ve GE esterleri asitli bir tuz çözeltisi (Cl^- iyonları ihtiva eden) ile bazik ortamda metanollü NaOH varlığında parçalanarak serbest 3-MCPD forma dönüştürülmüş ve GE'den gelen serbest 3-MCPD ile birlikte toplam 3-MCPD miktarı hesaplanmıştır. Örnek A'da toplam 3-MCPD bulmak için; analitin ve iç standardın sinyal alanına karşılık gelen iyonlarına dayalı oranı, iç standardın konsantrasyonu ile çarpılarak bulunmuştur.

$$W_{3-MCPD(A)} = \frac{SF_A \times W_{d5-3MCPD(A)}}{SF_{iA}}$$

$W_{3-MCPD(A)}$: Örnek A'daki 3-MCPD'nin mg/kg cinsinden kütlesi.

$W_{d5-3-MCPD(A)}$: Örnek A'daki 3-MCPD-d5'nin mg/kg cinsinden kütlesi.

SF_A : Örnek A'daki 3-MCPD'nin alanı.

SF_{iA} : Örnek A'daki 3-MCPD-d5'nin alanı.

3.5.3.3. Serbest ve Bağlı 3-MCPD

Örnek B'de ise yağ numunesi içerisinde bulunan serbest ve bağlı 3-MCPD esterleri (Cl^- iyonları ihtiva etmeyen) asitli Br^- tuz çözeltisi ile reaksiyona girerek 3-MBPD'ye dönüşmüş ve serbest ve bağlı 3-MCPD miktarı hesaplanmıştır.

Örnek B'de 3-MCPD esterleri için analitin ve iç standardın sinyal alanına karşılık gelen iyonlarına dayalı oranı, iç standardın konsantrasyonu ile çarpılarak bulunmuştur.

$$W_{3-MCPD(B)} = \frac{SF_B \times W_{d5-3-MCPD(B)}}{SF_{iB}}$$

$W_{3-MCPD(B)}$: Örnek B'deki 3-MCPD'nin mg/kg cinsinden kütlesi.

$W_{d5-3-MCPD(B)}$: Örnek B'deki 3-MCPD-d5'nin mg/kg cinsinden kütlesi.

SF_B : Örnek B'deki 3-MCPD'nin alanı.

SF_{iB} : Örnek B'deki 3-MCPD-d5'nin alanı.

3.5.3.4. Glisidil Ester

AOCS`nin resmi Cd 29c-13 metoduna göre GE miktarı, toplam 3-MCPD (Örnek A) ve serbest ve bağlı 3-MCPD (Örnek B) miktarlarının farkının bir dönüştürme faktörü ile çarpılmasından bulunmaktadır. Dönüştürme faktörü, MCPD türü içermeyen yağ örneğine GE standartlarının eklendiği standart ekleme yöntemi ile bulunmaktadır. Standart ekleme yönteminden elde edilen kalibrasyon eğrisinin eğiminden yararlanılarak dönüşüm faktörü hesap edilmiştir.

$$t=1/m$$

m= standart eklem yönteminden elde edilen eğrinin eğimi

$$W_{\text{glisidil}} = t * (W_{3\text{-MCPD(A)}} - W_{3\text{-MCPD(B)}})$$



4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Hazır çorbalar, bebek mamaları, krakerler, fast-food ve daha birçok hazır gıda ürünleri, insan hayatını ne kadar kolaylaştırmış olarak gözükseler de bu ürünlerin insanların sağlığını tehlikeye sokabilecek birçok kirleticiyi de bulundurdukları bilinmektedir. Bu kirleticiler arasında yer alan ve genellikle yağ kaynaklı olan MCPD ve GE türevleri, vücuda alındıkları zaman lipaz enzimi sayesinde serbest forma dönüşerek genotoksik ve karsenik etki göstermektedirler. Yağda bulunan bu türlerin yağ rafinasyon prosesinin son basamağı olan, düşük basınç ve yüksek sıcaklıklarda gerçekleştirilen deoderizasyon kademesinde oluştuğu yapılan birçok çalışmada belirtilmiştir (efsa, 2016a). MCPD ve GE türlerini ihtiva etmeyen yağlar ile yapılan kızartma işlemleri sonunda da bu türlerin oluşumu mümkündür. Bu türlerin oluşumundaki temel parametreler; ilave edilen tuz miktarı, kızartma süresi ve sıcaklıktır.

Ayçiçek yağı ile yapılan kızartma işleminde, ilave edilen tuz miktarı, kızartma süresi ve sıcaklığın 3-MCPD, 2-MCPD ve GE türlerinin oluşumuna etkisinin incelendiği bu tez çalışmasında elde edilen deney sonuçları ve değerlendirmeler aşağıda detaylı olarak verilmiştir.

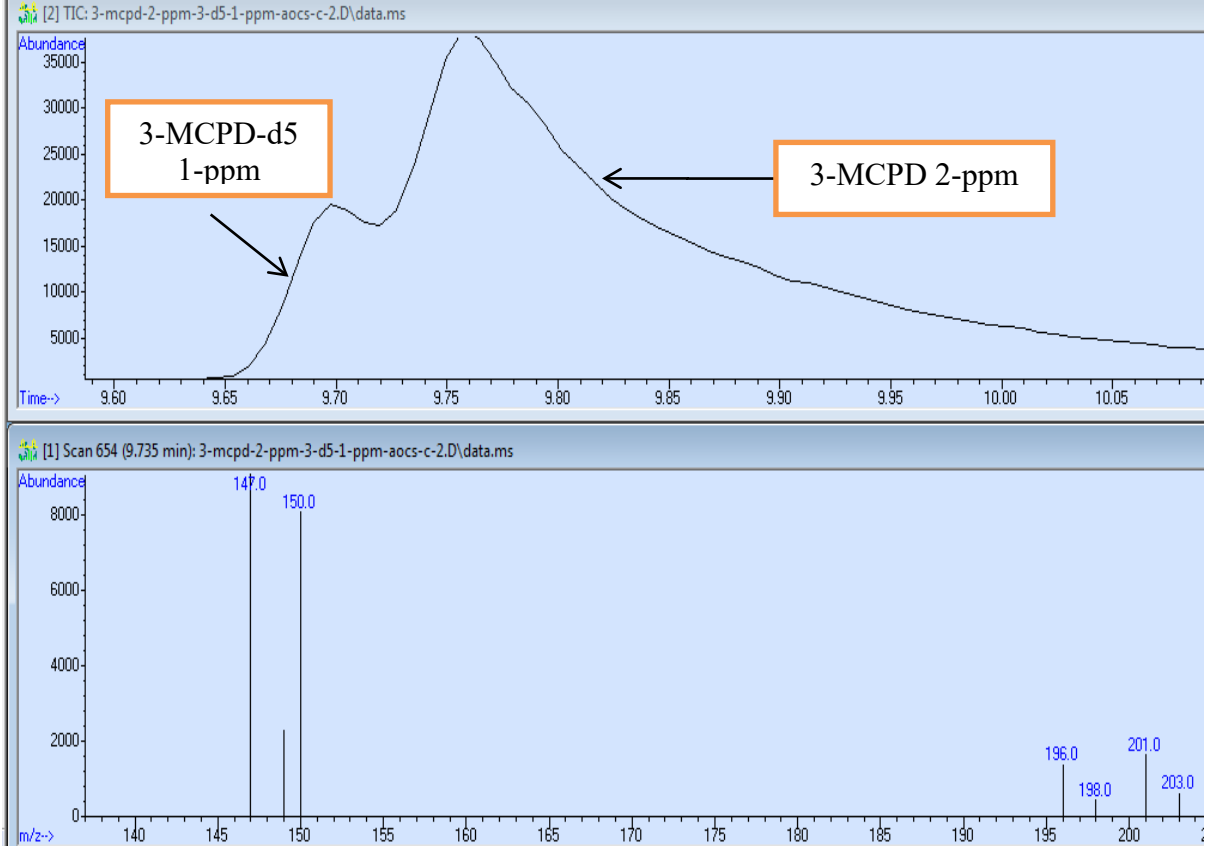
4.1. Toplam 3-MCPD (Serbest 3-MCPD, Bağlı 3-MCPD ve GE) Tayinleri

Yağda bulunan toplam 3-MCPD (serbest 3-MCPD, bağlı 3-MCPD ve GE'den gelen) tayini için AOCS'nin Cd 29c-13 resmi metoduna göre deneyler yapılmış, çizilen kalibrasyon eğrisi yardımıyla kızartma yağı numunelerindeki toplama 3-MCPD miktarları tespit edilmiş ve merkezi kompozit tasarımda cevap değeri olarak kullanılmışlardır. Merkezi kompozit tasarımda cevap değeri olarak yerleştirilen 3-MCPD türlerinin üç boyutlu grafikleri ve pertürbasyon eğrileri Design Expert programında çizilmiştir. Yapılan çalışmalar ile ilgili detaylar aşağıda alt başlıklar halinde verilmiştir.

4.1.1. Kalibrasyon Eğrisi

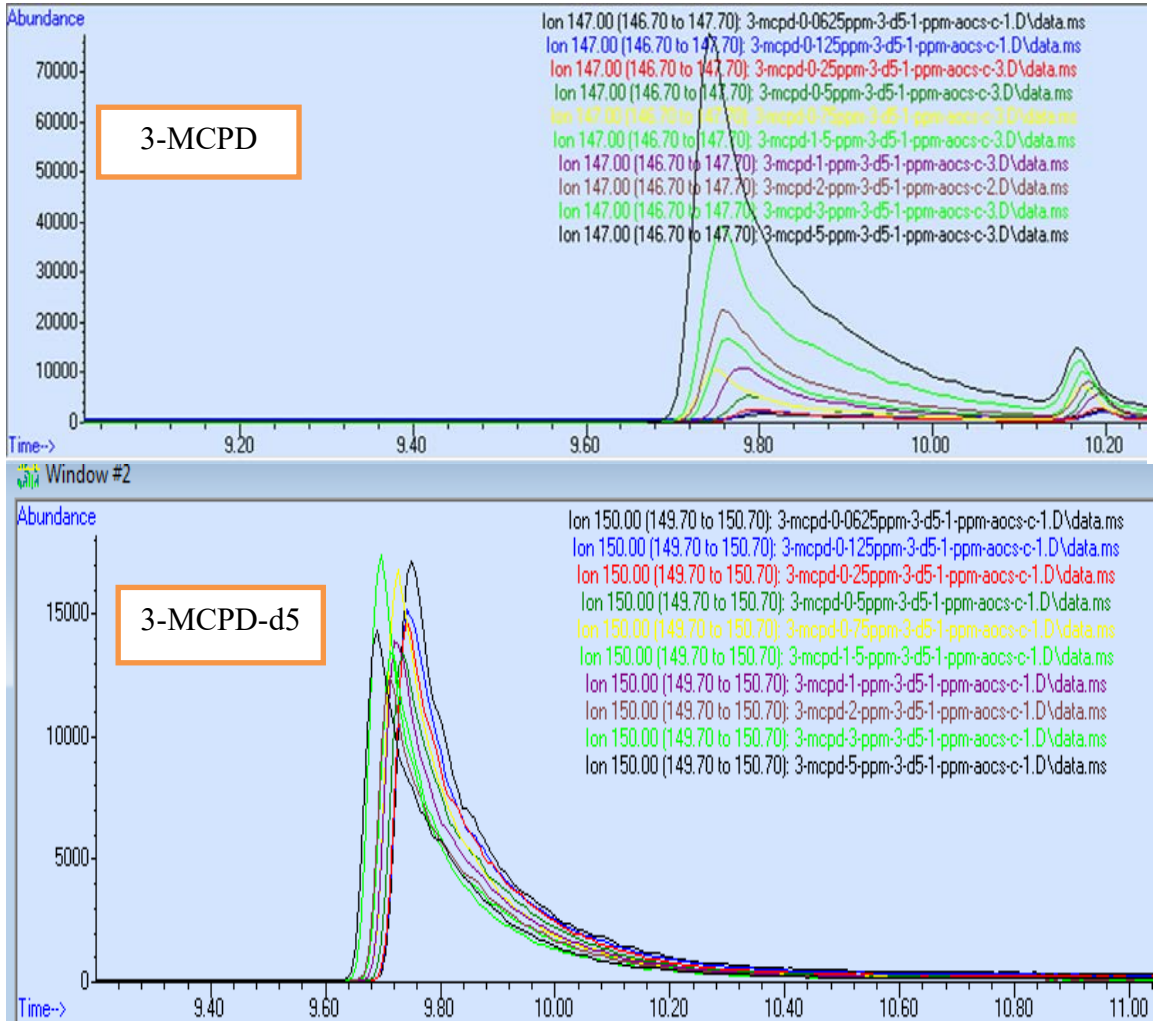
Toplam 3-MCPD miktarlarının tespiti için literatürde yapılan çalışmalar göz önünde bulundurularak, kalibrasyon eğrisi için standartlar 0.06 ile 5 mg/L aralığında hazırlanarak türevlendirilmiş ve GC-MS cihazına verilmiştir. Kalibrasyon eğrisi ve gerçek yağ numunelerindeki MCPD türlerinin tayininde konsantrasyonu 1mg/L olan

serbest formdaki 3-MCPD-d5 iç standardı kullanılmıştır. 1 mg/L'lik 3-MCPD-d5 iç standartı ve 2 mg/L'lik serbest 3-MCPD standardına ait kromatogram Şekil 4. 1'de verilmiştir.

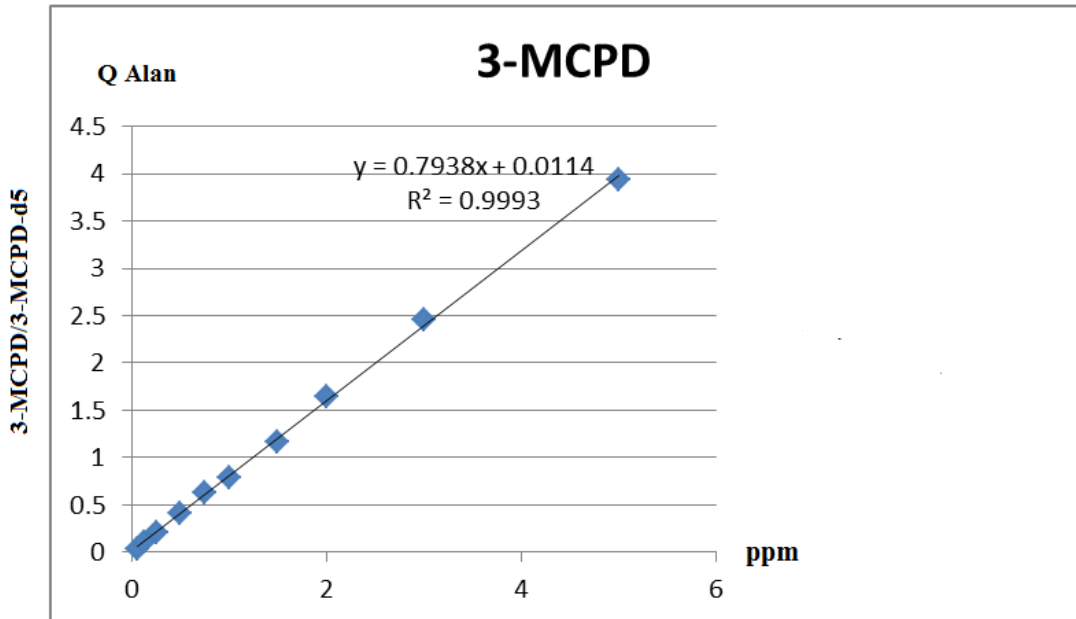


Şekil 4. 1 3-MCPD-d5-1-ppm ve 3-MCPD 2 ppm standartlarının GC/MS kromatogramı

Kalibrasyon eğrisi elde edilmesi için farklı konsantrasyonlarda hazırlanan serbest formdaki 3-MCPD standartlarının (0,06-5 mg/L) kromatogramları Şekil 4. 2'de, kalibrasyon eğrisi ise Şekil 4. 3'de verilmiştir.



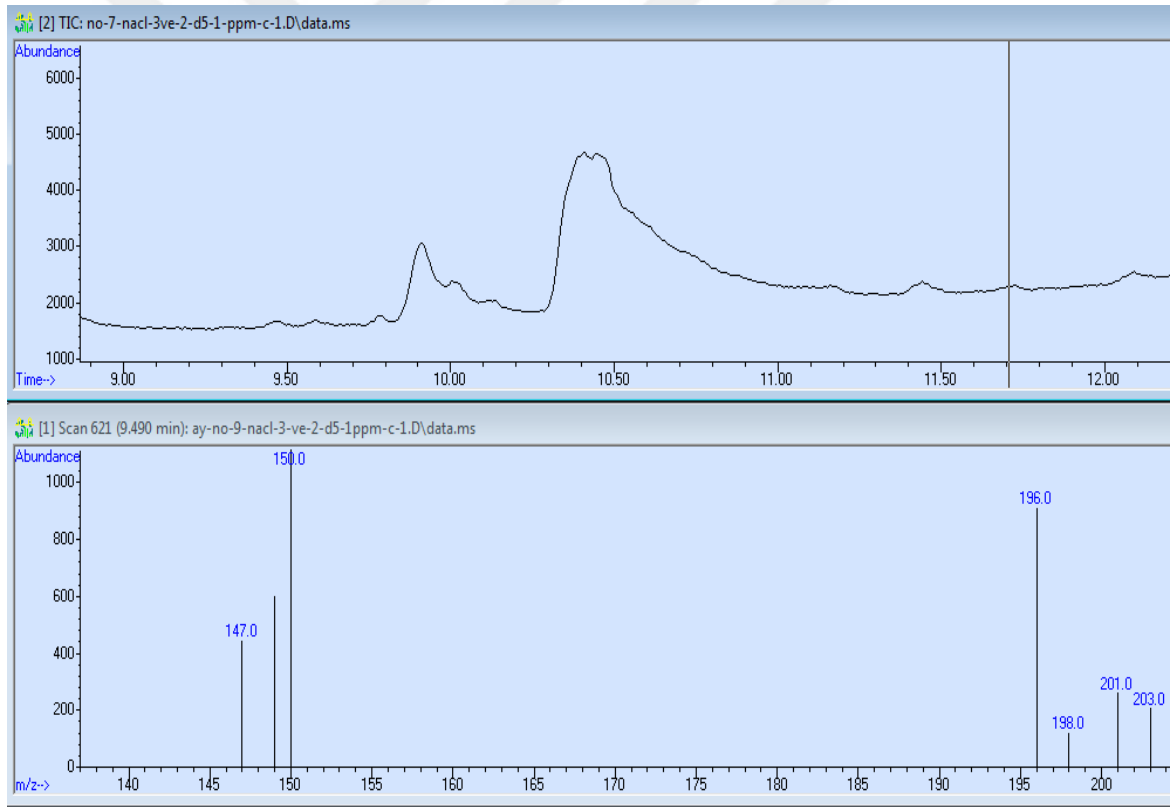
Şekil 4. 2 3-MCPD ve 3-MCPD-d5 standartlarının kalibrasyon noktaları GC/MS kromatogramı



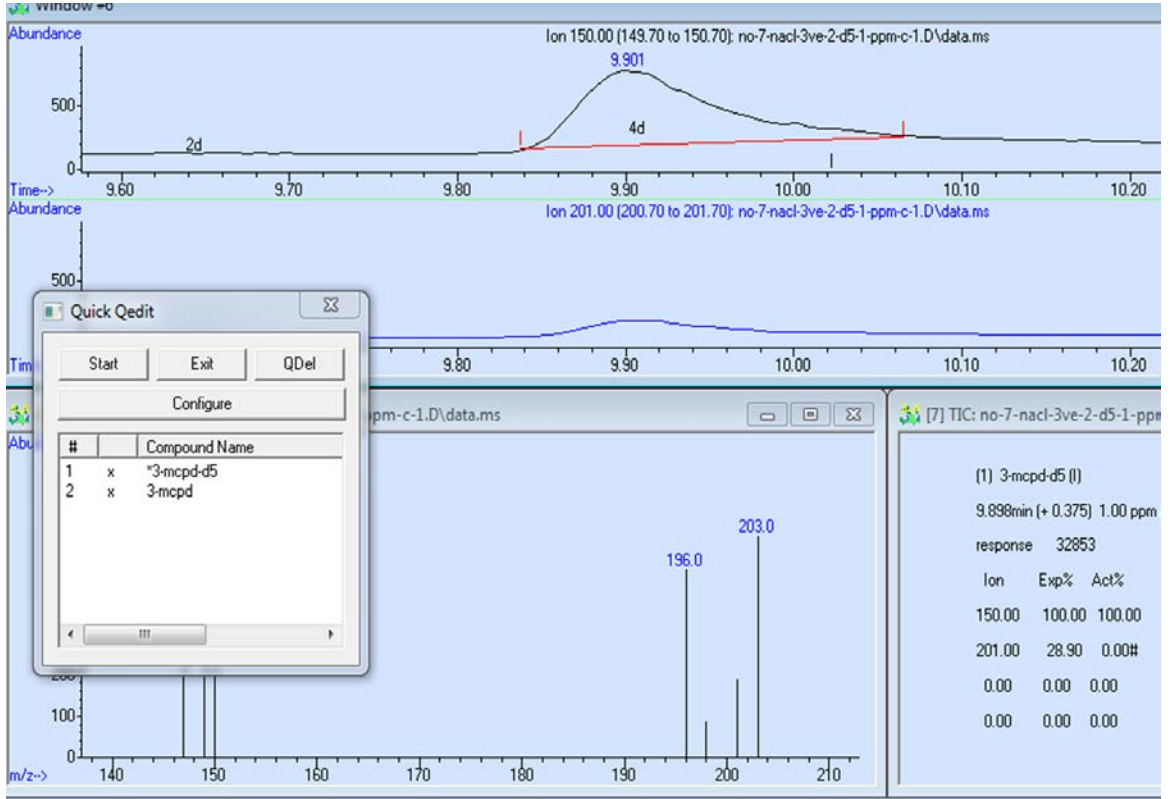
Şekil 4. 3 3-MCPD standartlarının kalibrasyon eğrisi

4.1.2. Kızartma Yağındaki Toplam 3- MCPD Miktarlarının Tespiti ve Üç Boyutlu Grafiker

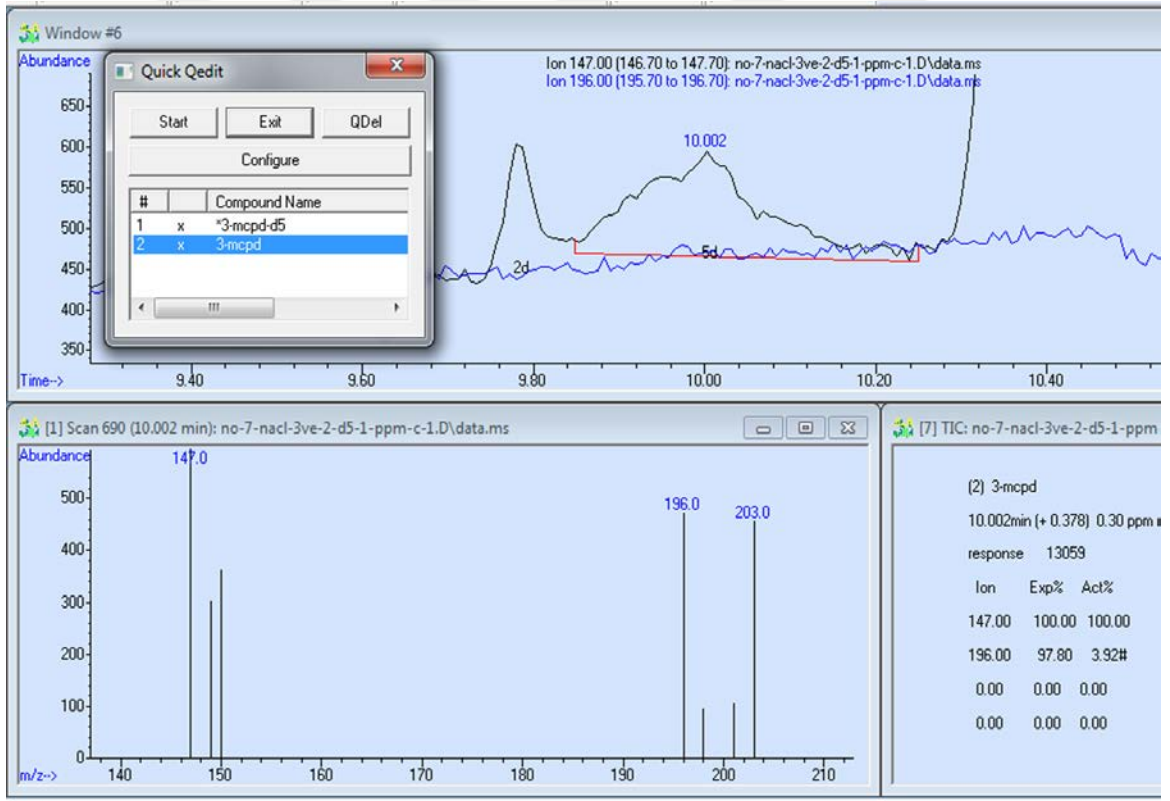
Merkezi kompozit tasarım yardımıyla farklı tuz miktarı, sıcaklık ve sürelerde kızartma işlemine tabi tutulacak yağ numuneleri hazırlanmıştır. Hazırlanan bu yağ numuneleri patates kızartması işlemlerinde kullanılmış ve oda sıcaklığına soğutulmuş olarak analiz edilmişlerdir. Elde edilen kalibrasyon eğrisi yardımıyla her bir yağ numunesindeki 3-MCPD miktarları tespit edilmiştir. Merkezi kompozit tasarım yardımıyla hazırlanan ve kızartma sonunda toplam 3-MCPD miktarları tespit edilen 7 nolu (300 mg NaCl içeren, 180 °C, 40 dk) numuneye ait kromatogram Şekil 4. 4`de verilmiştir. Ayrıca iç standart olan 3- MCPD-d5`in qualifier ve quantifier MS spektrumları Şekil 4. 5`de, 7 nolu numuneye ait 3- MCPD qualifier ve quantifier MS spektrumları Şekil 4. 6`da verilmiştir.



Şekil 4. 4 No-7 ayçiçek yağı için kromatogram



Şekil 4. 5 No-7 ayçiçek yağı için 3-MCPD-d5 kromatogramı



Şekil 4. 6 No-7 ayçiçek yağı için 3-MCPD kromatogramı

Merkezi kompozit tasarım yardımıyla hazırlanan ve kızartma sonunda toplam 3-MCPD miktarları tespit edilen her bir numuneye ait toplam 3-MCPD miktarları **Tablo 4. 1**'de verilmiştir.

Tablo 4. 1 Süre, sıcaklık, tuzluluk parametrelerine göre,3-MCPD miktarları

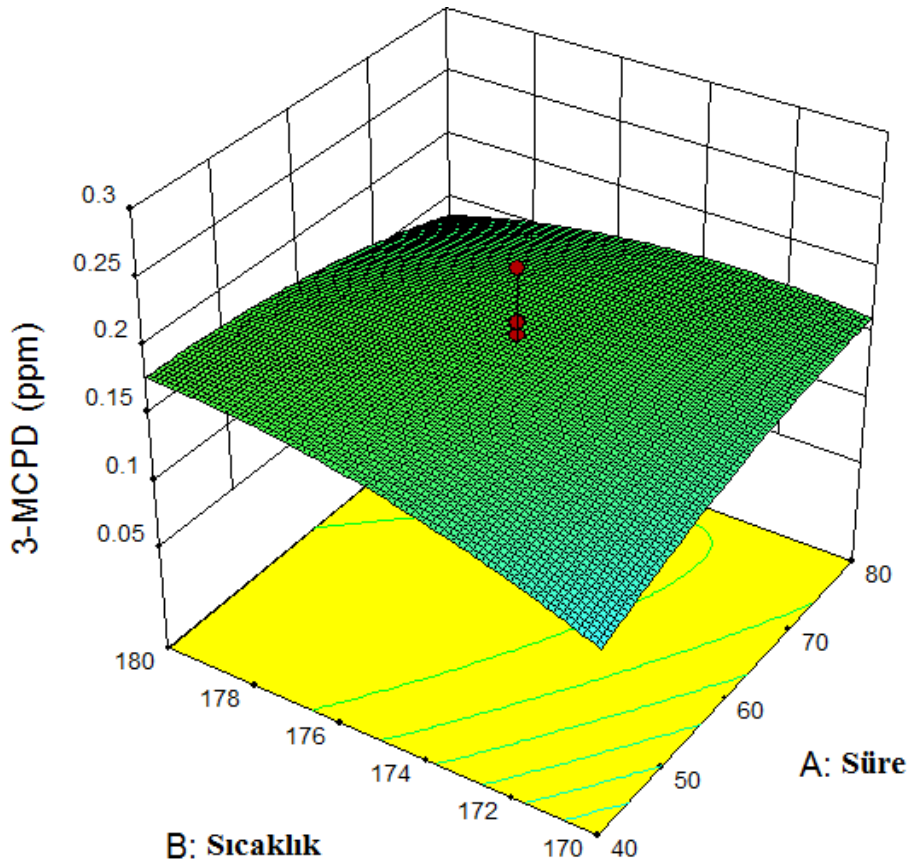
Deney No	A:Süre (dk)	B:Sıcaklık (°C)	C:Tuzluluk (mg)	Toplam 3- MCPD (mg/kg)
3	40	180	100	0.18
12	60	183	200	0.09
9	26	175	200	0.05
2	80	170	100	0.17
20	60	175	200	0.23
8	80	180	300	0.14
17	60	175	200	0.12
5	40	170	300	0.15
1	40	170	100	0.16
4	80	180	100	0.17
14	60	175	368	0.22
19	60	175	200	0.23
11	60	166	200	0.09
18	60	175	200	0.19
16	60	175	200	0.18
6	80	170	300	0.16
15	60	175	200	0.11
10	93	175	200	0.16
13	60	175	31	0.07
7	40	180	300	0.3

Elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında; her bir parametrenin (sıcaklık, süre ve tuzluluk miktarı) toplam 3-MCPD miktarına önemli etkilerinin olduğu **Tablo 4. 1**'de görülmüştür. En yüksek 3-MCPD miktarının (0,3 mg/kg) 40 dk. 180 °C sıcaklık ve 300 mg tuz miktarının olduğu şartlarda görülürken, en düşük 3-MCPD miktarının (0,05 mg/kg) ise 26 dk. 175 °C sıcaklık, 200 mg tuz miktarı olduğu şartlarda belirlenmiştir.

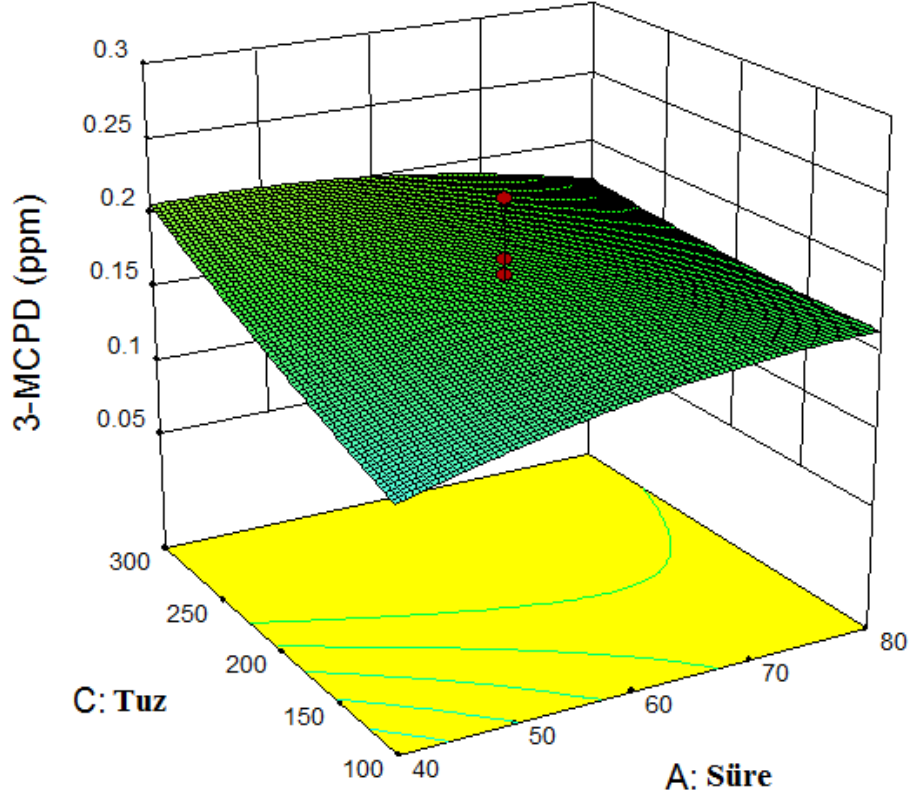
Tablo 4. 1'deki toplam 3-MCPD değerlerine göre quadratik polinomal model eşitliği hesaplanmış ve aşağıdaki denklem elde edilmiştir (Morgan, 1995).

$$Y = 0.174 + 0.002562A + 0.0109835B + 0.0235976C - 0.02375AB - 0.01875AC + 0.01375BC - 0.0107228A^2 - 0.0160261B^2 + 0.00341935C^2$$

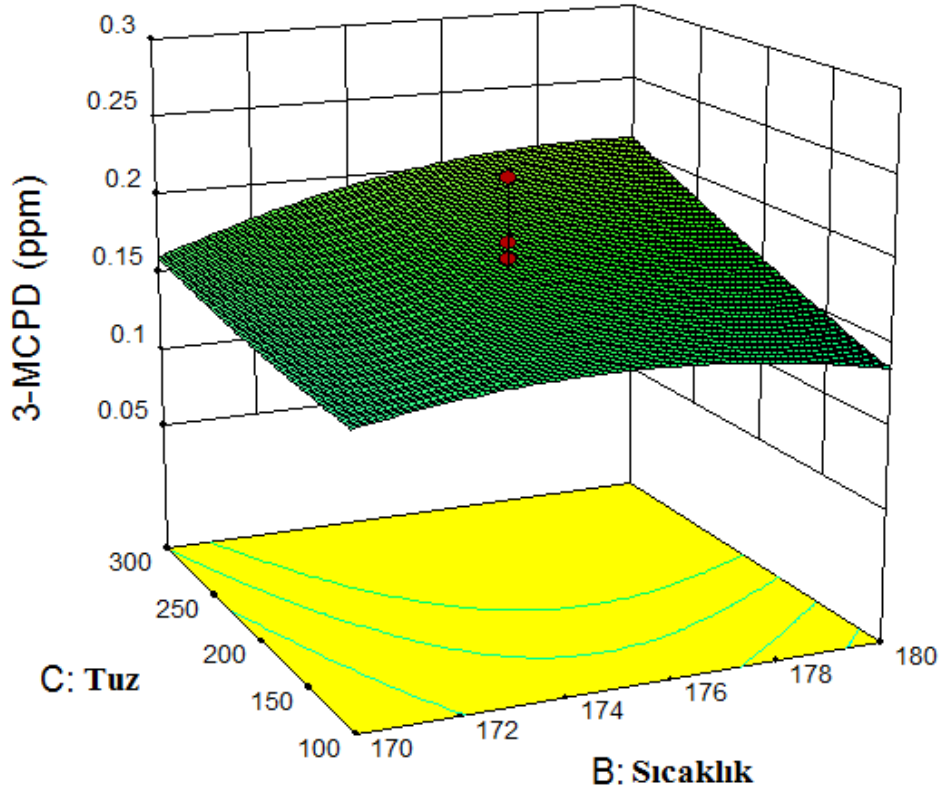
Toplam 3-MCPD değerleri ile bağımsız değişkenlerin seviyeleri arasındaki ilişkiyi gösteren ve değişkenlerin optimum noktalarının tespitini sağlayan üç boyutlu yüzey grafikleri çizdirilmiştir. Tuzluluğun sabit tutulduğu (60dk) süre-sıcaklık etkileşimlerini gösteren ikili yüzey grafiği **Şekil 4. 7**'de, sıcaklığın sabit tutulduğu (200 mg) süre-tuzluluk etkileşimlerini gösteren ikili yüzey grafiği **Şekil 4. 8**'de ve sürenin sabit tutulduğu (175°C) tuzluluk-sıcaklık etkileşimlerini gösteren ikili yüzey grafiği **Şekil 4. 9**'da verilmiştir.



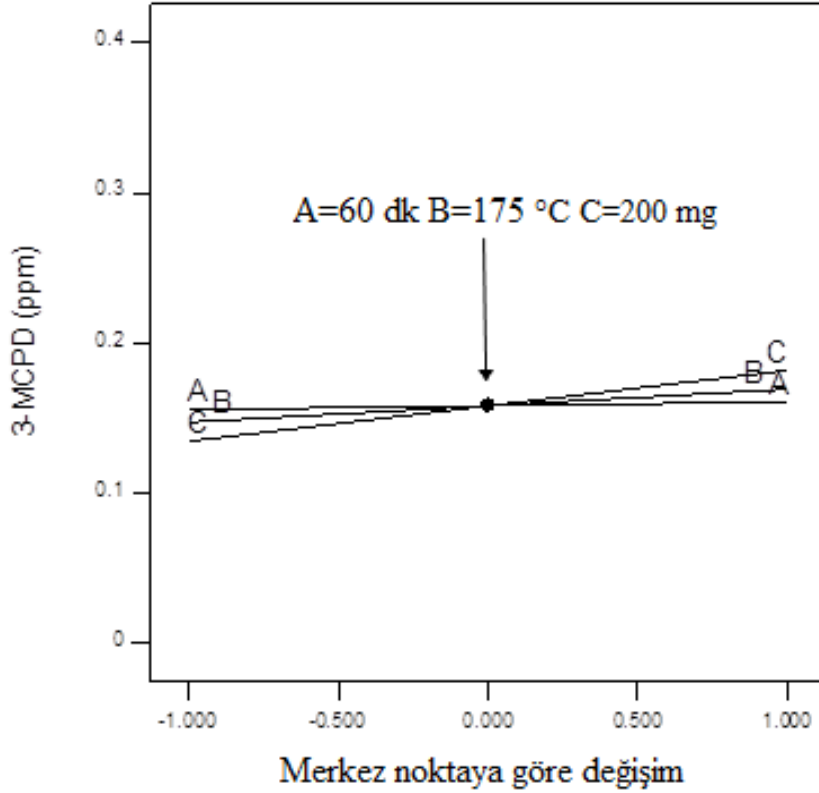
Şekil 4. 7 Ayçiçek yağında kızartma işlemi sırasında uygulanan sıcaklık ve sürenin oluşan 3-MCPD esterleri miktarına etkisi (üç boyutlu grafik)



Şekil 4. 8 Ayçiçek yağında kızartma işlemi sırasında uygulanan tuzluluk ve sürenin oluşan 3-MCPD esterleri miktarına etkisi (üç boyutlu grafik)



Şekil 4. 9 Ayçiçek yağının kızartma işlemi sırasında uygulanan tuzluluk ve sürenin oluşan 3-MCPD esterleri miktarına etkisi (üç boyutlu grafik)



Şekil 4. 10 Kızartma işlemi sırasında ayçiçek yağında oluşan 3-MCPD esterleri işlem parametrelerinin etkisini gösteren pertürbasyon eğrileri [A-Süre (dk), B-Sıcaklık (°C), C-Tuzluluk (mg)]

Şekil 4. 10'de pertürbasyon eğrilerine bakıldığında, en yüksek eğim çizgisine sahip olan faktörün tuz miktarı olduğu görülmektedir. Ayçiçek yağı ile yapılan kızartma işlemleri sırasında toplam 3-MCPD esterlerinin oluşumuna sıcaklık ve sürenin önemli etkilerinin olduğu ve sürenin artmasıyla 3-MCPD türlerinin GE dönüştüğü gözlenmiştir. Ayrıca tuz miktarının toplam 3-MCPD oluşumu üzerine en etkili faktör olduğu pertürbasyon ve üç boyutlu eğrilerden anlaşılmıştır.

4.2. Serbest ve Bağlı Formdaki 3-MCPD Tayinleri

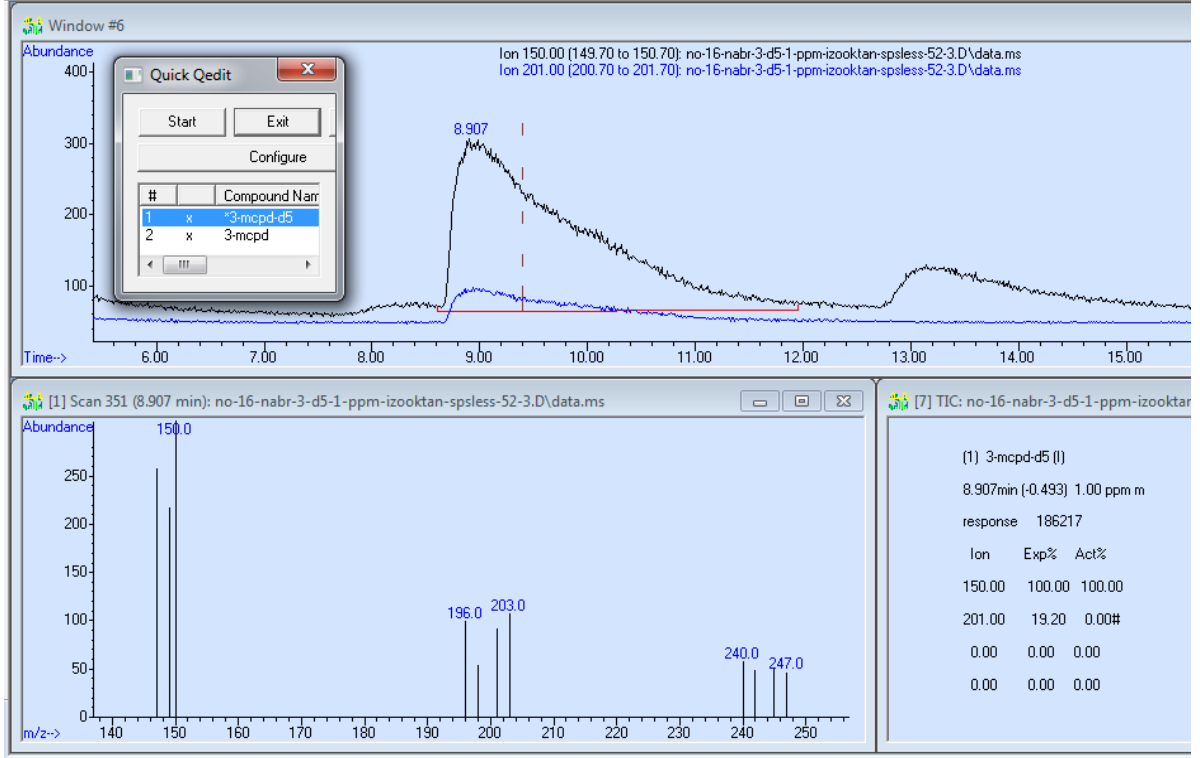
4.2.1. Kalibrasyon Eğrisi

Kızartma yağında bulunan serbest ve bağlı 3-MCPD türlerinin analizinde kalibrasyon eğrisi olarak toplam 3-MCPD analizinde kullanılan grafik kullanılmıştır.

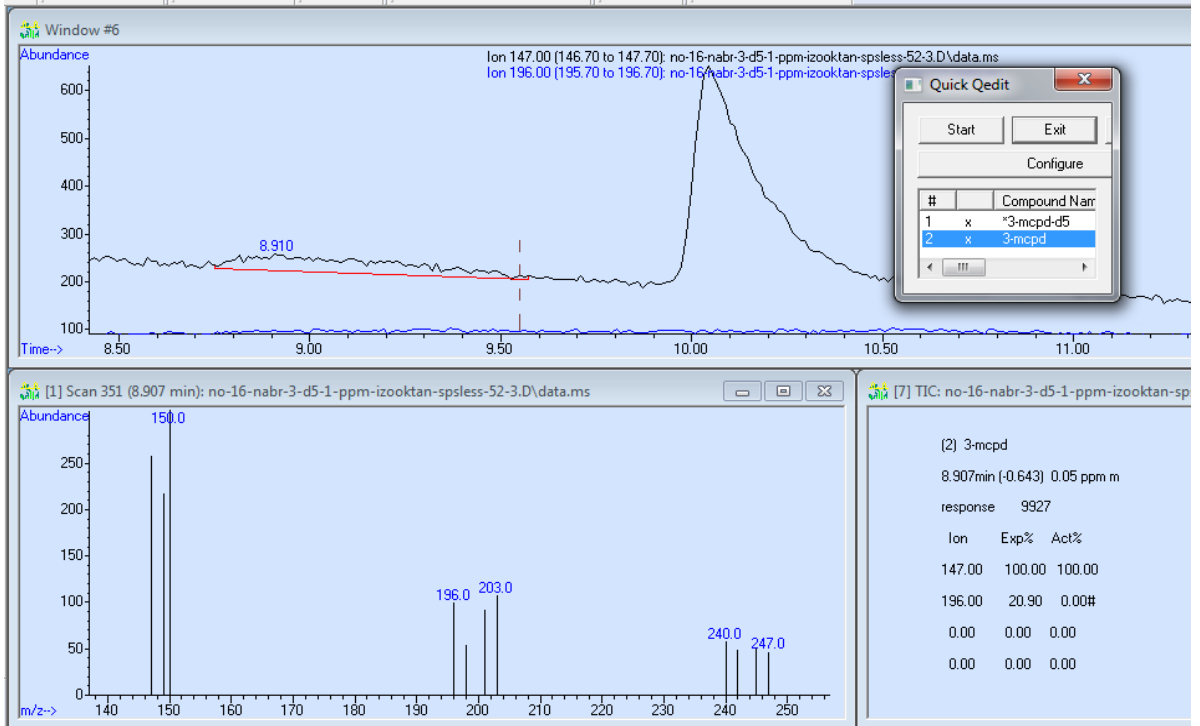
4.2.2. Kızartma Yağındaki Serbest ve Bağlı 3-MCPD Türlerinin Miktarlarının Tespiti ve Üç Boyutlu Grafikler

AOCS'nin Cd 29c-13 resmi metodunda Örnek B olarak belirtilen ve klorür yerine bromür tuzlarının kullanıldığı numunelerdeki serbest ve bağlı 3-MCPD miktarları tespit edilmiştir. Merkezi kompozit tasarım yardımıyla hazırlanan ve kızartma

sonunda elde edilen 16 nolu (200 mg NaCl içeren, 175 °C, 60 dk) numunedeki, iç standart olan 3- MCPD-d5'in qualifier ve quantifier MS spektrumları Şekil 4. 11`de, 3- MCPD`nin qualifier ve quantifier MS spektrumları Şekil 4. 12`de verilmiştir.



Şekil 4. 11 No-16 ayçiçek yağı için serbest ve bağlı 3- MCPD-d5 miktarları kromatogramı



Şekil 4. 12 No-16 ayçiçek yağı için serbest ve bağlı 3- MCPD miktarları kromatogramı

Merkezi kompozit tasarım yardımıyla hazırlanan ve kızartma sonunda serbest ve bağlı 3-MCPD miktarları tespit edilen her bir numuneye ait serbest ve bağlı 3-MCPD miktarları **Tablo 4. 2**'de verilmiştir.

Tablo 4. 2 Süre, sıcaklık, tuzluluk parametrelerine göre, serbest ve bağlı 3-MCPD miktarları

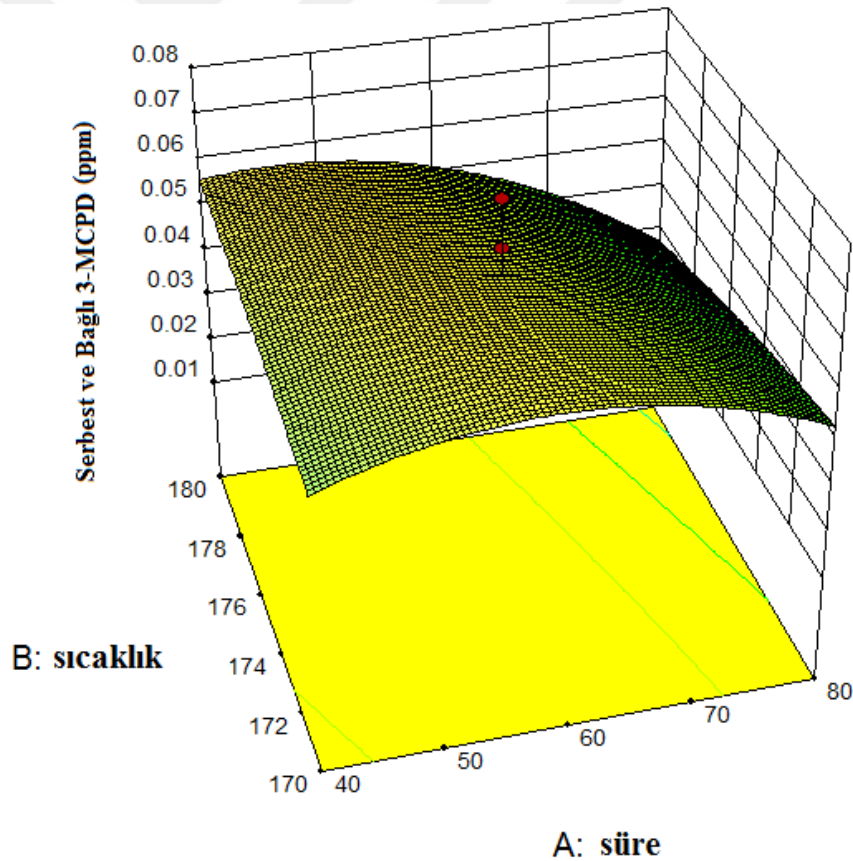
Deney No	A:Süre (dk)	B:Sıcaklık (°C)	C:Tuzluluk (mg)	Serbest ve Bağlı 3-MCPD (mg/kg)
3	40	180	100	0.06
12	60	183	200	0.03
9	26	175	200	0.02
2	80	170	100	0.02
20	60	175	200	0.07
8	80	180	300	0.02
17	60	175	200	0.04
5	40	170	300	0.04
1	40	170	100	0.05
4	80	180	100	0.03
14	60	175	368	0.01
19	60	175	200	0.06
11	60	166	200	0.06
18	60	175	200	0.05
16	60	175	200	0.03
6	80	170	300	0.04
15	60	175	200	0.06
10	93	175	200	0.02
13	60	175	31	0.05
7	40	180	300	0.07

Elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında; her bir parametrenin (sıcaklık, süre ve tuzluluk miktarı) serbest ve bağlı 3-MCPD miktarlarına etkilerinin olduğu **Tablo 4. 2**'de görülmüştür.

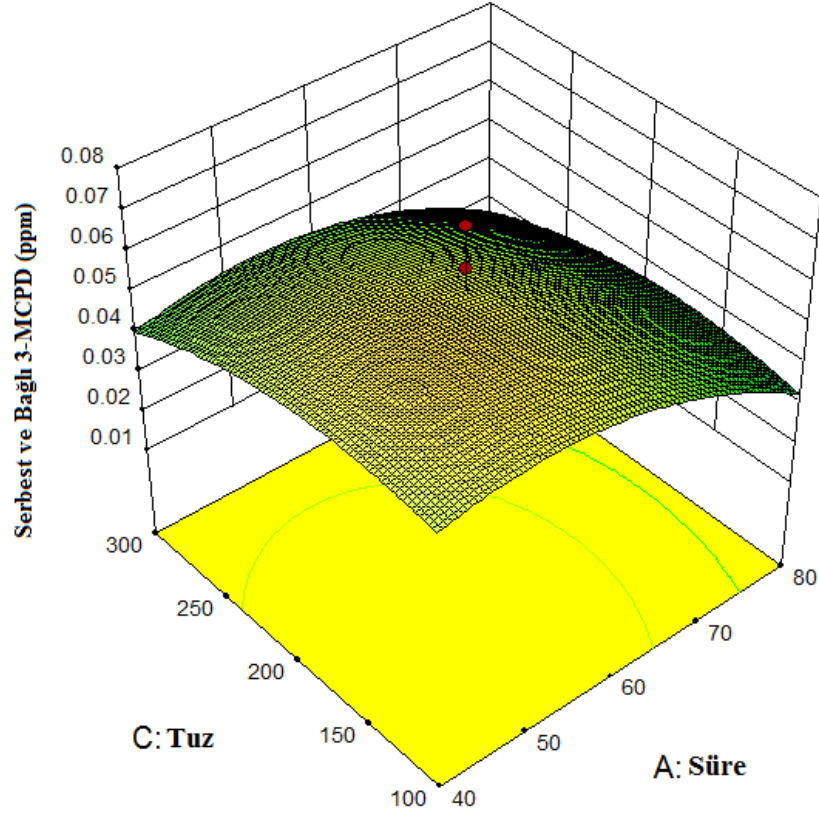
Tablo 4. 2'deki serbest ve bağı 3-MCPD sonuç değerleri kullanılarak Morgan'a göre quadratik polinomal model eşitliği hesaplanmış ve aşağıdaki denklem elde edilmiştir (Morgan, 1995).

$$Y = 0.0546449 - 0.00805456A - 0.00149769B - 0.00419362C - 0.00625AB + 0.00125AC - 0.00125BC - 0.01000534A^2 - 0.00121454B^2 + 0.00651784C^2$$

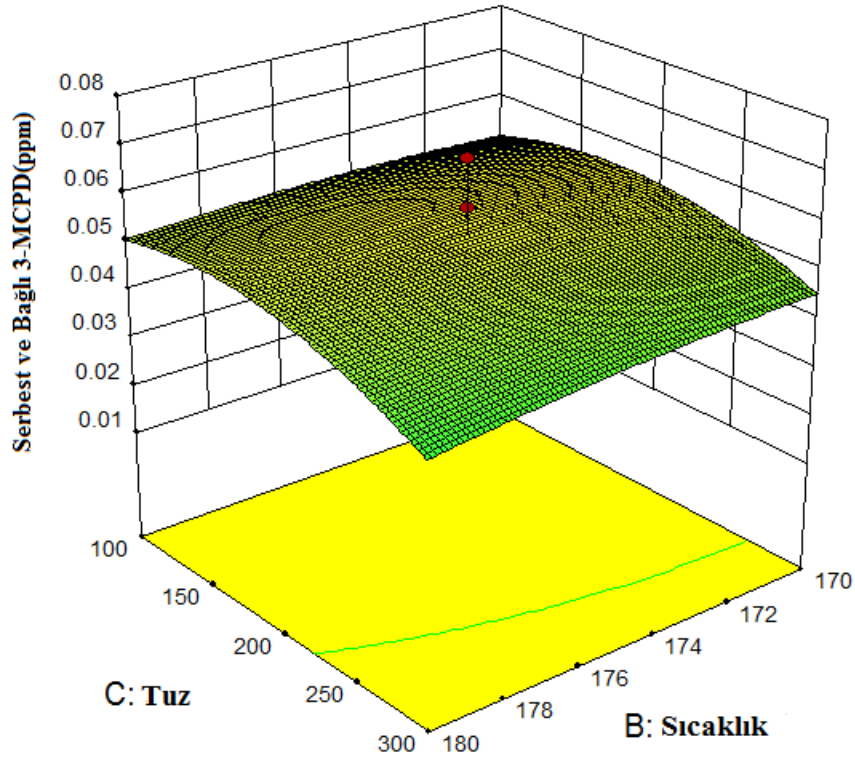
Serbest ve bağı 3-MCPD değerleri ile bağımsız değişkenlerin seviyeleri arasındaki ilişkiyi gosteren ve değişkenlerin optimum noktalarının tespitini sağlayan üç boyutlu yüzey grafikleri çizdirilmiştir. Tuzluluğun sabit tutulduğu (60dk) süre-sıcaklık etkileşimlerini gosteren ikili yüzey grafiği **şekil 4. 13'**de, sıcaklığın sabit tutulduğu (200 mg) süre-tuzluluk etkileşimlerini gosteren ikili yüzey grafiği **şekil 4. 14'**de ve sürenin sabit tutulduğu (175°C) tuzluluk-sıcaklık etkileşimlerini gosteren ikili yüzey grafiği **şekil 4. 15'**da verilmiştir.



şekil 4. 13 Ayçiçek yağının kızartma işlemi sırasında uygulanan sıcaklığın ve sürenin oluşan serbest ve bağı 3-MCPD esterleri miktarına etkisi (üç boyutlu grafik)



Şekil 4. 14 Ayçiçek yağının kızartma işlemi sırasında uygulanan tuzluluk ve sürenin oluşan serbest ve bağlı 3-MCPD esterleri miktarına etkisi (üç boyutlu grafik)

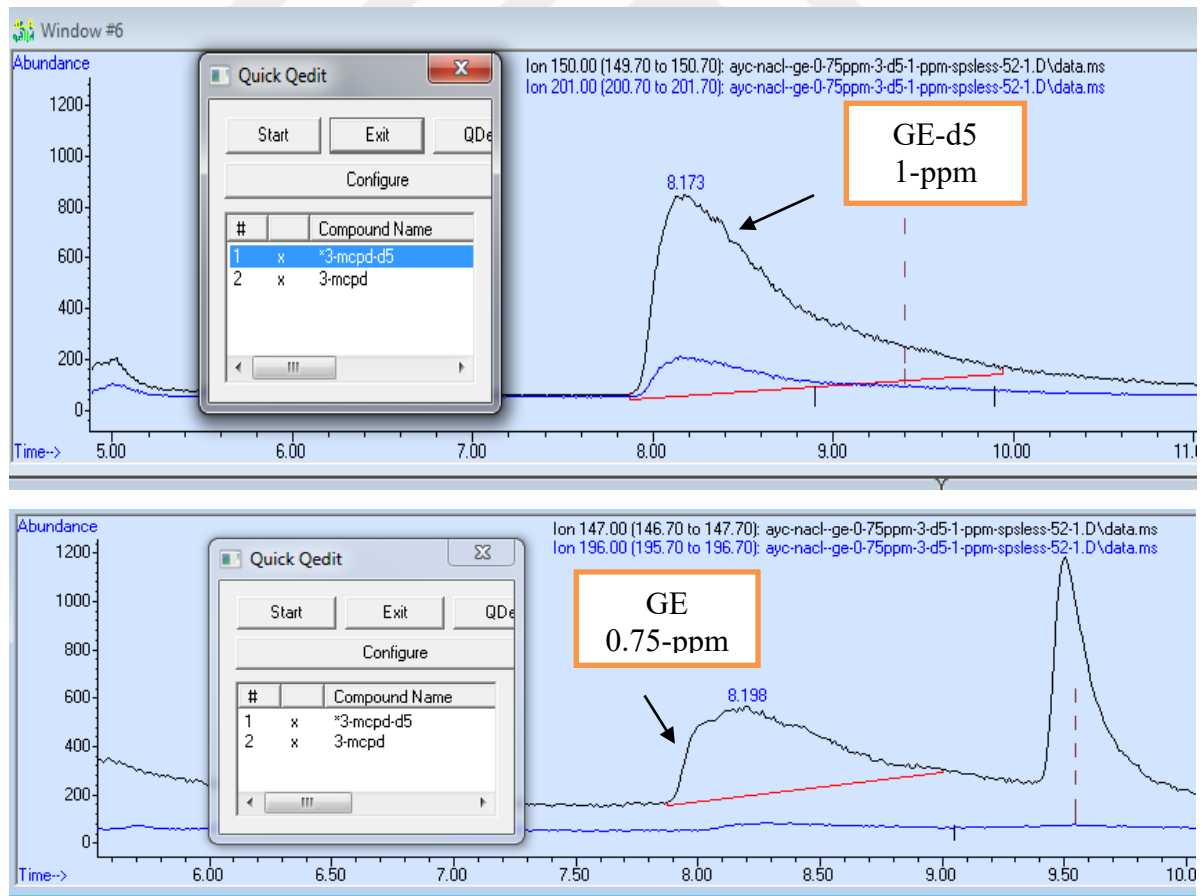


Şekil 4. 15 Ayçiçek yağının kızartma işlemi sırasında uygulanan tuzluluk ve sıcaklığın oluşan serbest ve bağlı 3-MCPD esterleri miktarına etkisi (üç boyutlu grafik)

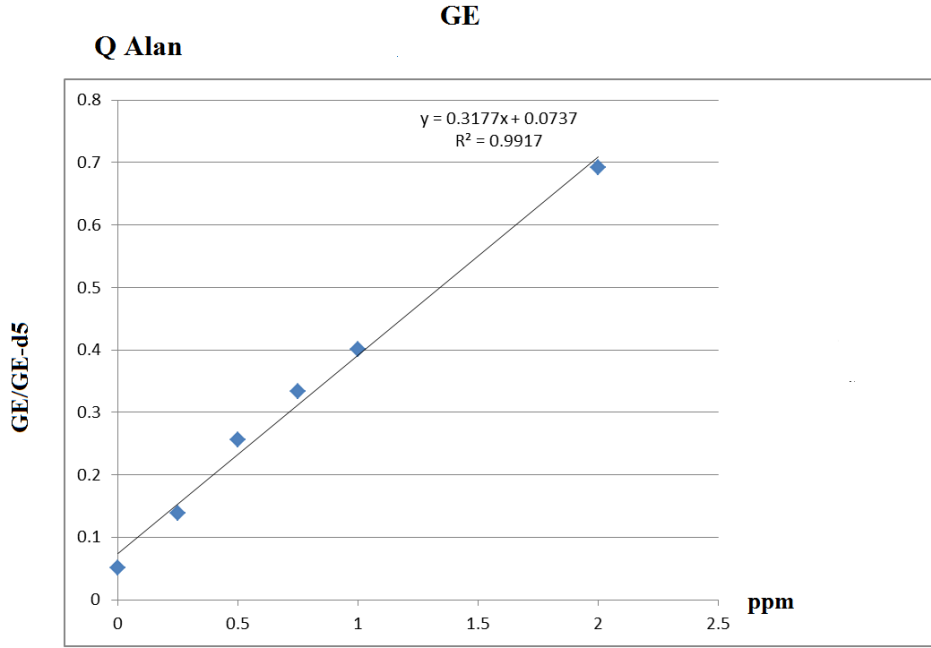
Ayçiçek yağı ile yapılan kızartma işlemleri sırasında serbest ve bağlı 3-MCPD oluşumuna tüm parametrelerin önemli etkilerinin olduğu ve toplam 3-MCPD analizi sonuçlarında olduğu gibi sürenin artmasıyla 3-MCPD türlerinin GE dönüştüğü gözlenmiştir.

4.3. Toplam Glisidil Ester Tayinleri

AOCS'nin Cd 29c-13 resmi metodu kullanılarak gerçekleştirilen analizlerde kızartma yağında bulunan GE miktarları, materyal metotta (başlık 3.5.3.4) verilen hesaplama yöntemine göre bulunmuştur. Toplam GE tayininde kullanılan standart ekleme metodunda standart ekleme aralığı 0.06 ile 0.2 mg/L olarak belirlenmiştir. Hazırlanan numuneler Örnek A uygulamasına göre hidroliz edilmiş ve türevlendirilerek GC/MS cihazına verilmiştir. Kalibrasyon eğrisinde iç standart olarak konsantrasyonu 1mg/L olan GE-Palmitat-d5 kullanılmıştır. 1 mg/L'lik GE-Palmitat-d5 iç standartı ve GE standardına ait 3-MCPD kromatogramı **Şekil 4. 16** de ve standart ekleme yöntemine ait kalibrasyon eğrisi **Şekil 4. 17** de verilmiştir.



Şekil 4. 16 GE'in 3-MCPD'ye dönüşümünü gösteren kromatogram



Şekil 4. 17 GE' in 3-MCPD'e dönüşüm faktörünü gösteren kalibrasyon eğrisi

4.3.1. Kızartma Yağındaki GE Miktarlarının Tespiti ve Üç Boyutlu Grafikler

Standart ekleme yöntemine ait kalibrasyon eğrisinden elde edilen eğim kullanılarak hesaplanan dönüştürme faktörü (t) 3.14 olarak bulunmuştur. Kızartma yağı numunelerinde bulunan GE miktarları, aşağıda verilen formül yardımı ile bulunmuş ve elde edilen sonuçlar **Tablo 4. 3**'de verilmiştir.

$$t=1/m$$

m= standart eklem yönteminden elde edilen eğrinin eğimi

$$W_{glisidil} = t * (W_{3-MCPD(A)} - W_{3-MCPD(B)})$$

$W_{3-MCPD(A)}$: Toplam 3-MCPD'nin mg/kg cinsinden kütlesi.

$W_{3-MCPD(B)}$: Serbest ve bağlı 3-MCPD'nin mg/kg cinsinden kütlesi.

Tablo 4. 3 Süre, sıcaklık, tuzluluk parametrelerine göre GE miktarları

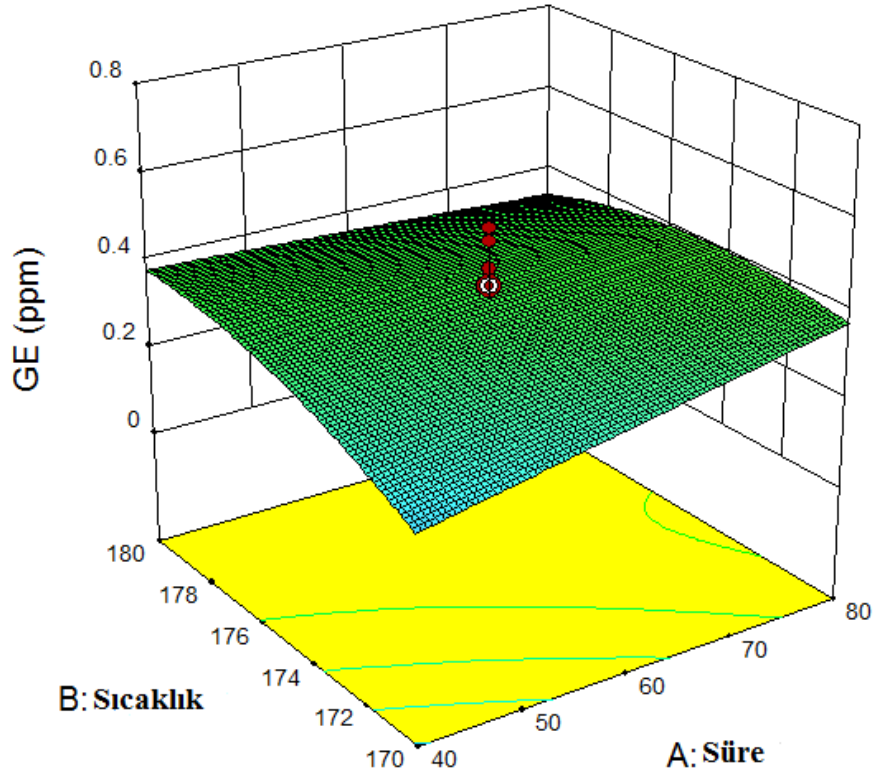
Deney No	A:Süre (dk)	B:Sıcaklık (°C)	C:Tuzluluk (mg)	Toplam GE (mg/kg)
3	40	180	100	0.37
12	60	183	200	0.18
9	26	175	200	0.09
2	80	170	100	0.47
20	60	175	200	0.5
8	80	180	300	0.37
17	60	175	200	0.25
5	40	170	300	0.34
1	40	170	100	0.34
4	80	180	100	0.44
14	60	175	368	0.66
19	60	175	200	0.53
11	60	166	200	0.09
18	60	175	200	0.44
16	60	175	200	0.47
6	80	170	300	0.37
15	60	175	200	0.15
10	93	175	200	0.44
13	60	175	31	0.06
7	40	180	300	0.72

Elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında; her bir parametrenin (sıcaklık, süre ve tuzluluk miktarı) toplam GE miktarına önemli etkilerinin olduğu **Tablo 4. 3**'de görülmüştür. En yüksek GE miktarının (0,72 mg/kg) 40 dk. 180 °C sıcaklık ve 300 mg tuz miktarının olduğu şartlarda görülürken, En düşük GE miktarının (0,06 mg/kg) ise 60 dk. 175 °C sıcaklık, 31 mg tuz miktarı olduğu şartlarda belirlenmiştir.

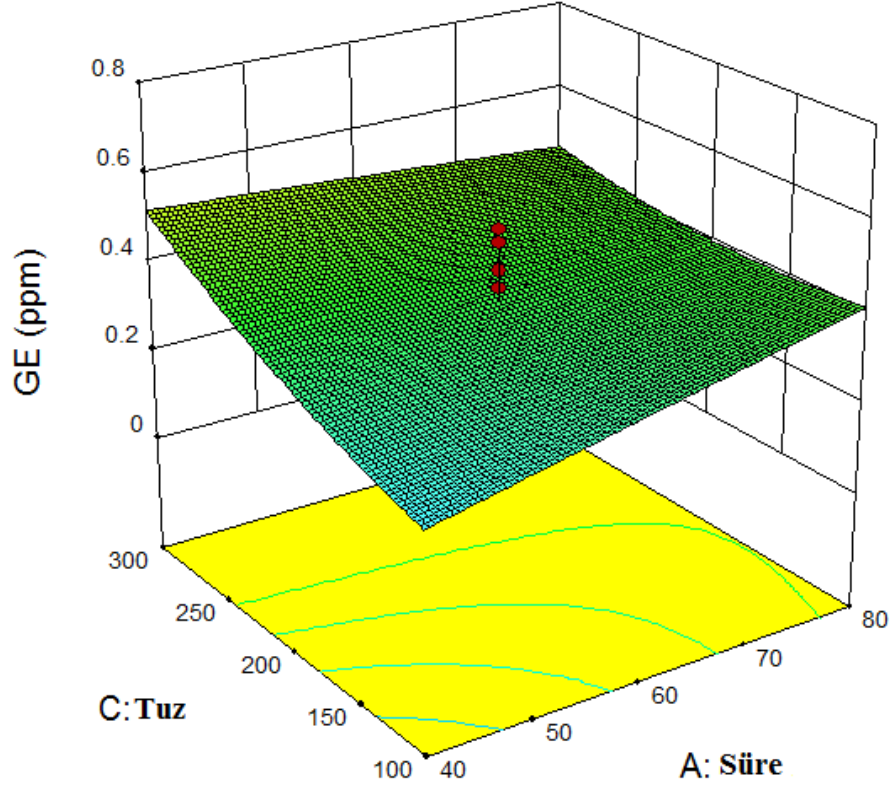
Tablo 4. 3'deki toplam GE değerleri kullanılarak Morgan'a göre quadratik polinomal model eşitliği hesaplanmış ve aşağıdaki denklem elde edilmiştir (Morgan, 1995).

$$Y = 0.372465 + 0.0343145A + 0.038908B + 0.087068C - 0.055AB - 0.065AC + 0.00475BC - 0.00171593A^2 - 0.0476779B^2 + 0.0318716C^2$$

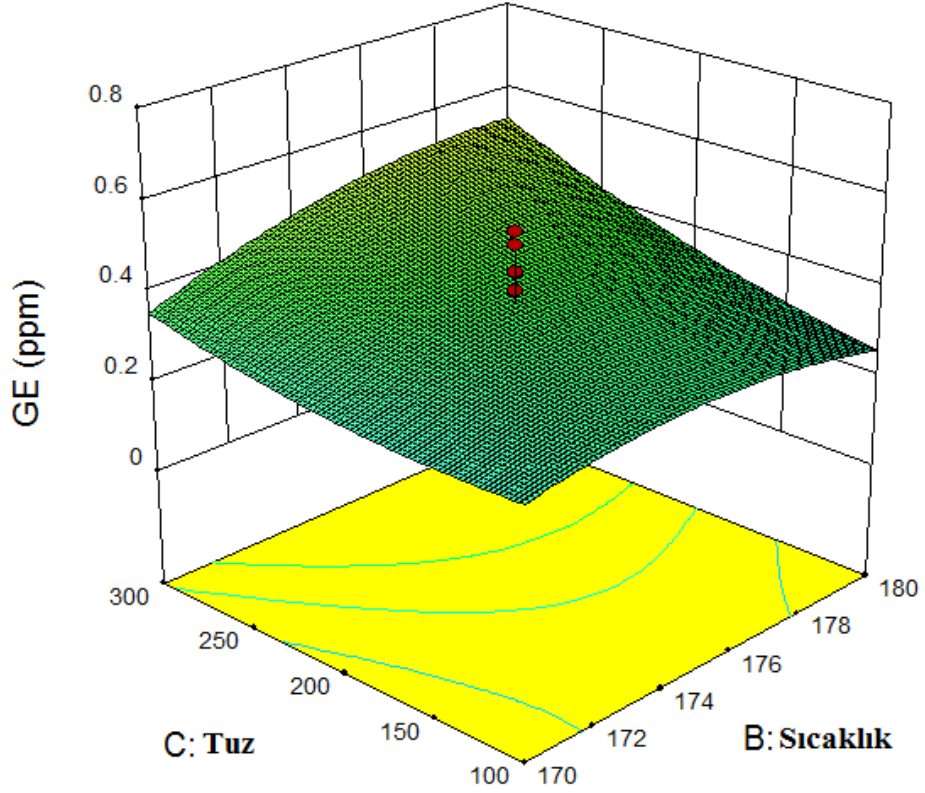
GE değerleri ile bağımsız değişkenlerin seviyeleri arasındaki ilişkiyi gösteren ve değişkenlerin optimum noktalarının tespitini sağlayan  boyutlu yüzey grafikleri çizdirilmiştir. Tuzluluğun sabit tutulduğu (60dk) süre-sıcaklık etkileşimlerini gösteren ikili yüzey grafiği **şekil 4. 18**'de, sıcaklığın sabit tutulduğu (200 mg) süre-tuzluluk etkileşimlerini gösteren ikili yüzey grafiği **şekil 4. 19**'de ve sürenin sabit tutulduğu (175°C) tuzluluk-sıcaklık etkileşimlerini gösteren ikili yüzey grafiği **şekil 4. 20**'da verilmiştir.



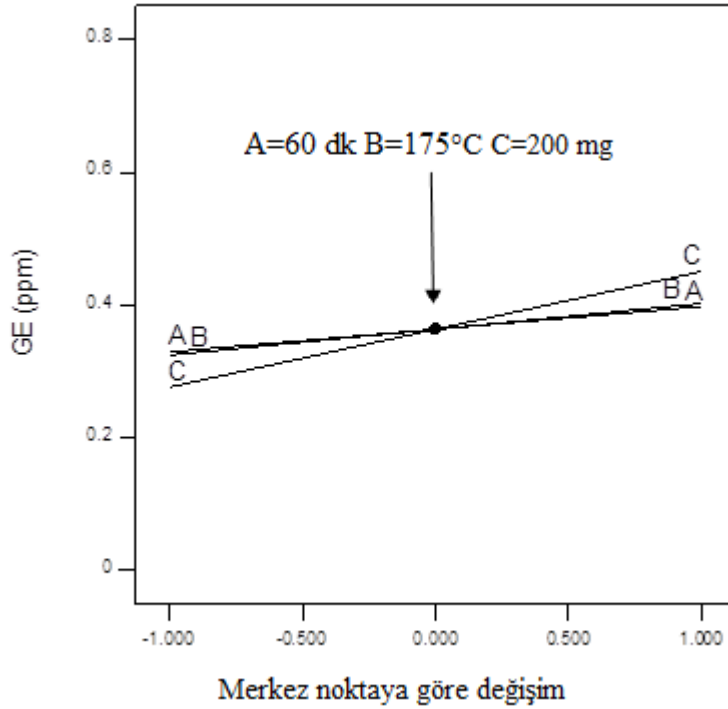
şekil 4. 18 Ayecek yağının kızartma işlemi sırasında uygulanan süre ve sıcaklığın oluşan GE miktarına etkisi ( boyutlu grafik)



Şekil 4. 19 Ayçiçek yağının kızartma işlemi sırasında uygulanan tuzluluk ve sürenin oluşan GE miktarına etkisi (üç boyutlu grafik)



Şekil 4. 20 Ayçiçek yağının kızartma işlemi sırasında uygulanan tuzluluk ve sıcaklığın oluşan GE miktarına etkisi (üç boyutlu grafik)



Şekil 4. 21 Kızartma işlemi sırasında ayçiçek yağında oluşan GE işlem parametrelerinin etkisini gösteren pertürbasyon eğrileri [A-Süre (dk), B-Sıcaklık (°C), C-Tuzluluk (mg)]

Şekil 4. 21'da pertürbasyon eğrilerine bakıldığında, en yüksek eğim çizgisine sahip olan faktörün tuzluluk olduğu görülmektedir. Bu sebeple tüm faktörler arasında GE için tuzluluğun ayçiçek yağı ile kızartma işlemi sırasında en etkili faktör olduğu anlaşılmaktadır. Süre, sıcaklık ve tuz miktarının artması kızartma ortamında bulunan MCPD ester türlerinin GE türlerine dönüştüğünü göstermiştir.

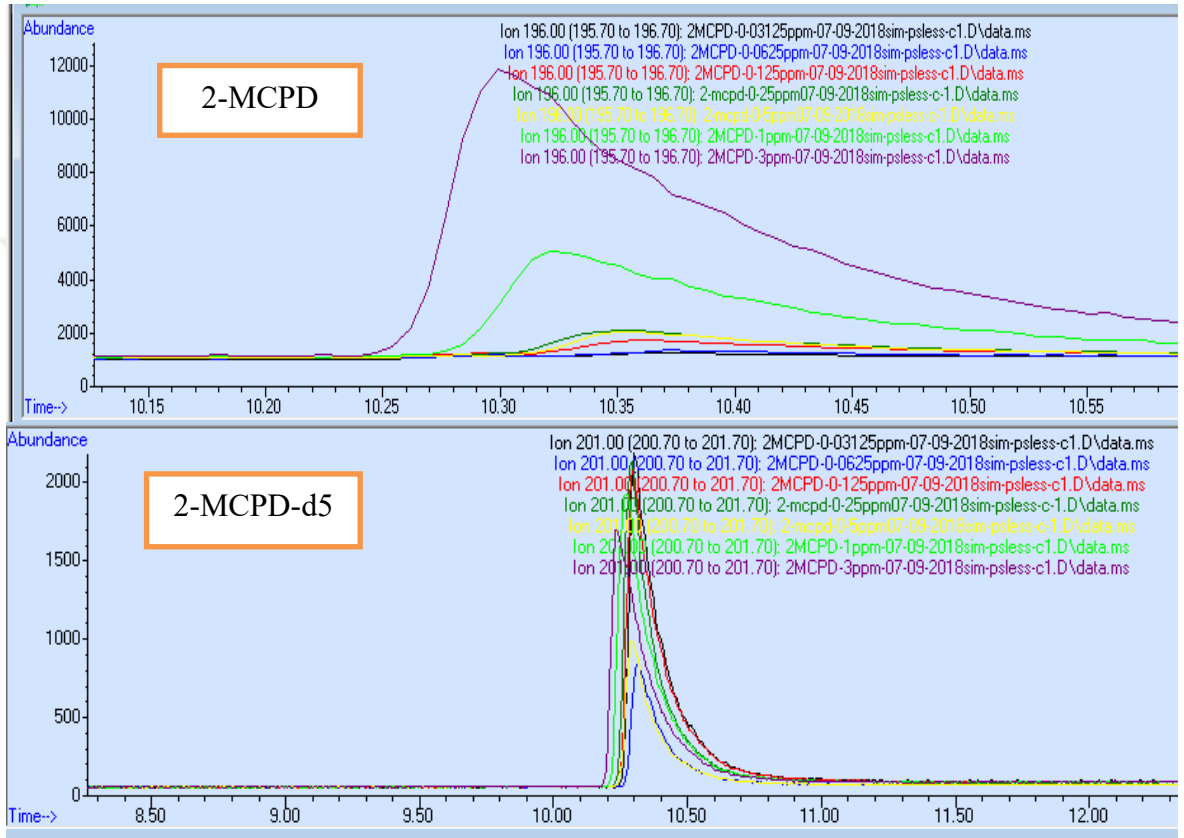
4. 4. Toplam 2-MCPD Tayinleri

Yağda bulunan toplam 2-MCPD tayini için AOCS'nin Cd 29c-13 resmi metoduna göre deneyler yapılmış ve çizilen kalibrasyon eğrisi yardımıyla merkezi kompozit tasarımdan elde edilen kızartma yağı numunelerindeki miktarları tespit edilmiştir. Merkezi kompozit tasarımda cevap değeri olarak yerleştirilen 2-MCPD türlerinin üç boyutlu grafikleri ve pertürbasyon eğrileri Design Expert programında çizilmiştir. Yapılan çalışmalar ile ilgili detaylar aşağıda alt başlıklar halinde verilmiştir.

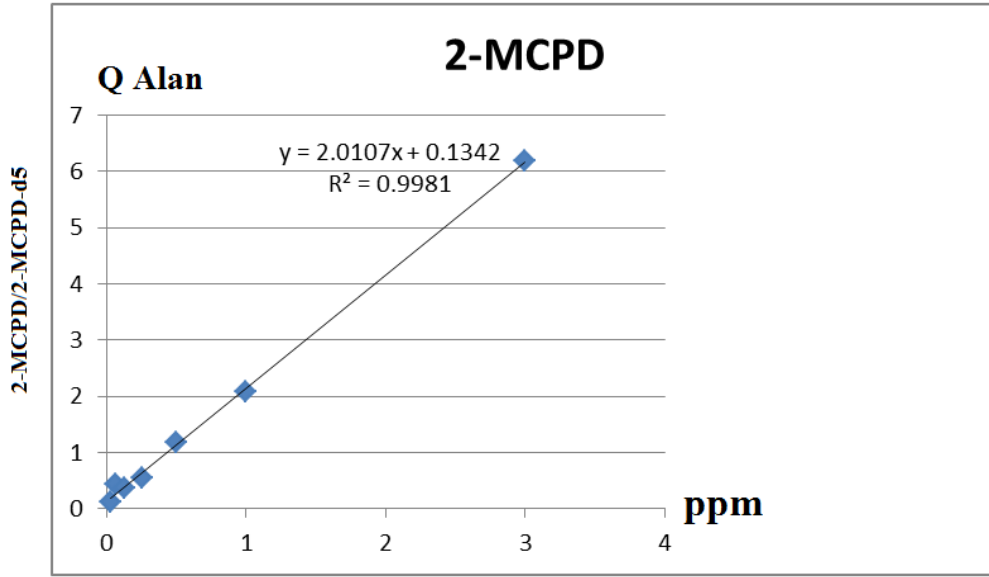
4.4.1. Kalibrasyon Eğrisi

Toplam 2-MCPD miktarlarının tespiti için literatürde yapılan çalışmalar göz önünde bulundurularak kalibrasyon için 0.03 ile 3 mg/L aralığında standartlar hazırlanarak türevlendirilmiş ve GC-MS cihazına verilmiştir. Kalibrasyon eğrisi ve

gerçek yağ numunelerindeki 2-MCPD türlerinin tayininde konsantrasyonu 1mg/L olan serbest formdaki 2-MCPD-d5 iç standardı kullanılmıştır. 1 mg/L'lik 2-MCPD-d5 iç standartı ve serbest 2-MCPD standartlarına ait kromatogramlar **Şekil 4. 22**'de verilmiştir. Kalibrasyon eğrisi elde edilmesi için farklı konsantrasyonlarda hazırlanan serbest formdaki 2-MCPD standartlarının (0,03-3 mg/L) kalibrasyon eğrisi **Şekil 4. 23**'de verilmiştir.



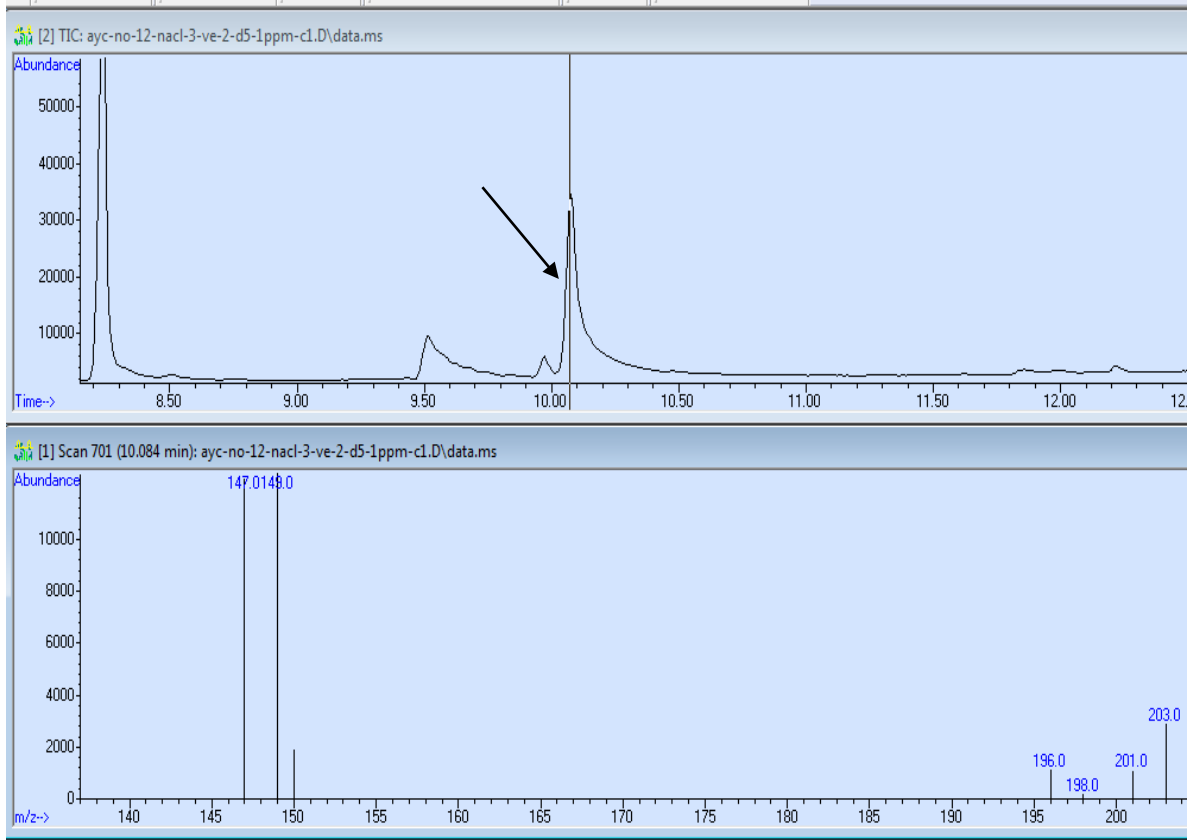
Şekil 4. 22 2-MCPD ve 2-MCPD-d5 kalibrasyon kromatogramı



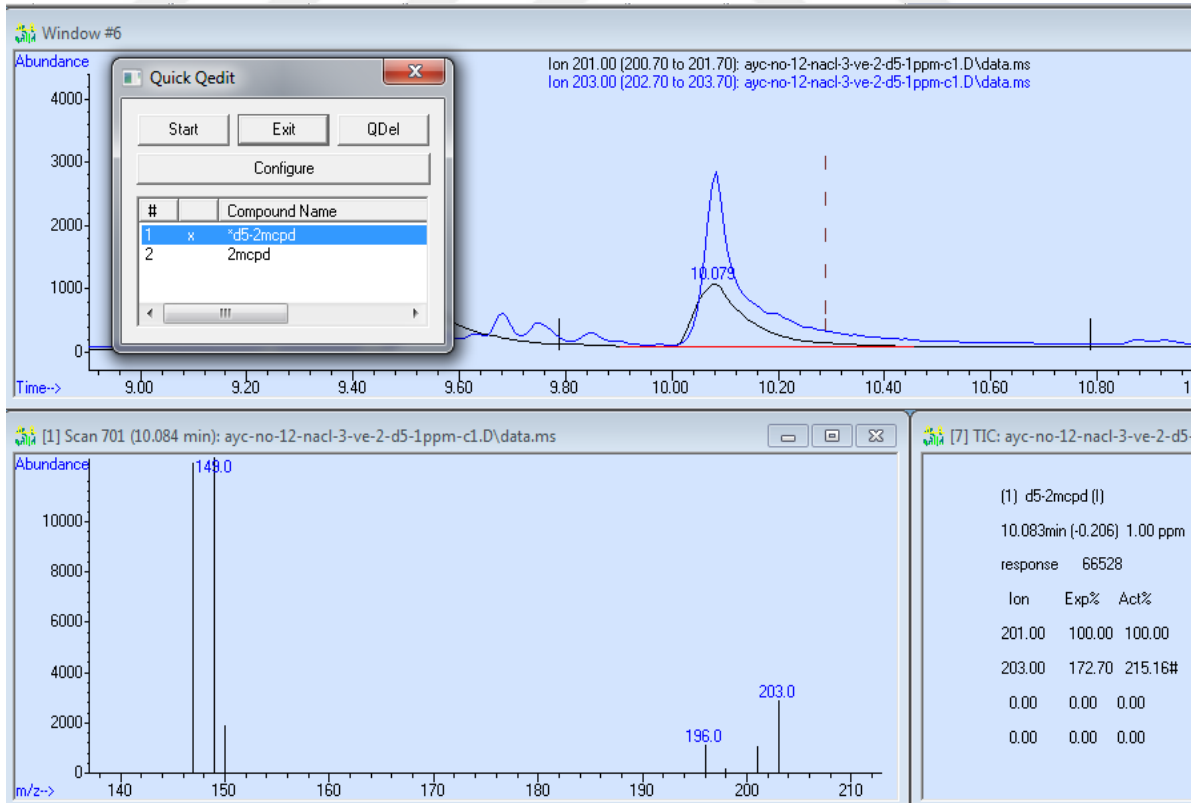
Şekil 4. 23. 2-MCPD standartlarının kalibrasyon eğrisi

4.4.2. Kızartma Yağındaki Toplam 2- MCPD Miktarlarının Tespiti ve Üç Boyutlu Grafikler

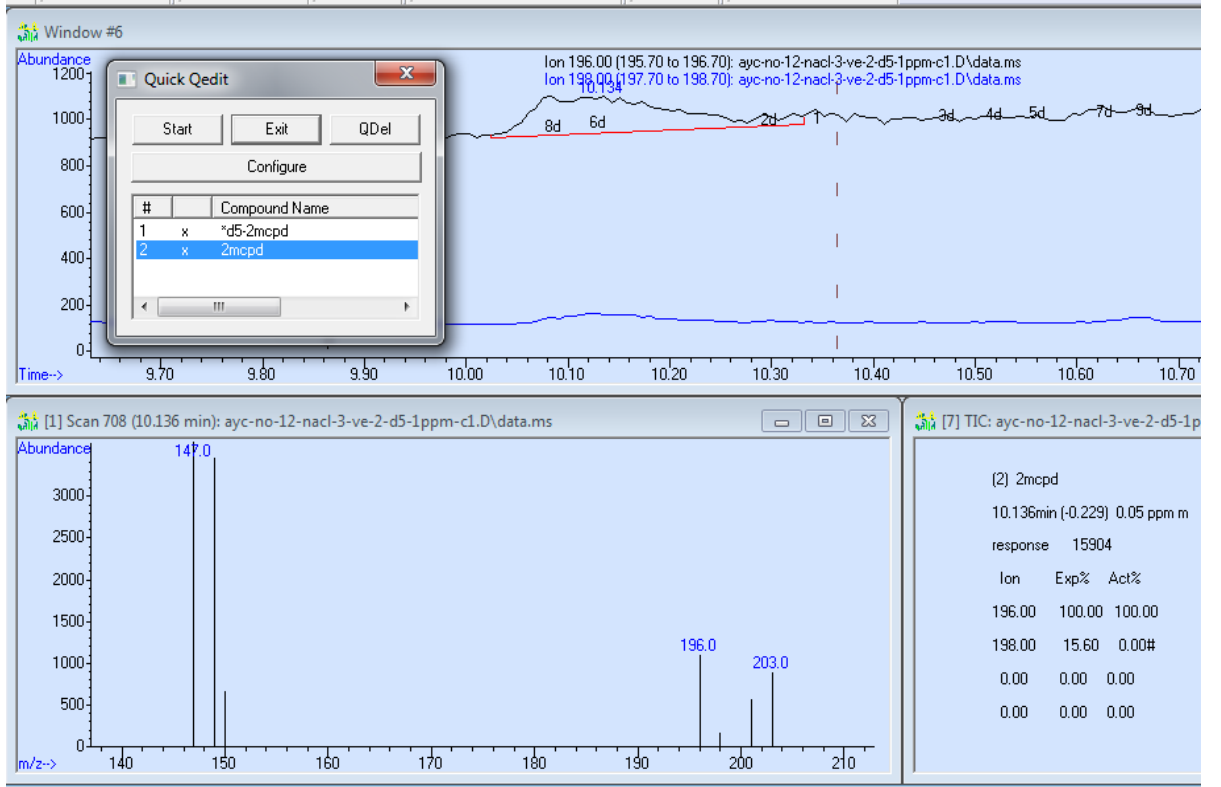
Merkezi kompozit tasarım yardımıyla farklı tuz miktarı, sıcaklık ve sürelerde kızartma işlemine tabi tutulacak yağ numuneleri hazırlanmıştır. Hazırlanan bu yağ numuneleri patates kızartması işlemlerinde kullanılmış ve oda sıcaklığına soğutulularak analiz edilmişlerdir. Elde edilen kalibrasyon eğrisi yardımıyla her bir yağ numunesindeki 2-MCPD miktarları tespit edilmiştir. Merkezi kompozit tasarım yardımıyla hazırlanan ve kızartma sonunda toplam 2-MCPD miktarları tespit edilen 12 nolu (200 mg NaCl içeren, 183 °C, 60 dk) numuneye ait kromatogram Şekil 4. 24`de verilmiştir. Ayrıca iç standart olan 2-MCPD-d5`in qualifier ve quantifier MS spektrumları Şekil 4. 25`de, 12 nolu numuneye ait 2- MCPD qualifier ve quantifier MS spektrumları Şekil 4. 26`de verilmiştir.



Şekil 4. 24 No-12 ayçiçek yağı için kromatogram



Şekil 4. 25 No-12 ayçiçek yağı için 2-MCPD-d5 kromatogramı



Şekil 4. 26 No-12 ayçiçek yağı için 2-MCPD kromatogramı

Merkezi kompozit tasarım yardımıyla hazırlanan ve kızartma sonunda toplam 2-MCPD miktarları tespit edilen her bir numuneye ait toplam 2-MCPD miktarları **Tablo 4. 4** de verilmiştir

Tablo 4. 4 Süre, sıcaklık, tuzluluk parametrelerine göre 2-MCPD miktarları

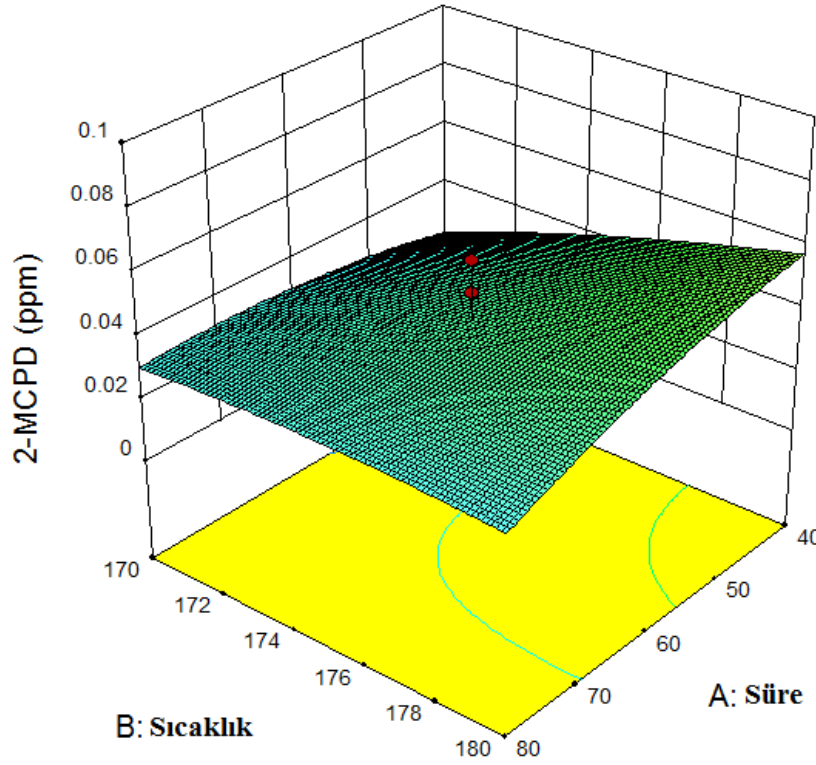
Deney No	A:Süre (dk)	B:Sıcaklık (°C)	C:Tuzluluk (mg)	Toplam 2-MCPD (mg/kg)
3	40	180	100	0.02
12	60	183	200	0.05
9	26	175	200	0.03
2	80	170	100	0.05
20	60	175	200	0.02
8	80	180	300	0.02
17	60	175	200	0.06
5	40	170	300	0.03
1	40	170	100	0.02
4	80	180	100	0.03
14	60	175	368	0.03
19	60	175	200	0.04
11	60	166	200	0.01
18	60	175	200	0.06
16	60	175	200	0.02
6	80	170	300	0.01
15	60	175	200	0.05
10	93	175	200	0.02
13	60	175	31	0.01
7	40	180	300	0.09

Elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında; her bir parametrenin (sıcaklık, süre ve tuzluluk miktarı) toplam 2-MCPD miktarına önemli etkilerinin olduğu **Tablo 4. 4**'de görülmüştür. En yüksek 2-MCPD miktarının (0,09 mg/kg) 40 dk. 180 °C sıcaklık ve 300 mg tuz miktarının olduğu şartlarda görülürken, En düşük 2-MCPD miktarının (0,01 mg/kg) ise 60 dk. 166 °C sıcaklık, 200 mg tuz miktarı olduğu şartlarda belirlenmiştir.

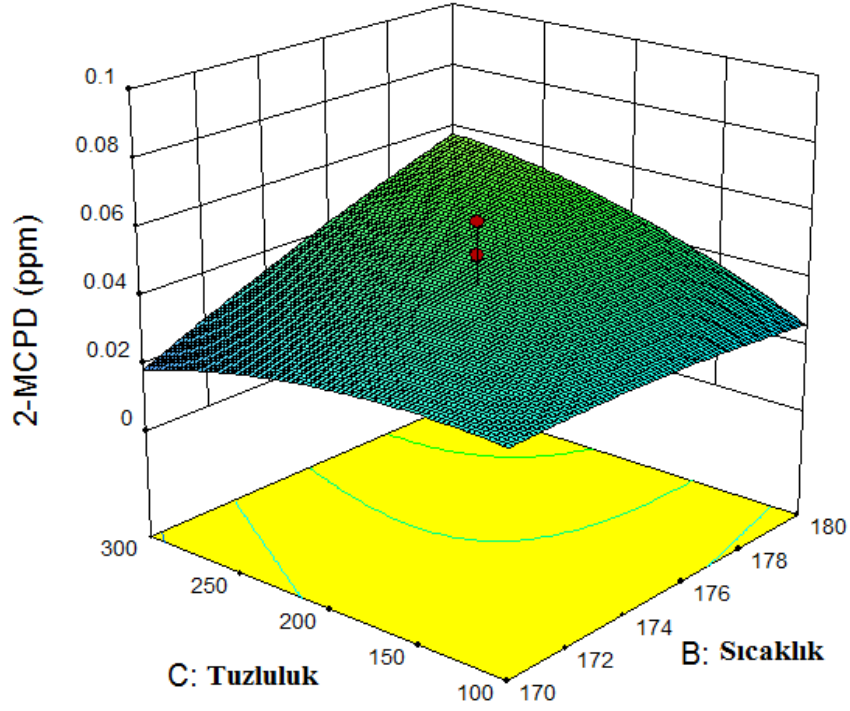
Tablo 4. 4'deki toplam 2-MCPD değerleri kullanılarak Morgan'a göre quadratik polinomal model eşitliği hesaplanmış ve aşağıdaki denklem elde edilmiştir (Morgan, 1995).

$$Y = 0.0413515 - 0.00489263A + 0.00858702B + 0.00465963C - 0.00875AB - 0.01625AC + 0.01125BC - 0.00383275A^2 - 0.00206498B^2 + 0.00560052C^2$$

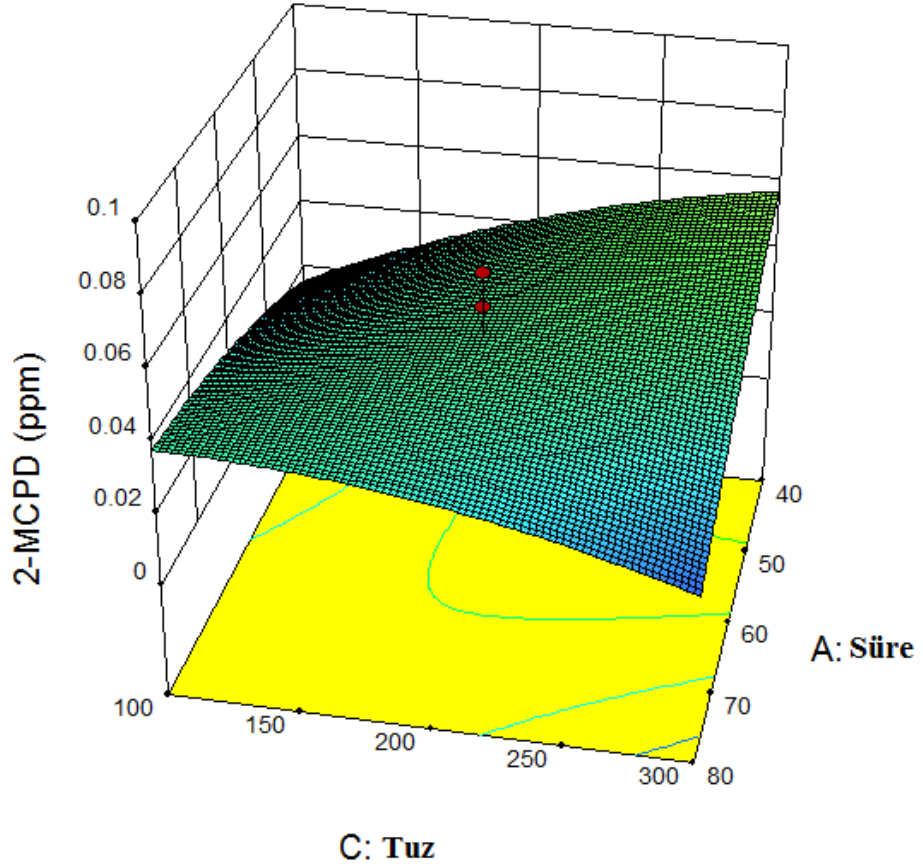
Toplam 2-MCPD değerleri ile bağımsız değişkenlerin seviyeleri arasındaki ilişkiyi gösteren ve değişkenlerin optimum noktalarının tespitini sağlayan üç boyutlu yüzey grafikleri çizdirilmiştir. Tuzluluğın sabit tutulduğu (60dk) tuzluluk-sıcaklık etkileşimlerini gösteren ikili yüzey grafiği **Şekil 4. 27**'de, sıcaklığın sabit tutulduğu (200 mg) süre-tuzluluk etkileşimlerini gösteren ikili yüzey grafiği **Şekil 4. 28**'de ve sürenin sabit tutulduğu (175°C) tuzluluk-sıcaklık etkileşimlerini gösteren ikili yüzey grafiği **Şekil 4. 29**'da verilmiştir.



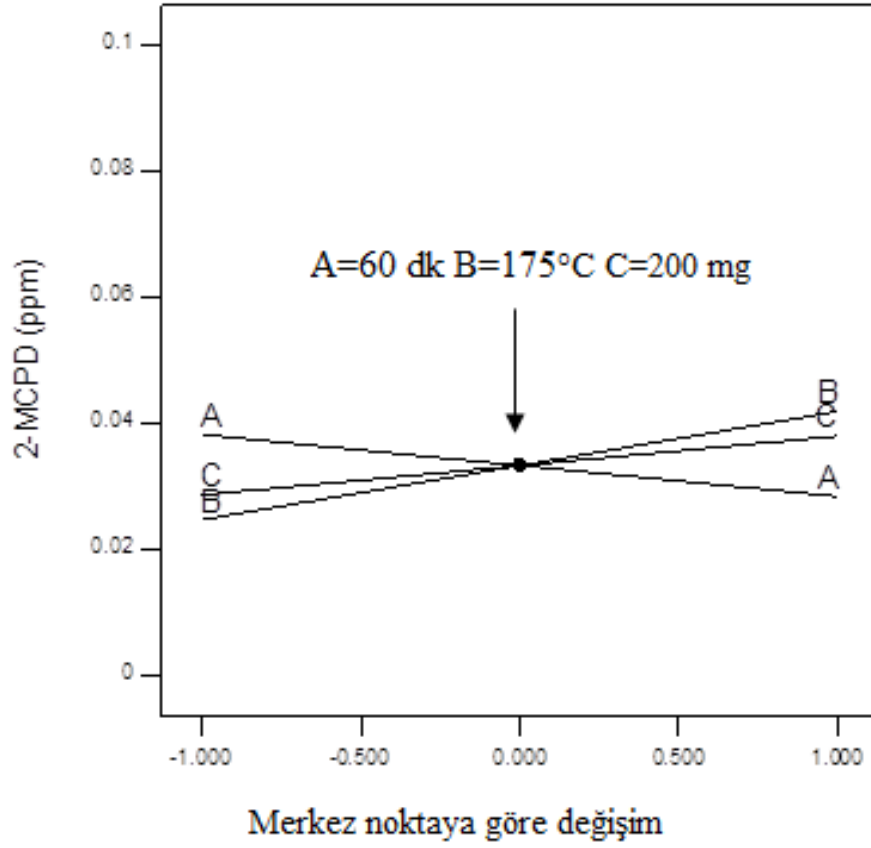
Şekil 4. 27 Ayçiçek yağının kızartma işleminde uygulanan tuzluluk ve sürenin oluşan 2-MCPD esterleri miktarına etkisi (üç boyutlu grafik)



Şekil 4. 28 Ayçiçek yağının kızartma işlemi sırasında uygulanan tuzluluk ve sıcaklığın oluşan 2-MCPD esterleri miktarına etkisi (üç boyutlu grafik)



Şekil 4. 29 Ayçiçek yağının kızartma işlemi sırasında uygulanan sıcaklık ve sürenin oluşan 2-MCPD esterleri miktarına etkisi (üç boyutlu grafik)



Şekil 4. 30 Kızartma işlemi sırasında ayçiçek yağında oluşan 2-MCPD esterleri işlem parametrelerinin etkisini gösteren pertürbasyon eğrileri [A-Süre, B-Sıcaklık (°C), C-Tuzluluk (mg)]

Şekil 4. 30'de pertürbasyon eğrilerine bakıldığı zaman, en yüksek eğim çizgisine sahip olan faktörün sıcaklık olduğu görülmektedir. Bu sebeple tüm faktörler arasında 2-MCPD için sıcaklığın ayçiçek yağı ile kızartma işleminde 2-MCPD esterlerinin oluşumu üzerinde en etkili faktör olduğu görülmüştür.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında; insan sağlığı üzerine olumsuz etkileri olan, yağların rafinasyonu sırasında işlem bulaşanı olarak ortaya çıkan, kızartma işlemi sırasında sıcaklık, süre ve tuzluluk gibi paramterelere bağlı olarak oluşan, ancak ülkemizde yeterince çalışma alanı bulamamış 2-MCPD, 3-MCPD ve GE'lerin ayçiçek yağı ile yapılan kızartma işlemlerindeki oluşumları ve miktarları merkezi kompozit tasarım kullanılarak kromatografik metotlarla incelenmeye çalışılmıştır. Çalışmalar sırasında literatürde yer alan resmi AOCS metodu kullanılarak serbest ve yağ asitleri ile birlikte gliserol molekülüne bağlı halde bulunan 2-MCPD, 3-MCPD ve GE türlerinin tamamı tespit edilmiştir.

Kızartma deneylerinde 2-MCPD, 3-MCPD ve GE türlerinin oluşumuna sıcaklık, süre ve tuzluluk miktarının etkisini incelemek için 5 seviyeli 3 faktörlü kısmi bir deneysel tasarım kullanılmıştır. Merkezi kompozit tasarımda sıcaklık, süre ve tuzluluk miktarı değişkenlerinin deneysel tasarımda etkilerinin incelenmesi için cevap değeri olarak 2-MCPD, 3-MCPD ve GE miktarları kullanılmış ve üç boyutlu grafikleri çizilmiştir.

Üç boyutlu grafiklerden ve pertürbasyon eğrilerinden elde edilen sonuçlara göre; 3-MCPD ve 2-MCPD türlerinin sıcaklık ve tuzluluğa bağlı olarak arttığı görülürken kızartma süresinin artması ile beraber bu türlerin GE dönüştüğü gözlenmiştir (**Tablo 5. 1**). Ortam sıcaklığının artmasıyla beraber MCPD yıkım hızının MCPD oluşum hızından daha fazla olduğu görülmüş ve kızartma süresinin artması ile GE miktarının arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca merkezi kompozit tasarım sonuçlarına göre sıcaklık, süre ve tuzluluğun en az olduğu değerlerde MCPD ve GE oluşumunun minimum miktarda olduğu görülmüştür.

Elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında; sürenin 40 dk sıcaklığın 180 °C ve tuz miktarının 300 mg olduğu şartlarda en yüksek toplam 3-MCPD (serbest 3-MCPD, bağlı 3-MCPD ve GE'den gelen) miktarının 0,3 mg/kg olduğu görülürken, 0,05 mg/kg ile en düşük 3-MCPD miktarının sürenin 26 dk sıcaklığın 175 ° ve tuz miktarının 200 mg olduğu şartlarda belirlenmiştir.

Tablo 5. 1 Süre, sıcaklık, tuzluluk parametrelerine göre 2-MCPD, 3-MCPD ve GE miktarları

No	A:Süre (dk)	B:Sıcaklık (°C)	C:Tuz (mg)	2-MCPD (mg/kg)	Serbest ve Bağlı 3-MCPD (mg/kg)	Toplam 3-MCPD (mg/kg)	GE (mg/kg)
3	40	180	100	0.02	0.06	0.18	0.37
12	60	183	200	0.05	0.03	0.09	0.18
9	26	175	200	0.03	0.02	0.05	0.09
2	80	170	100	0.05	0.02	0.17	0.47
20	60	175	200	0.02	0.07	0.23	0.5
8	80	180	300	0.02	0.02	0.14	0.37
17	60	175	200	0.06	0.04	0.12	0.25
5	40	170	300	0.03	0.04	0.15	0.34
1	40	170	100	0.02	0.05	0.16	0.34
4	80	180	100	0.03	0.03	0.17	0.44
14	60	175	368	0.03	0.01	0.22	0.66
19	60	175	200	0.04	0.06	0.23	0.53
11	60	166	200	0.01	0.06	0.09	0.09
18	60	175	200	0.06	0.05	0.19	0.44
16	60	175	200	0.02	0.03	0.18	0.47
6	80	170	300	0.01	0.04	0.16	0.37
15	60	175	200	0.05	0.06	0.11	0.15
10	93	175	200	0.02	0.02	0.16	0.44
13	60	175	31	0.01	0.05	0.07	0.06
7	40	180	300	0.09	0.07	0.3	0.72

Kızartma işlemleri sırasında serbest ve bağlı 3-MCPD oluşumuna tüm parametrelerin önemli etkilerinin olduğu ve toplam 3-MCPD analizi sonuçlarında olduğu gibi sürenin artmasıyla 3-MCPD türlerinin GE dönüştüğü gözlenmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre; tüm faktörler arasında GE oluşumu için tuzluluğun kızartma işlemi sırasında en etkili faktör olduğu anlaşılmış ve süre, sıcaklık ve tuz miktarının artması ile kızartma ortamında bulunan MCPD ester türlerinin GE türlerine dönüştüğü gözlenmiştir.

Toplam 3-MCPD analizlerinde olduğu gibi; toplam 2-MCPD miktarına her bir kemometrik parametrenin önemli etkilerinin olduğu görülmüş ve en yüksek 2-MCPD miktarının 0,09 mg/kg, en düşük 2-MCPD miktarının 0,01 mg/kg olduğu bulunmuştur.

Sonuç olarak; bu tez çalışması ile ülkemizde en çok tercih edilen kızartma yağlarının başında gelen ayçiçek yağı ile gerçekleştirilen kızartma işlemi sırasında,

kızartma koşullarının oluşan bu gıda kirleticilerine etkileri merkezi kompozit tasarım yöntemi kullanılarak incelenmiş ve elde edilen sonuçlar ayrıntılı olarak irdelenmiştir. Ayrıca bu çalışmanın; ülkemizde MCPD ve GE üzerine yapılan çalışmaların ülkemizde yapılacak çalışmalar için öncü olacağı ve literatüre önemli bir katkı yapacağı ortaya konulmuştur.



KAYNAKLAR

- Andres, S., Appel, K. E. ve 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.
- AOCS, J., 2013, JOCS Official Method Cd 29c-13: Fatty-acidbound 3-chloropropane-1, 2, diol (3-MCPD) and 2, 3-epoxi-propane-1-ol (glycidol), Determination in Oils and Fats by GC/MS (Differential Measurement), *Official Methods and Recommended Practices of the AOCS, 3rd printing*, 2014.
- Arslan, F., 2009, Ülkemizde Üretilen Pamuk Yağlarının Rafinasyonunun İyileştirilmesiyle Kullanım Verimliliklerinin Artırılması.
- Ayyıldız, H. F., 2010, Farklı Pişirme Tekniklerinin, Dondurulmuş Et Köftelerinde Bulunan Yağların Fiziko-Kimyasal Özellikleri Üzerine Etkilerinin İncelenmesi, *Selçuk Üniversitesi Konya*.
- Baer, I., de la Calle, B. ve Taylor, P., 2010, 3-MCPD in food other than soy sauce or hydrolysed vegetable protein (HVP), *Analytical and bioanalytical chemistry*, 396 (1), 443-456.
- Bengtsson, N. ve Jakobsson, B., 1974, Cooking of meat patties for freezing: a comparison of conventional methods and their combination with microwave heating, *Microwave energy applications Newsletter*, 7 (6), 3-10.
- Calta, P., Velišek, J., Doležal, M., Hasnip, S., Crews, C. ve Réblová, Z., 2004, Formation of 3-chloropropane-1, 2-diol in systems simulating processed foods, *European Food Research and Technology*, 218 (6), 501-506.
- Chang, S. S., Peterson, R. J. ve Ho, C. T., 1978, Chemical reactions involved in the deep-fat frying of foods1, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 55 (10), 718-727.
- Costa, R. M., Oliveira, F. A., Delaney, O. ve Gekas, V., 1999, Analysis of the heat transfer coefficient during potato frying, *Journal of Food Engineering*, 39 (3), 293-299.
- Crews, C., Chiodini, A., Granvogl, M., Hamlet, C., Hrnčířik, K., Kuhlmann, J., Lampen, A., Scholz, G., Weisshaar, R. ve Wenzl, T., 2013, Analytical approaches for MCPD esters and glycidyl esters in food and biological samples: a review and future perspectives, *Food Additives & Contaminants: Part A*, 30 (1), 11-45.
- Davidek, J., Velišek, J., Kubelka, V., Janiček, G. ve Šimicová, Z., 1980, Glycerol chlorohydrins and their esters as products of the hydrolysis of tripalmitin, tristearin and triolein with hydrochloric acidHydrolyse von Tripalmitin, Tristearin und Triolein mit der Chlorwasserstoffsäure-Bildung der Glycerinchlorhydrine und ihrer Ester, *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 171 (1), 14-17.
- Demirkol, M.-K., 2004, Akıllı Beslenme - II,
- Dinç, E., 2007, Kemometri çok değişkenli kalibrasyon yöntemleri, *Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 27 (1), 61-92.
- Dingel, A. ve Matissek, R., 2015, Esters of 3-monochloropropane-1, 2-diol and glycidol: no formation by deep frying during large-scale production of potato crisps, *European Food Research and Technology*, 241 (5), 719-723.

- efsa, 2016a, Risks 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, 2016, Risks 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 Journal*, 14 (5), e04426.
- El Bassam, N., 2010, Handbook of bioenergy crops: a complete reference to species, development and applications, Routledge, p.
- Ergönül, P. G. ve Göldeli, T., 2013, Gıdalarda 3-Monokloropropan-1, 2-Diol (3-MCPD) ve Esterlerinin Varlığı, Oluşum Mekanizmaları ve Tespit Yöntemleri, *Academic Food Journal/Akademik GIDA*, 11 (2).
- Ermacora, A. ve Hrnčirik, K., 2014, Development of an analytical method for the simultaneous analysis of MCPD esters and glycidyl esters in oil-based foodstuffs, *Food Additives & Contaminants: Part A*, 31 (6), 985-994.
- Farinu, A. ve Baik, O.-D., 2005, Deep fat frying of foods—Transport Phenomena, *Food Reviews International*, 21 (4), 389-410.
- Franke, K., Strijowski, U., Fleck, G. ve Pudel, 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 (10), 1751-1754.
- Fritsch, C., 1981, Measurements of frying fat deterioration: a brief review, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 58 (3), 272-274.
- Gadoth, N., 2008, On fish oil and omega-3 supplementation in children: The role of such supplementation on attention and cognitive dysfunction, *Brain and Development*, 30 (5), 309-312.
- Gertz, C., 2004, Optimising the baking and frying process using oil-improving agents, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106 (11), 736-745.
- Gertz, C., 2014, Fundamentals of the frying process, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 116 (6), 669-674.
- Gurur, 2013, Yağların özellikleri nelerdir? Yağlar elde edilişlerine ve kimyasal yapılarına göre nasıl sınıflandırılır? Yağlar hakkında bilgi.,
- Gurur, 2016, Kızartma Yağının Özellikleri ve Kullanırken Dikkat Edilecekler, <http://www.nkfu.com/kizartma-yaginin-ozellikleri-ve-kullanirken-dikkat-edilecekler/>:
- Hrnčirik, K. ve van Duijn, G., 2011, An initial study on the formation of 3-MCPD esters during oil refining, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113 (3), 374-379.
- İlbaş, A., Yıldırım, B., Arslan, B. ve Günel, E., 1996, Sulama sayısının bazı ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) çeşitlerinde verim ve önemli bazı tarımsal özellikler üzerine etkisi, *YY Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 6 (4), 9-22.
- Jędrkiewicz, R., Głowacz-Różyńska, A., Gromadzka, J., Kloskowski, A. ve Namieśnik, J., 2016a, 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.
- Jędrkiewicz, R., Głowacz, A., Gromadzka, J. ve Namieśnik, J., 2016b, 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.
- Karabulut, M., 2015, Rafinasyon Kademelerinin 3-Mcpd Ve Glisidol Esterleri Oluşumu Üzerine Etkisi, *Ege Üniversitesi, İzmir*
- Kayahan, M., 2017, Gıda Mühendisliği Dergisi, Palm Yağı Tartışması.

- Kuhlmann, J., 2015, 3-MCPD, other chlorohydrins and glycidol: new development of methods - new methods available and method comparability.
- Larsen, J. C., 2009, 3-MCPD Esters in Food Products.
- Matthias, O., 1999, statistics and computer application in analytical chemistry.
- Megep, 2011a, Gıda Teknolojisi. Lipitler. Ankara.
- Megep, 2011b, Gıda Teknolojisi - Lipitler.
- Megep, 2013, Yağ Bitkileri Yetiştiriciliği (Ayçiçeği ve Haşhaş), In, Eds, p.
- Merkle, S., Ostermeyer, U., Rohn, S., Karl, H. ve Fritsche, J., 2018, Mitigation strategies for ester bound 2-/3-MCPD and esterified glycidol in pre-fried breaded and frozen fish products, *Food chemistry*, 245, 196-204.
- Morgan, E., 1995, Chemometrics: experimental design, John Wiley & Son Ltd, p.
- Myers, R. H. ve Montgomery, D. C., 1995, Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments, Wiley New York, p.
- Özçelik, S., 2013, Kapiler Elektroferez Yöntemi İle Pvı Kaplı Kapilerde İnorganik Anyonların Hassas Analizi: Kemometrik Deneysel Tasarım İle Metod Optimizasyonu.
- Özdemir, N. ve Denkbaş, E., 2003, Hayat veren yağlar: Omega yağları, *Bilim ve Teknik Dergisi*, 427, 78-80.
- Özdikicierler, O., 2016, Zeytinyağı ve Pirina Yağında 3-Mcpd Oluşumu Üzerine Su Buharı Distilasyon Koşullarının Etkisi.
- Perkins, E., 2007, Deep Frying: Chemistry, Nutrition and Practical Application, 2nd Edn, AOCS Press.
- Razak, R. A. A., Kuntom, A., Siew, W. L., Ibrahim, N. A., Ramli, M. R., Hussein, R. ve Nesaretnam, K., 2012, Detection and monitoring of 3-monochloropropane-1, 2-diol (3-MCPD) esters in cooking oils, *Food Control*, 25 (1), 355-360.
- Saguay, I. S. ve Dana, D., 2003, Integrated approach to deep fat frying: engineering, nutrition, health and consumer aspects, *Journal of Food Engineering*, 56 (2-3), 143-152.
- Sarıkaya, İ., 2010, Ayçiçek, Mısır ve Kanola Yağlarının Kızartma Dayanıklılıklarının Karşılaştırılması, *Trakya Üniversitesi*, Edirne.
- Šmidrkal, J., Tesařová, M., Hrádková, I., Berčíková, M., Adamčíková, A. ve Filip, V., 2016, Mechanism of formation of 3-chloropropan-1, 2-diol (3-MCPD) esters under conditions of the vegetable oil refining, *Food Chemistry*, 211, 124-129.
- Svejkovska, B., Novotny, O., Divinova, V., Reblova, Z. ve Dolezal, M., 2004, Esters of 3-chloropropane-1, 2-diol in foodstuffs, *Czech Journal of Food Sciences-UZPI (Czech Republic)*.
- Thomas Wenzl, V. S., Anupam Giri, Gerhard Buttinger, Lubomir Karasek, Zuzana Zelinkova, 2015, Development and validation of analytical methods for the analysis of 3-MCPD (both in free and ester form) and glycidyl esters in various food matrices and performance of
- an ad-hoc survey on specific food groups in support to a scientific opinion on comprehensive risk assessment on the presence of 3-MCPD and glycidyl esters in food.
- Tokuşoğlu, Ö., 2017, Kızartmalık Olarak Kullanılan Bitkisel Yağlar.
- Topkafa, M., 2004, Yemeklik Yağların Bazı Özelliklerinin Kromatografik Metotlarla İncelenmesi., *Selçuk Üniversitesi*, Konya.
- Topkafa, M., 2013a, Yenilebilir Nar Çekirdeği Yağının Rafinasyon Özelliklerinin İncelenmesi, *Selçuk Üniversitesi*, Konya.
- Topkafa, M., 2013b, Investigation Of The Refining Characteristics Of The Renal Narse Cushion Oil, *Selçuk Üniversitesi*, Konya, 184.

- Tritscher, A. M., 2004, Human health risk assessment of processing-related compounds in food, *Toxicology letters*, 149 (1-3), 177-186.
- Turan, S., Solak, R. ve Keskin, Ş., 2018, Gıdalarda Monokloropropandiol Esterlerinin Oluşumu ve Belirlenmesi, *Akademik Gıda*, 16 (2), 210-217.
- Velíšek, J., Davidek, J., Hajšlová, J., Kubelka, V., Janíček, G. ve Mánková, B., 1978, Chlorohydrins in protein hydrolysates Chlorhydrinein Eiweißhydrolysaten, *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 167 (4), 241-244.
- Velíšek, J., Davidek, T., Davidek, J., Kubelka, V. ve Viden, I., 1991, 3-Chloro-1, 2-propanediol derived amino acids in protein hydrolysates, *Journal of food science*, 56 (1), 139-142.
- Vitrac, O., Trystram, G. ve Raoult-Wack, A. L., 2000, Deep-fat frying of food: Heat and mass transfer, transformations and reactions inside the frying material, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 102 (8-9), 529-538.
- Weißhaar, R., 2008a, Determination of total 3-chloropropane-1, 2-diol (3-MCPD) in edible oils by cleavage of MCPD esters with sodium methoxide, 183-186.
- Weißhaar, R., 2008b, 3-MCPD-esters in edible fats and oils—a new and worldwide problem, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110 (8), 671-672.
- Wong, Y. H., Muhamad, H., Abas, F., Lai, O. M., Nyam, K. L. ve Tan, C. P., 2017, Effects of temperature and NaCl on the formation of 3-MCPD esters and glycidyl esters in refined, bleached and deodorized palm olein during deep-fat frying of potato chips, *Food Chemistry*, 219, 126-130.
- Wu, H., Karayiannis, T. G. ve Tassou, S. A., 2013, A two-dimensional frying model for the investigation and optimisation of continuous industrial frying systems, *Applied Thermal Engineering*, 51 (1-2), 926-936.
- Yamazaki, K., Ogiso, M., Isagawa, S., Urushiyama, T., Ukena, T. ve Kibune, N., 2013, A new, direct analytical method using LC-MS/MS for fatty acid esters of 3-chloro-1, 2-propanediol (3-MCPD esters) in edible oils, *Food Additives & Contaminants: Part A*, 30 (1), 52-68.
- Yazicioğlu, T. ve Karaali, A., 1983, On the fatty acid composition of Turkish vegetable oils, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 85 (1), 23-29.
- Zelinková, Z., Doležal, M. ve Velíšek, J., 2009, 3-Chloropropane-1, 2-diol fatty acid esters in potato products, *Czech J Food Sci*, 27, S421-S424.
- Zhou, H., Jin, Q., Wang, X. ve Xu, X., 2014, Effects of temperature and water content on the formation of 3-chloropropane-1, 2-diol fatty acid esters in palm oil under conditions simulating deep fat frying, *European Food Research and Technology*, 238 (3), 495-501.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Oktay KALKAN
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Pazaryeri/BİLECİK - 05/11/1991
Telefon : 554 961 95 24
Faks :
e-mail : oktay.kalkan42@gmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Şehit Zafer İpek Lisesi	2007
Üniversite	: Selçuk Üniversitesi	2015
Yüksek Lisans	: Selçuk Üniversitesi	2018
Doktora	: -	

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
-----	-------	--------

UZMANLIK ALANI

YABANCI DİLLER: İngilizce

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

YAYINLAR