

**T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI  
2017-YL**

**BİBERİYE EKSTRAKTININ KIZARTMA  
SIRASINDA OLUŞAN 3-MCPD VE GLİSİDİL  
ESTERLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Aslı YILDIRIM**

**Tez Danışmanı:  
Yrd. Doç. Dr. Aslı YORULMAZ**

**AYDIN**



**T.C.**  
**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**  
**AYDIN**

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Aslı Yıldırım tarafından hazırlanan “Biberiye Ekstraktının Kızartma Sırasında Oluşan 3-MCPD ve Glisidil Esterleri Üzerine Etkisi” başlıklı tez, 01.08.2017 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

	Ünvanı, Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan :	Doç. Dr. Hilal Şahin Nadeem	Adnan Menderes Üniversitesi	
Üye :	Yrd. Doç. Dr. Aslı Yorulmaz	Adnan Menderes Üniversitesi	
Üye :	Yrd. Doç. Dr. Özlem Aydın	Ahi Evran Üniversitesi	

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu yüksek lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun .....Sayılı kararıyla .....(tarih) tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Aydın ÜNAY  
Enstitü Müdürü



**T.C.**  
**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**

Bu tezde sunulan tüm bilgi ve sonuçların, bilimsel yöntemlerle yürütülen gerçek deney ve gözlemler çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kuralların gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

26/07/2017

Aslı YILDIRIM



## ÖZET

### **BİBERİYE EKSTRAKTININ KIZARTMA SIRASINDA OLUŞAN 3-MCPD VE GLİSİDİL ESTERLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Aslı YILDIRIM

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Aslı YORULMAZ

2017, 70 sayfa

Çalışmanın amacı biberiye (*Rosmarinus Officinalis* L.) ekstraktının derin yağda kızartma işlemi sırasında oluşan 3-MCPD ve glisidil esterleri üzerine etkisinin belirlenmesidir. Çalışma temel olarak iki aşamadan oluşmuştur. İlk aşamada patates örnekleri farklı konsantrasyonda (%0, 1, 2,5 ve 5) NaCl içeren çözeltilerde bekletilmiş ve farklı konsantrasyonlarda (0, 500, 1000 ve 2000 ppm) biberiye içeren ayçiçek yağında kızartılmıştır. İkinci aşamada ise biberiye ekstraktı (2000 ppm) ile zenginleştirilmiş ayçiçek yağı ile tekrarlı kızartma işlemi gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın her iki aşamasında da hem kızartma yağları hem de patates yağları 3-MCPD ve glisidil esterleri yönünden DGF C VI 18 (10) metoduna göre analiz edilmiş; tekrarlı kızartma işlemlerinden elde edilen kızartma yağları ise toplam polar madde, serbest yağ asitliği, *p*-anisidin değeri, fotometrik renk indeksi, yağ asidi kompozisyonu ve iyot sayısı yönünden incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar, kızartma yağında oluşan 3-MCPD ve glisidil esterlerinin miktarının farklı NaCl ve biberiye konsantrasyonlarından istatistiki açıdan önemli düzeyde etkilenmediğini göstermiştir. Tekrarlı kızartma işlemi sonunda ise biberiye ekstraktı içeren örneklerde daha düşük serbest asit miktarı, daha düşük *p*-anisidin değeri ve daha yüksek iyot sayısı tespit edilmiştir.

**Anahtar sözcükler:** Ayçiçek yağı, 3-MCPD esterleri, biberiye, derin yağda kızartma, glisidil esterleri





## ABSTRACT

### THE EFFECT OF ROSEMARY EXTRACT ON 3-MCPD AND GLYCIDYL ESTERS FORMED DURING FRYING

Aslı YILDIRIM

M.Sc. Thesis, Department of Food Engineering

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Aslı YORULMAZ

2017, 70 pages

The aim of this study was to determine the effect of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) extract on the formation of 3-MCPD and glycidyl esters during deep-fat frying. The study has consisted of two main stages. In the first stage, the potato samples were kept submerged in different concentrations (0; 1; 2,5 and 5%) of NaCl solutions and they were fried in sunflower oils containing different concentrations (0, 500, 1000 and 2000 ppm) of rosemary extract. In the second stage, repeated frying was carried out with sunflower oil enriched with rosemary extract (2000 ppm). In both stages of the study, the frying oil and the oil extracted from potato samples were analyzed in terms of the contents of 3-MCPD esters and glycidyl esters according to the method DGF C VI 18 (10). The oil samples obtained from repeated frying were analyzed for their contents of total polar compounds, free fatty acids as well as *p*-anisidin value, photometric color index, fatty acid composition and iodine value. The results have shown that the amounts of 3-MCPD and glycidyl esters were not affected significantly by different NaCl and rosemary extract concentrations. During repeated frying, the samples added by rosemary extract had lower free fatty acid content, lower *p*-anisidine value and higher iodine value.

**Key words:** Sunflower oil, 3-MCPD esters, rosemary, deep-fat frying, glycidyl esters



## ÖNSÖZ

Bu çalışmanın planlanması, yürütülmesi ve tamamlanması süreçlerinin her aşamasında bilgi ve tecrübesi ile bana yol gösteren danışmanım Yrd. Doç. Dr. Aslı YORULMAZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışma esnasında karşılaştığım zorluklarda, yardımlarını esirgemeyen her konuda bana yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Mehmet KOÇ, Yrd. Doç. Dr. Fatih Mehmet YILMAZ, Arş. Gör. Aslı ZUNGUR BASTIOĞLU, Arş. Gör. Ahmet GÖRGÜÇ Uzman Mustafa DURAN ve Mesut UYANIK'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim-öğretim hayatım süresince beni maddi manevi her konuda destekleyen ve yanımda olan aileme en içten teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunarım.

Bu tez çalışması Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından MF-17016 kodlu proje ile desteklenmiştir.

Aslı YILDIRIM



# İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
ÖNSÖZ .....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xxi
1. GİRİŞ .....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ .....	4
2.1. Analiz Yöntemleri ile İlgili Yapılan Çalışmalar .....	6
2.1.1. Direkt Analiz Metotları .....	8
2.1.2. İndirekt Analiz Metotları.....	9
2.2. Toksikolojik Veriler .....	13
2.3. 3-MCPD Miktarını Azaltmaya Yönelik Çalışmalar.....	15
2.3.1. Öncül Maddelerin Elimine/Minimize Edilmesi .....	15
2.3.2. Rafinasyon Prosesinin Modifikasyonu.....	17
2.3.3. Rafinasyondan Sonra Esterlerin Uzaklaştırılması.....	18
2.4. Derin Yağda Kızartma .....	19
2.4.1. Yağın Hidrolizi.....	20
2.4.2. Yağın Oksidasyonu .....	20
2.4.3. Yağın Polimerizasyonu .....	21

2.5. Derin Yağda Kızartma İşlemi Sırasında 3-MCPD ve Glisidil Esterlerinin Oluşumu.....	21
2.6. Biberiye Ekstraktının Derin Yağda Kızartma İşlemi Sırasında Kullanımı ....	22
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	25
3.1. MATERYAL.....	25
3.2. YÖNTEM.....	25
3.2.1. Biberiye Ekstraktının Elde Edilmesi .....	25
3.2.2. Kızartma İşlemlerinin Gerçekleştirilmesi.....	25
3.2.3. Kızartma İşlemi Sonrası Patateslerden Yağın Ekstraksiyonu .....	26
3.2.4. 3-MCPD ve Glisidil Esterlerinin Analizi .....	26
3.2.4.1. Çözeltilerin Hazırlanışı.....	26
3.2.4.2. Analiz Prosedürü .....	27
3.2.4.3. GC-MS Çalışma Koşulları .....	28
3.2.4.4. Sonuçların Hesaplanması .....	29
3.2.5. Toplam Polar Madde Miktarının Belirlenmesi.....	31
3.2.6. Fotometrik Renk İndeksinin Belirlenmesi.....	31
3.2.7. Serbest Yağ Asidi Miktarının Belirlenmesi.....	32
3.2.8. Yağ Asidi Kompozisyonun Belirlenmesi .....	32
3.2.9. <i>p</i> -Anisidin Değerinin Belirlenmesi.....	33
3.2.10. İyot Sayısının Belirlenmesi .....	33
3.2.11. İstatistiki Değerlendirme .....	33

4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....	34
4.1. Biberiye Ekstraktının ve Tuzun Kızartma Yağı ve Patates Yağında Bulunan 3-MCPD ve Glisidil Esterleri Üzerine Etkisi.....	34
4.2. Tekrarlı Kızartma İşleminin 3-MCPD ve Glisidil Esterleri Üzerine Etkisi ....	39
4.3. Tekrarlı Kızartma İşleminin Kızartma Yağı Üzerine Etkisi.....	43
4.3.1. Tekrarlı Kızartma İşleminin Polar Madde Üzerine Etkisi.....	43
4.3.2. Tekrarlı Kızartma İşleminin Serbest Asitlik Üzerine Etkisi.....	44
4.3.3. Tekrarlı Kızartma İşleminin Fotometrik Renk İndeksi Üzerine Etkisi .....	46
4.3.4. Tekrarlı Kızartma İşleminin <i>p</i> -anisidin Değeri Üzerine Etkisi .....	46
4.3.5. Tekrarlı Kızartma İşleminin Yağ Asidi Kompozisyonu Üzerine Etkisi .....	48
4.3.6. Tekrarlı Kızartma İşleminin İyot Sayısı Üzerine Etkisi .....	52
5. SONUÇ .....	53
KAYNAKLAR .....	55
ÖZGEÇMİŞ .....	69





## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

3-MCPD	: 3-Monokloropropan-1,2-diol
3-MBPD	: 3-Bromo-1,2-propanediol
2-MCPD	: 2-Monokloropropan-1,3-diol
1,3-DCP	: 1,3-Dikloropropan-2-ol
2,3-DCP	: 2,3-Dikloropropan-1-ol
GC	: Gaz kromatografisi
GC-MS	: Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi
AOCS	: American Oil Chemists' Society
DGF	: Deutsche Gesellschaft für Fettwissenschaft
JOCS	: Japan Oil Chemists' Society
BfR	: Federal Risk Değerlendirme Enstitüsü
İTK	: İnce tabaka kromatografisi
PBA	: Fenil boronik asit
NaCl	: Sodyum klorür
NaOH	: Sodyum hidroksit
TBHQ	: Tersiyer bütül hidrokinon
HVP	: Hidroliz edilmiş bitkisel proteinler
LC-MS	: Sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi
LC-MS/MS	: Sıvı kromatografisi-kütle/kütle spektrometresi
TOF-MS	: Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Kloropropanollerin sınıflandırılması ve kimyasal yapıları .....	4
Şekil 2.2. 3-MCPD'lerin direkt analiz metotlarında izlenen adımlar.....	9
Şekil 2.3. 3-MCPD esterlerini indirekt belirleme yöntemlerinde izlenen basamaklar.....	11
Şekil 3.1. İç standart (3-MCPD-d5) ve 3-MCPD'ye ait örnek GC-MS kromatogramı .....	29
Şekil 3.2. Kalibrasyon grafiği .....	31
Şekil 4.1. Kızartma işlemi sırasında toplam polar madde miktarındaki değişim ...	44
Şekil 4.2. Kızartma işlemi sırasında serbest asitlik miktarındaki değişim .....	45
Şekil 4.3. Kızartma işlemi sırasında fotometrik renk indeksindeki değişim .....	46
Şekil 4.4. Kızartma işlemi sırasında <i>p</i> -anisidin değerindeki değişim .....	47
Şekil 4.5. Kızartma işlemi süresince oleik asit/palmitik asit oranındaki değişim ..	51
Şekil 4.6. Kızartma işlemi süresince linoleik asit/palmitik asit oranındaki değişim .....	51
Şekil 4.7. Kızartma işlemi sırasında iyot sayısındaki değişim .....	52



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Farklı gıdalarda tespit edilen 3-MCPD esterleri .....	5
Çizelge 2.2. Kızartma işlemi sırasında yağda meydana gelen bozulma reaksiyonları .....	19
Çizelge 4.1. Kızartma yağında oluşan 3-MCPD esterleri .....	34
Çizelge 4.2. Kızartma yağında oluşan glisidil esterleri .....	35
Çizelge 4.3. Patates yağında oluşan 3-MCPD esterleri .....	37
Çizelge 4.4. Patates yağında oluşan glisidil esterleri .....	38
Çizelge 4.5. Tekrarlı kızartma işlemi sırasında kızartma yağında bulunan 3-MCPD ve glisidil esterlerinin miktarında meydana gelen değişim .....	40
Çizelge 4.6. Tekrarlı kızartma işlemi sırasında patates yağında bulunan 3-MCPD ve glisidil esterlerinin miktarında meydana gelen değişim .....	42
Çizelge 4.7. Tekrarlı kızartma işlemi süresince yağ asidi kompozisyonunda meydana gelen değişim .....	50



## 1. GİRİŞ

3-MCPD (3-monokloropropan-1,2-diol) ve glisidil esterleri yağ içeren gıdaların yüksek sıcaklıklarda ortamda sodyum klorür (NaCl) varlığında işlenmeleri sırasında ortaya çıkan istenmeyen gıda kontaminantları olarak bilinmektedir. 3-MCPD'nin varlığı ilk kez 1978 yılında Velíšek vd. tarafından gıdalarda lezzet artırıcı olarak kullanılan bir gıda katkı maddesi olan asit ile hidroliz edilmiş bitkisel proteinlerde tespit edilmiştir (Rahn ve Yaylayan, 2011). Sonraki yıllarda ekmek, kraker ve bisküvi gibi çeşitli tahıl ürünleri, salam, jambon ve kürlenmiş balık gibi çeşitli et ürünleri, çeşitli peynir ve kremalar, ayrıca bebek mamaları gibi pek çok üründe bu bileşiklerin varlığının tespit edilmesinden sonra bu kontaminantların gıdalarda tespiti ve azaltılmasına yönelik çalışmalar hız kazanmıştır. 3-MCPD ve glisidil esterlerinin gıdalarda tespiti için temel olarak direkt ve indirekt analiz metotları adı altında halen güncellenmekte olan analiz yöntemleri mevcuttur. Direkt analiz metotlarında temel olarak örnek maddesi katı-faz ekstraksiyonu ile saflaştırılmakta, daha sonra esterler ayrı ayrı sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi ile analiz edilmektedir. Direkt analiz metotları ester kompozisyonu hakkında detaylı bilgi sağlamalarına rağmen, referans madde gerekliliğinin fazla olmasından dolayı günümüzde indirekt analiz metotları daha az maliyetli olarak görülmekte ve daha yaygın olarak kullanılmaktadır. İndirekt analiz metotlarında temel olarak esterler hidroliz edilmekte ve ortaya çıkan gliserol iskeleti gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) ile analiz edilmektedir (Koyama vd., 2016).

Gıdalarda 3-MCPD ve glisidil esterlerinin miktarını azaltmaya yönelik literatürde halen sınırlı düzeyde çalışma mevcuttur. Konuya ilişkin yapılan çalışmaların büyük bölümü bu bileşiklerin özellikle rafinasyon prosesinin deodorizasyon basamağında oluştuğu bilindiğinden, rafinasyon prosesinin modifikasyonuna yöneliktir.

Ancak yakın tarihte Li vd. (2015) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, öncül içeren kimyasal model reaksiyon ortamında (tripalmitoil gliserol, 1,2-dipalmitoil-sn-gliserol, monopalmitoil gliserol ve sodyum klorür) ve yağ içeren model ortamda (kolza yağı ve sodyum klorür) 3-MCPD esterlerinin oluşumu üzerine 6 farklı antioksidanın (bütillendirilmiş hidroksi toluen, bütillendirilmiş hidroksi anisol, tersiyer bütilhidrokinon, propil gallat, L-askorbil palmitat ve  $\alpha$ -tokoferol)

etkisi test edilmiş ve çalışmada kullanılan tüm antioksidanların test edilen her iki ortamda da 3-MCPD oluşumu üzerine inhibitör etki gösterdiği saptanmıştır.

Zhang vd. (2016) tarafından gerçekleştirilen çalışmada ise bitkisel yağlarda 3-MCPD esterlerinin miktarını azaltma amacıyla çeşitli antioksidanların (L-askorbil palmitat,  $\alpha$ -tokoferol, lipofilik çay polifenoller ve biberiye ekstraktı) etkisi araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan 4 antioksidanın da palm yağının deodorizasyonu sırasında 3-MCPD esterlerinin miktarını azaltabildiği ve esterleri azaltma yönünden en etkili antioksidanın biberiye ekstraktı olduğu tespit edilmiştir.

Derin yağda kızartma işlemi, suyun kaynama noktası üzerindeki bir sıcaklıkta (150-200°C), gıdaların tüketilebilir yağlara daldırılarak pişirilmesi işlemidir (Farkas vd., 1996). Bu işlem sırasında meydana gelen fizikokimyasal değişiklikler gıda maddesine arzu edilen duyuşsal özellikleri kazandırmaktadır. Ancak bunun yanı sıra uygulanan yüksek sıcaklık dolayısıyla kızartma işlemi sağlık üzerine olumsuz etkisi bulunduğu kanıtlanmış olan 3-MCPD ve glisidil esterleri gibi bazı bileşiklerin oluşumuna zemin hazırlayabilmektedir (Aniołowska ve Kita, 2016; Ariseto vd., 2017).

Kızartma işlemi sırasında yağlarda meydana gelen istenmeyen bazı değişiklikleri önlemek ve akrilamid gibi insan sağlığı üzerine olumsuz etkisi bulunan bazı bileşiklerin miktarını azaltmak (Urbančić vd., 2014) amacıyla yağlara doğal veya yapay antioksidanlar ilave edilmektedir (Chammem vd., 2015). Sağlık üzerine olan etkileri, yapay antioksidanların gıdalarda kullanımını sınırlandırmakta, bu da doğal antioksidanların ön plana çıkmasına neden olmaktadır.

Biberiye ekstraktı termal dayanıklılığı ve antioksidan etkisi oldukça yüksek olan bir doğal katkı maddesi olup, kızartma prosesi sırasında kızartma yağının dayanıklılığı artırmak amacıyla yağa ilave edilen başlıca doğal antioksidan ekstraktlar arasındadır. Biberiye ekstraktının antioksidan aktivitesinden sorumlu bileşikler temel olarak karnosik asit, karnosol, rosmanol, epirosmanol, izorosmanol ve metil karnosat gibi fenolik diterpenler (Schwarz ve Ternes, 1992; Cuvelier vd., 1994) ile rosmarinik asit gibi fenolik asitlerdir (Frankel vd., 1996; Hraš vd., 2000). Kızartma işlemi sırasında biberiye ekstraktının antioksidan etkisinin kızartılan ürüne de aktarıldığı literatürde belirtilmektedir (Urbančić vd., 2014).



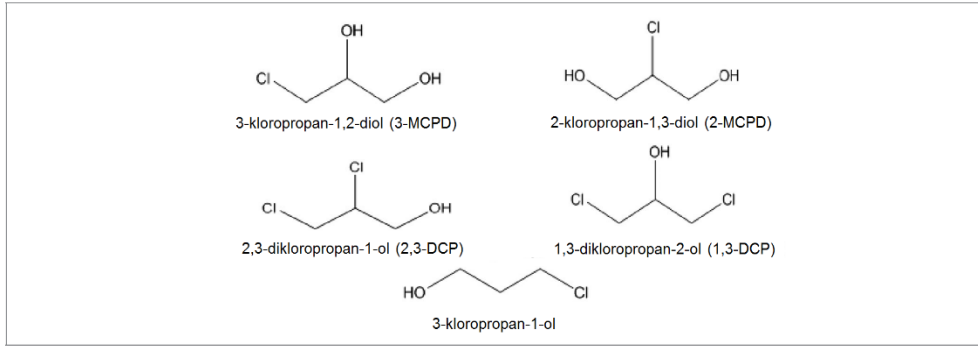
Kızartma işlemi sırasında biberiye ekstraktı kullanımının yağın bozulmasını engellediği (Urbančić vd., 2014), kararmayı ve ransiditeyi geciktirmenin yanı sıra duyuusal özellikleri olumlu yönde etkilediği (Lalas ve Dourtoglou, 2003) ve kızartma sırasında genel kalite kaybını engellediği pek çok çalışmada ortaya konulmuştur (Man ve Tan, 1999; Man ve Jaswir, 2000; Lalas ve Dourtoglou, 2003; Filip vd., 2011).

Bu çalışmanın amacı, derin yağda kızartma işlemi sırasında doğal antioksidan olarak biberiye ekstraktı kullanımının 3-MCPD ve glisidil esterlerinin oluşumu yönünden riskli bir ürün olarak değerlendirilen patates kızartmasında, bu bileşiklerin oluşumu üzerine etkisinin araştırılmasıdır. Çalışma iki aşamada gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada patatesler belirli konsantrasyonlarda (%0, 1; 2,5 ve 5) hazırlanmış olan NaCl çözeltilerinde bir saat süreyle bekletilmiş, ardından belirli konsantrasyonlarda (0, 500, 1000 ve 2000 mg/kg) biberiye ekstraktı içeren ayçiçek yağında 180°C'de 3 dakika süreyle kızartılmıştır. Çalışmanın ikinci aşamasında biberiye ekstraktı (2000 mg/kg) ilave edilmiş ayçiçek yağı 24 saat süreyle tekrarlı kızartma işlemine tabi tutulmuştur. Her iki aşamada da elde edilen kızartma yağları ve patateslerden ekstrakte edilen yağların 3-MCPD ve glisidil esterlerinin miktarları belirlenmiş; ikinci aşamada elde edilen kızartma yağlarının ise ayrıca toplam polar madde, serbest yağ asitliği, *p*-anisidin değeri, fotometrik renk indeksi, yağ asidi kompozisyonu ve iyot sayıları tespit edilmiştir.

Bu çalışma kapsamında, antioksidan aktivitesi yüksek olan ve kızartma işlemlerinde kalite kaybını minimuma indirmek için yaygın olarak kullanılan biberiye ekstraktının kızartma işlemi sırasında 3-MCPD ve glisidil esterlerinin oluşumu üzerine etkisi araştırılmıştır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

3-monokloropropan-1,2-diol (3-MCPD), 3-karbon iskeletinden oluşan yapılarında bir veya iki atomun klor atomları ile yer değiştirmesi sonucu oluşan, temel olarak 3-monokloropropan-1,2-diol (3-MCPD), 2-monokloropropan-1,3-diol (2-MCPD), 3-monokloropropan-1-ol, 1,3-dikloropropan-2-ol (1,3-DCP) ve 2,3-dikloropropan-1-ol (2,3-DCP) isimli 5 farklı bileşiğe sahip olan kloropropanoller (Şekil 2.1.) sınıfına dahil olan kimyasal bir bileşiktir (Lee ve Khor, 2015; Stadler, 2015).



Şekil 2.1. Kloropropanollerin sınıflandırılması ve kimyasal yapıları (Lee ve Khor, 2015)

3-MCPD ayrıca, genotoksik olmadığı belirtilen karsinojen bir bileşiktir ve yapısında 2 adet fonksiyonel alkol grubu ve klor içermekte olup, bağıl molekül ağırlığı 110,54 g/mol'dür. Molekül formülü ise  $C_3H_7ClO_2$ 'dir (Lee ve Khor, 2015). 3-MCPD, ilk kez 1978 yılında Velíšek vd. tarafından gıdalarda lezzet artırıcı olarak kullanılan bir gıda katkı maddesi olan asit ile hidroliz edilmiş bitkisel proteinlerde (HVP) tespit edilmiştir (Rahn ve Yaylayan, 2011). Daha sonraki yıllarda ise ısıtılmış ekmek kabuğu, tost ve bisküvi gibi tahıl bazlı ürünler (Breitling-Utzmann vd., 2003; Hamlet ve Sadd, 2004), kahve (Doležal vd., 2005), malt kaynaklı ürünler (Hamlet ve Sadd, 2004), kızartılmış peynirler (Crews vd., 2001) ve tütsülenmiş bazı gıdalarda (Kuntzer ve Weißhaar, 2006) da 3-MCPD'ye rastlanılmıştır (Weißhaar, 2011). Bazı gıda maddelerinde tespit edilen 3-MCPD miktarları Çizelge 2.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Farklı gıdalarda tespit edilen 3-MCPD esterleri

Gıda Maddesi	3-MCPD Miktarı (mg/kg)	Referans
Tahıl ürünleri	< 0,010 – 0,134	MacMahon vd., 2013b
Salam	< 0,010 – 0,069	MacMahon vd., 2013b
Jambon	< 0,010	MacMahon vd., 2013b
Kürlenmiş balık	< 0,010 – 0,081	MacMahon vd., 2013b
Süt ürünleri (peynir ve krema)	< 0,010 – 0,031	MacMahon vd., 2013b
Çorba ve soslar	< 0,010	MacMahon vd., 2013b
Pizza	< 0,010 – 0,016	MacMahon vd., 2013b
Çay	< 0,010 – 0,016	MacMahon vd., 2013b
Şekerlemeler	< 0,010 – 0,016	MacMahon vd., 2013b
Maltlı içecekler	< 0,010 – 0,016	MacMahon vd., 2013b
Baharatlı krakerler	0,014	Jędrkiewicz vd., 2016b
Ekmek içi	0,030	Jędrkiewicz vd., 2016b
Kızartılmış dana etli sandviç	0,008 – 0,009	Zelinková vd., 2006
Bulyon	< 0,005	Zelinková vd., 2006
Piştirilmiş parmesan peyniri	0,068 – 0,117	Zelinková vd., 2006
Piştirilmiş mozzarella peyniri	0,005 – 0,079	Zelinková vd., 2006
Kahve kreması	0,130 – 0,730	Karsulinova vd., 2007
Sprey krema	0,050 – 0,730	Karsulinova vd., 2007
Patates kızartması	0,100 – 0,258	Zelinková vd., 2009
Patates çipsi	0,229 – 1,000	Zelinková vd., 2009
Margarin	0,164 – 0,441	Becalski vd., 2015
Tatlı bisküviler	0,017	Sadowska-Rociek ve Cieşlik, 2016
Tuzlu krakerler	0,025	Sadowska-Rociek ve Cieşlik, 2016

3-MCPD'nin karakteristik özellikleri sıvı bir bileşik olması ve renksiz olmasına rağmen renginin açık sarıya dönme eğilimi göstermesidir. Ayrıca 3-MCPD su, alkol, dietil eter ve asetonda çözünebilmektedir (IARC, 2013; Lee ve Khor, 2015). Endüstriyel olarak 3-MCPD, dinamitin donma noktasını düşürme amaçlı olarak, boya ara maddesi olarak, kemirgenlere karşı kemosterilant olarak ve selüloz asetatın çözücüsü olarak kullanılmaktadır. Gıda endüstrisinde ise 3-MCPD asit ile hidroliz edilmiş bitkisel proteinlerin yan ürünü olarak açığa çıkmaktadır. Bitkisel proteinlerin asitle hidrolizi, fermantasyon işlemi olmadan kısa sürede yapay soya sosu üretmek için uygulanmaktadır (Lee ve Khor, 2015).

3-MCPD ve diğerkloropropanol esterlerinin miktarının gıdalarda serbest kloropropanol miktarından genel olarak 5-396 kat daha fazla olduğunun anlaşılmasından sonra, bu esterlerin tespitine yönelik çalışmalar hız kazanmıştır (Svejkovska vd., 2004; Doležal vd., 2005; Zelinková vd., 2006; Divinová vd., 2007; Karsulinova vd., 2007; Zelinková vd., 2009; Rahn ve Yaylayan, 2011). Farklı araştırmalarda 3-MCPD'nin gıdalarda sadece serbest formda değil, yağ asitlerinin mono- ve di- esterleri şeklinde bağlı formda da bulunabildiği tespit edilmiştir (Seefelder vd., 2008; IARC, 2013; Karl vd., 2016). Kloropropanol esterleri ısı, asit veya mikrobiyal ve intestinal lipazlar yardımıyla hidroliz edilerek (Myher vd., 1986; Hamlet vd., 2004; Seefelder vd., 2008) serbest formdaki kloropropanollere dönüştürülebilmektedir (Rahn ve Yaylayan, 2011). Ancak çeşitli kloropropanol esterlerinin tamamıyla serbest forma dönüştürülmesi bazı gıdalarda ek 3-MCPD kaynağı oluşturabilmektedir. Bu durum ise Avrupa Komisyonu tarafından belirlenen ve hidroliz edilmiş bitkisel proteinler ve soya sosu için 20 µg/kg olan üst limiti aşma potansiyeli taşımaktadır (Svejkovska vd., 2004; Rahn ve Yaylayan, 2011). Kloropropanol esterlerinin, proses sırasında üretilen kontaminantlar olmakla birlikte, memeli sütünde diyetle tüketilen kaynaklara bağlı olarak da ortaya çıkabildikleri bilinmektedir (Myher vd., 1986; Kuksis vd., 1986; Zelinková vd., 2008; Rahn ve Yaylayan, 2011).

3-MCPD esterlerine benzer şekilde glisidil esterleri epoksi halka yapısına sahip olmalarından dolayı sağlık için yüksek oranda risklidirler. Glisidol yapısının genotoksik ve karsinojen olduğu bilinmektedir. 2000 yılında ise glisidol, Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (International Agency for Research on Cancer) tarafından karsinojenik bir bileşik olarak sınıflandırılmıştır (Pudel vd., 2011).

## **2.1. Analiz Yöntemleri ile İlgili Yapılan Çalışmalar**

Yapılan araştırmaların 3-MCPD ve glisidil esterlerinin sağlık üzerine potansiyel olarak riskli olabileceklerinin anlaşılmasından sonra (Bakhiya vd., 2011), bu bileşiklerin kantitatif olarak belirlenmesine yönelik yeni metotların geliştirilmesi büyük önem kazanmıştır (Kuhlmann, 2011; Ermacora ve Hrnčičik, 2013; Crews vd., 2013; Miyazaki ve Koyama, 2016).

Kloropropanollerin analizi ile ilgili olarak, model sistemlerden ve gıda lipidlerinden esterlerin ayrıştırılması için geliştirilen ilk metotta yağ bileşenlerinin,

özellikle açılıgliserollerin ayrımı klasik olarak ince tabaka kromatografisiyle (İTK) gerçekleştirilmiştir (Velisek vd., 1979; Davidek vd., 1980; Crews vd., 2013). Bu metotta kloropropanol esterleri, ince tabakadan solvent yardımıyla ekstrakte edilmiş ve GC-MS kullanılarak kantitatif olarak analiz edilmiştir (Crews vd., 2013). Gardner vd. (1983) tarafından İspanya’da tüketilen bazı tağşiş yapılmış yemeklik yağlarda 3-MCPD esterlerinin varlığı, ince tabaka kromatografisi kullanılan metotlarda silika kolon kullanılarak tespit edilmiş, esterler ise GC-MS yardımıyla kantitatif olarak belirlenmiştir. Cerbulis vd. (1984) tarafından yapılan çalışmada benzer şekilde, İTK/silika kolon kromatografisi clean-up tekniği kullanılarak keçi sütünde bulunan 3-MCPD esterlerinin miktarı tespit edilmiştir. Çalışmada, asit-katalizli transesterifikasyon ile yağ asidi metil esterleri ve serbest 3-MCPD oluşumu sağlanmış ve sonrasında GC-MS ile analiz gerçekleştirilmiştir (Crews vd., 2013).

Esterlerin hidrolizine dayalı metotlar daha çok 2004 yılında ön plana çıkmıştır (Crews vd., 2013). Divinová vd. (2004) tarafından yapılan çalışmada, asit-katalizli transesterifikasyon kullanılarak gıdaların yağ ekstraktlarında bulunan serbest 3-MCPD açığa çıkarılmış ve fenilboronik asit (PBA) ile türevlendirme yapılarak toplam ve serbest 3-MCPD miktarları GC-MS ile tespit edilmiştir. Bağlı olan 3-MCPD miktarı ise toplam miktar ile serbest miktar arasındaki fark hesaplanarak bulunmuştur (Crews vd., 2013).

Hamlet ve Sadd (2004) ise tahıl ürünlerinin yağ ekstraktlarında bulunan bağlı formdaki 3-MCPD’den serbest formdaki 3-MCPD’yi oluşturmak için enzimatik hidroliz gerçekleştirmiş ve heptaflorobütirilimidazol ile türevlendirme işleminden sonra hem örnekteki hem de hidroliz edilmiş yağdaki 3-MCPD miktarı gaz kromatografisi kütle spektrometresinde (GC-MS) tayin edilmiştir (Crews vd., 2013).

Asit-katalizli transesterifikasyon sırasında ek 3-MCPD oluşma ihtimalinden dolayı, sodyum metoksit kullanılarak bazik-transesterifikasyon temeline dayanan yeni bir metot geliştirilmiştir (Weißhaar, 2008; Crews vd., 2013). Bu metot ise daha ileriki çalışmalarda, bazik koşullarda 3-MCPD’nin degradasyonunu engellemek için ve prosedürün bir parçası olan sodyum klorür ilavesinden sonra 3-MCPD oluşum problemini engellemek için bazı modifikasyonlara uğratılmıştır. Baz-katalizli transesterifikasyon, Alman Yağ Bilimcileri Topluluğu (DGF-

Deutsche Gesellschaft für Fettwissenschaft) tarafından da resmi analiz metodu olarak kabul edilmiştir (Crews vd., 2013).

Kloropropanol esterlerini analiz etmeye yönelik farklı analitik prosedürler güncellenerek geliştirilmeye devam etmektedir (Divinová vd., 2004; Jira, 2010; Crews vd., 2013). Günümüzde çeşitli gıdalarda 3-MCPD esterleri, 2-MCPD esterleri ve glisidil esterlerini analiz etmeye yönelik metotlar direkt ve indirekt analiz metotları olarak 2 temel başlık altında toplanmıştır (Crews vd., 2013; Koyama vd., 2016).

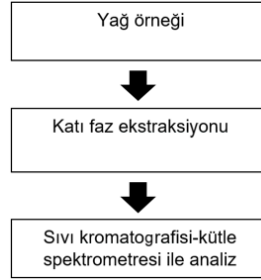
### **2.1.1. Direkt Analiz Metotları**

Direkt analiz metotları temel olarak, ester kompozisyonu hakkında detaylı bilgi sağlamaları yönünden avantajlı olarak görülmektedir. Ancak her bir esterın kantitatif olarak belirlenmesi çok fazla referans standart gerektirdiğinden bu metotların kullanımını sınırlandırmaktadır (Karl vd., 2016).

3-MCPD esterleri, 2-MCPD esterleri ve glisidil esterlerini direkt olarak analiz etmeye dayalı metotlarda temel olarak örnek maddesi katı-faz ekstraksiyonu ile saflaştırılır ve daha sonra esterler ayrı ayrı sıvı kromatografi-kütle spektrometresi (ör: LC-MS, LC-MS/MS, LC-TOF-MS) ile kantitatif olarak analiz edilir (Şekil 2.2.) (Jeşkiewicz vd., 2016a; Koyama vd., 2016). Direkt analiz metotlarında her bir yağ asidi esteri, mono- ve di- esterler de dahil olmak üzere tek tek analiz edilmektedir (Jeşkiewicz vd., 2016a). Shiro vd. tarafından geliştirilen bir direkt analiz metodu, Japon Yağ Kimyacıları Derneği (JOCS) ve Amerikan Yağ Kimyacıları Derneği (AOCS) ile ortak yürütölen bir çalışma sonucu valide edilmiş ve glisidil esterlerini direkt olarak belirlemeye yönelik AOCS Resmi Metodu (Cd 28 10) (Miyazaki ve Koyama, 2016) ve JOCS Standart Metodu (JOCS Standard Method for the Analysis of Fats, Oils and Related Materials 2.4.13-2013) (Koyama vd., 2016) olarak kayıt altına alınmıştır.

3-MCPD esterlerini direkt olarak belirlemeye yönelik farklı metotlar Haines vd. (2011), Hori vd. (2012a, 2012b), Yamazaki vd. (2013) ve MacMahon vd. (2013a, 2013b) tarafından da bildirilmiştir. 3-MCPD, farklı yağ asitleriyle mono- ve di- esterler oluşturabildiği için direkt metotlarda çok fazla standart madde kullanılması ve örnek saflaştırmada farklı prosedürler uygulanması gerekliliği bu metotların uygulanmasını zorlaştırmaktadır. Direkt metotlar genel olarak, her bir

bileşiğın ayrı ayrı toksikolojik olarak değerlendirilmesi ve her bir bileşiğın oluşum mekanizmasının tespitinde daha uygun olarak görülmektedir (Koyama vd., 2016). Bu nedenle lipit örneklerinde bulunan 3-MCPD esterlerini indirekt olarak belirleme metodları pratikte daha fazla uygulama alanı bulmaktadır (Jeğrkiewicz vd., 2016a).



Şekil 2.2. 3-MCPD’lerin direkt analiz metodlarında izlenen adımlar (Len vd., 2008; Pudel vd., 2016).

### 2.1.2. İndirekt Analiz Metodları

İndirekt analiz metodlarında, 3-MCPD esterleri ile 2-MCPD esterlerinin hidrolizi sonucu açığa çıkan 3-MCPD ve 2-MCPD miktarları ile glisidil esterlerinin hidrolizi ve brominasyonu sonucu açığa çıkan 3-bromo-1,2-propanediol (3-MBPD) miktarı kantitatif olarak analiz edilmektedir. Örnekler fenilboronik asit (PBA) ile trevlendirildikten sonra 3-MCPD, 2-MCPD ve 3-MBPD miktarları GC-MS kullanılarak belirlenmektedir (Miyazaki ve Koyama, 2016). Yani indirekt analiz metodlarında temel olarak esterler hidroliz edilmekte ve ortaya çıkan gliserol iskeleti GC-MS ile analiz edilmektedir (Koyama vd., 2016). İndirekt tespit yöntemleri, direkt tespit metodlarına göre uygulama kolaylığı nedeniyle rutin analizler ve kalite kontrolü için daha sıklıkla kullanılmaktadır.

2013 yılında 3 farklı indirekt belirleme yöntemi AOCS tarafından tescil edilmiştir (Cd 29a 13, Cd 29b 13, Cd 29c 13). Yöntemlerin birbirlerinden farkı, 3-MCPD, 2-MCPD ve glisidil esterlerini ayırma işlemlerinde uygulanan farklı prosedürlerden kaynaklanmaktadır (Koyama vd., 2016; Miyazaki ve Koyama, 2016). Cd 29a metodunda, esterlerin hidrolizi asidik koşullarda gerçekleştirilirken, Cd 29b metodunda hidroliz bazik ortamda gerçekleştirilmektedir. Her iki metotta da hidroliz süresi 10 saati geçmektedir. Cd 29c metodunda ise esterlerin hidrolizi bazik koşullarda ve daha kısa sürede gerçekleşmektedir, ancak bu metotta 2-

MCPD esterleri kantitatif olarak analiz edilememektedir. Bu AOCS metotlarının tümünde ester ayrıştırılmalarının etkinliğini artırmak ve analitler arasındaki istenmeyen reaksiyonları önlemek için hem referans standart, hem de ester formunda döteryumlanmış bir iç standart kullanmak gerekmektedir. Ancak ester formunda bir referans standart kullanımı, kalibrasyon grafiği oluşturmak için tıpkı analiz edilecek örnekte olduğu gibi uzun bir hidroliz süresi gerektirmektedir (Koyama vd., 2016). İndirekt analiz metotlarında kritik basamak transesterifikasyon reaksiyonudur, çünkü transesterifikasyon sırasında eğer reaksiyon alkali koşullarda gerçekleşiyorsa orijinal 3-MCPD bileşiği kısmen glisidole dönüşebilmektedir. Bu problemin çözümü olarak ise reaktifin pH'ını düşürme veya transesterifikasyon reaksiyonunu asidik koşullarda gerçekleştirme işlemleri önerilmektedir (Hrnčirik vd., 2011; Ermacora ve Hrnčirik, 2013; Jędrkiewicz vd., 2016b).

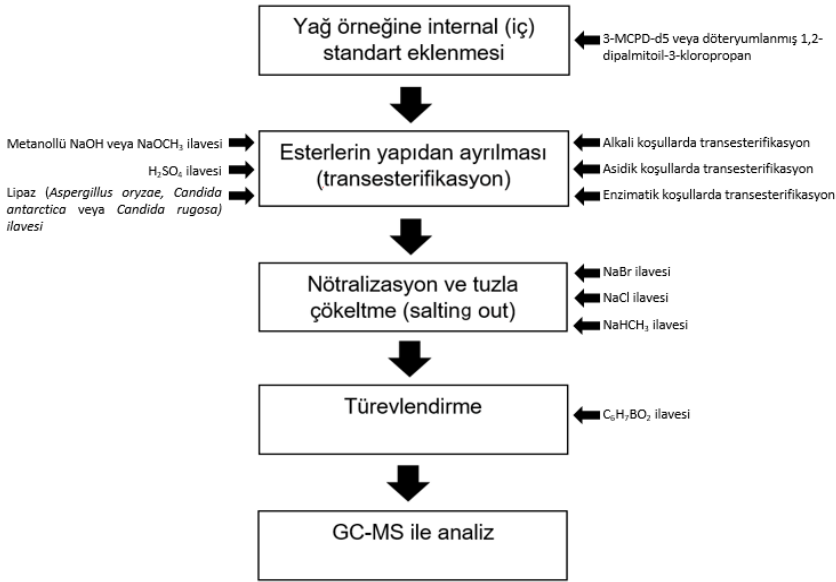
AOCS tarafından önerilen metotlara alternatif olarak esterleri ayırma işleminin enzimatik olarak gerçekleştirildiği yeni bir metot Miyazaki vd. (2012) tarafından geliştirilmiş ve Japon Yağ Kimyacıları Derneği (JOCS) ile yürütülen ortak bir çalışma ile metotta bazı iyileştirmeler yapılmıştır (Koyama vd., 2015; Koyama vd., 2016; Miyazaki ve Koyama, 2016). AOCS Cd 29a ve Cd 29b metotlarında esterlerin ayrılması oldukça uzun bir sürede gerçekleşirken (> 10 saat), enzimatik hidroliz ile esterler 30 dakikada ayrılabilir (Miyazaki ve Koyama, 2016).

Ermacora ve Hrnčirik (2014) tarafından geliştirilen farklı bir analitik metotta, yağ içeren gıdalarda MCPD esterleri ve glisidil esterlerinin eşzamanlı olarak tespiti, örnekler AOCS Cd 29a metoduna göre analiz edilmeden önce bir yağ ekstraksiyon basamağı uygulanarak (AOCS Cd 30–15) gerçekleştirilmiştir (Miyazaki ve Koyama, 2016). Benzer şekilde, aynı bileşiklerin farklı gıdalardaki hem serbest hem de ester formlarının tespiti için Wenzl vd. (2015) tarafından, temeli AOCS Cd 29a metoduna dayanan ve ek olarak yağ ekstraksiyon basamağı içeren bir metot ortaya konulmuş ve metot 600 farklı gıda üzerinde denenmiştir (Miyazaki ve Koyama, 2016).

Yağlardaki MCPD ve glisidil esterlerini indirekt olarak tespit etme metotlarının büyük çoğunluğu temel olarak metanollü sodyum hidroksit veya sodyum metoksit ile baz-katalizli transesterifikasyon, ardından açığa çıkan 2-MCPD ve 3-MCPD'nin fenilboronik asit ile türevlendirilmesi ve son olarak GC-MS ile miktarlarının tayin edilmesine dayanmaktadır (Şekil 2.3.) (Karl vd., 2016). Alman



Yağ Bilimcileri Topluluğu tarafından geliştirilen DGF standart metotlarında da 3-MCPD ve glisidil esterleri indirekt olarak analiz edilmektedir.



Şekil 2.3. 3-MCPD esterlerini indirekt belirleme yöntemlerinde izlenen basamaklar (Ooi vd., 1996; Hamlet vd., 2005; Nagy vd., 2011)

DGF C-VI 17 (10) standart metodunda, örnek hazırlama işlemi esnasında ortamdaki NaCl'nin varlığı glisidil esterlerinin neredeyse tamamen 3-MCPD'ye dönüşmesine neden olmakta ve bu durum da 3-MCPD esterlerini ve glisidil esterlerini birbirinden ayırt etmeyi zorlaştırmaktadır. Bu nedenle 2010 yılında DGF C-VI 18 (10) standart metodu geliştirilmiştir. Metot temel olarak 2 farklı bölümden oluşmaktadır. İlk aşamada 3-MCPD ve glisidil esterlerinin toplam miktarı belirlenmekte, ikinci aşamada ise yalnızca 3-MCPD esterlerinin miktarı belirlenmektedir. Her iki basamak da hedef analitler olan MCPD ve glisidolün oda sıcaklığında, alkali katalizörlüğünde esterlerinin ayrıştırılması temeline dayanmaktadır. Birinci aşamada asitlendirilmiş sodyum klorür çözeltisi reaksiyonu durdurmak ve sonrasında glisidolü uyarılmış MCPD'ye dönüştürmek için kullanılmaktadır. Dolayısıyla metodun ilk bölümünde 3-MCPD ve glisidol birbirlerinden ayrılamaz hale gelmekte ve toplam miktarları tespit edilmektedir (Karl vd., 2016).

Metodun ikinci aşamasında (B) ise glisidolün 3-MCPD'ye dönüşümünü engellemek için reaksiyon asitlendirilmiş, sodyum içermeyen bir tuz çözeltisi (NaBr) eklenerek durdurulmaktadır. Dolayısıyla metodun ikinci aşamasında saf 3-MCPD miktarı bulunmuş olur. Örneğin glisidol içeriği ise, glisidolün 3-MCPD'ye transformasyon oranı belirlenerek, deneyin her iki aşamasında elde edilen sonuçların farkı alınarak bulunur. DGF C-VI 18 (10) metodu, AOCS tarafından da valide edilmiş ve AOCS Cd 29c 13 resmi metodu ismini almıştır (Karl vd., 2016). AOCS Cd 29c 13 metodunda, diğer iki resmi AOCS (29a 13 ve 29b 13) metodunda yaklaşık 24-36 saatte gerçekleşen ve özellikle kalite laboratuvarlarında arzu edilmeyen uzun transesterifikasyon süresi oldukça kısa sürede gerçekleşmekte ve sonuçlar yalnızca birkaç saat içerisinde hazır hale gelmektedir (Zwagerman ve Overman, 2015).

DGF metotlarının her ikisinde de 3-MCPD'nin pozisyon izomeri olan 2-MCPD'nin miktarı tespit edilememektedir (Karl vd., 2016). Ancak Sato vd. (2013) 3-kloropropandiol-1,2-bis-palmitoil ester-d<sup>5</sup>'i iç standart olarak kullanarak bağlı 2-MCPD miktarını kantitatif olarak tespit etmişlerdir (Zelinková vd., 2006). Fakat günümüzde, izotop işaretli 2-MCPD yağ asidi esterleri ticari olarak bulunabilir olduğundan, DGF C-VI 18 (10) metodunun ikinci basamağında, bağlı 2-MCPD miktarının tespiti için izotop işaretli 2-MCPD yağ asidi esterlerinin kullanımı olanağı bulunmaktadır (Karl vd., 2016).

Alkali koşullarda hidroliz etme prensibine dayalı olarak geliştirilen bir diğer metot, SGS 3-in-1 metodu ismiyle ortaya çıkmıştır. Metodun özelliği hidroliz ile esterlerin ayrılması işleminin hafif alkali koşullarda gerçekleştirilmesidir. Metotta, serbest hale geçen glisidol, kararlı 3-MBPD'ye dönüştürülmekte ve bu durum bağlı glisidol, bağlı 2-MCPD ve bağlı 3-MCPD'nin paralel olarak belirlenmesine imkan sağlamaktadır. Hidrolizin hafif alkali ortamda gerçekleşmesi, serbest hale geçen 3-MCPD'nin uyarılmış olan glisidole istenmeyen dönüşümünü engellemektedir. Bu istenmeyen reaksiyon, oda sıcaklığında gerçekleşen DGF metotlarında engellenememektedir. Hafif alkali koşullarda hidroliz temeline dayalı bu metot AOCS tarafından valide edilmiş ve AOCS Cd 29b 13 resmi metodu ismini almıştır (Karl vd., 2016).

MCPD'lerin tespiti için geliştirilen metotlar arasında en yeni olanı Ermacora ve Hrnčirik (2013) tarafından geliştirilen metottur. Metotta glisidolün 3-MBPD'ye dönüşümü temel alınmış, ancak bu işlem esterlerin ayrımından önce

gerçekleştirilmiştir. Açığa çıkan 3-MBPD mono- esterleri ile 2-MCPD ve 3-MCPD'nin yağ asidi esterleri sonraki aşamada asit katalizli alkolizis ile ayrıştırılmıştır (Ermacora ve Hrnčirik, 2013; Karl vd., 2016). Aynı zamanda Unilever metodu olarak da adlandırılan bu metot, AOCS tarafından valide edilmiş ve AOCS Cd 29a 13 resmi metodu ismini almıştır. Ayrıca DGF ve SDS metotlarındaki örnek hazırlama prosedürlerinden dolayı, örnek içerisinde bulunan serbest formdaki analitler sonuçları etkileyebilmekte ve sonuçlarda artış meydana gelebilmektedir. Dolayısıyla sonuçlara bakılarak serbest ve bağlı formdaki analitler birbirlerinden ayıramamaktadır. Ancak Unilever metodunda serbest analitler hariç tutulmakta ve dolayısıyla sonuçlar yalnızca bağlı analitlerin miktarını göstermektedir (Karl vd., 2016).

## 2.2. Toksikolojik Veriler

Kloropropanollerin olası toksik etkilerine ilişkin araştırmalar henüz tamamlanmamış olmasına rağmen (Samaras vd., 2016), orta ve yüksek düzeyde 3-MCPD tüketiminin özellikle böbreklerin ve üreme organlarının yetmezliğine neden olduğu yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur (Lee ve Khor, 2015). Ayrıca, uzun vadede yüksek dozda 3-MCPD tüketen deney farelerinde böbrekler ve üreme organlarında hiperplazi ve tümör oluşumu saptanmıştır. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı tarafından 3-MCPD karsinojen bir bileşik olarak sınıflandırılmaktadır (Li vd., 2015). Şu ana kadar elde edilen toksikolojik veriler göz önünde bulundurulduğunda çalışmaların çoğu 3-MCPD'nin deney hayvanları üzerinde karsinojenik etkili olduğunu ve bazı organların fonksiyonlarını bozabildiğini göstermiş, ancak 3-MCPD esterlerinin toksikolojik özellikleri ile ilgili çok az araştırma yapılmıştır (Schilter vd., 2011; Bakhiya vd., 2011; Buhrke vd., 2011; Li vd., 2015). Dolayısı ile 3-MCPD esterlerinin sağlık üzerine uzun vadede etkileri henüz tam olarak bilinmemektedir.

Yapılan bazı çalışmalarda (Li vd., 2015) vücuda alınan 3-MCPD esterlerinin *in vivo* şartlarda %100 oranında 3-MCPD'ye dönüştüğü tespit edilmiştir. Federal Risk Değerlendirme Enstitüsü (The Federal Institute for Risk Assessment-BfR) tarafından yapılan bir araştırmada 10 farklı bebek maması ve devam maması örneklerinde 3-MCPD miktarı araştırılmış, sonuçlar ise, 3-MCPD esterleri vücutta 3-MCPD'ye dönüştüğünden, yalnızca ticari bebek maması formülasyonları ile beslenen bebeklerin önemli düzeyde glisidol ve 3-MCPD tükettiklerini ve tüketilen dozun Gıda Katkı Maddeleri için Ortak Uzman Komitesi, JECFA (the

Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) tarafından belirlenen günlük dozu aşabileceğini göstermiştir. Gerçekleştirilen farklı toksikolojik çalışmalarda (Buhrke vd., 2011; Abraham vd., 2013) da 3-MCPD esterlerinin hidrolizinin hücrede gerçekleştirildiği görülmüş, ayrıca *in vivo* koşullarda deney farelerinde serbest MCPD'nin diesterlerinden %86 oranında ayrıldığı tespit edilmiştir (Li vd., 2015).

Yapılan araştırmalarda serbest formdaki (ester bağlı olmayan) 3-MCPD'nin nefrotoksik ve tümörijenik özellikler gösterdiği deney fareleri üzerinde kanıtlanmıştır. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı 3-MCPD'yi "insanlar için potansiyel karsinojen" olarak 2B grubunda sınıflandırmıştır. Glisidolün ise mutajenik ve karsinojenik özellikler gösterdiği belirtilmiş ve "insanlar için büyük bir olasılıkla karsinojen" olduğu ifade edilerek 2A grubunda sınıflandırılmıştır (Pudel vd., 2016).

Federal Risk Değerlendirme Enstitüsü (BfR) tarafından 2007 yılında yayınlanan bildirimde serbest formdaki 3-MCPD'nin insan sindirim sisteminde esterlerinden tamamen ayrıldığı ortaya konulmuştur. Ayrıca Federal Risk Değerlendirme Enstitüsü bu bilgiden yola çıkarak serbest formdaki bileşikler için geçerli olan tüm eşik düzeyi ve önerilerin ester formları için de geçerli olduğunu öne sürmüştür (Pudel vd., 2016). Bu varsayım farklı çalışmalarla da (Abraham vd., 2013; Appel vd., 2013) onaylanmış ve bu çalışmalarda 3-MCPD diesterlerinin oral biyoyararlılıklarının %86 düzeyinde olduğu, glisidil esterlerinin ise sindirim sisteminde tamamen hidroliz olduğu tespit edilmiştir (Pudel vd., 2016).

Düşük miktarda 3-MCPD içeren ancak sıklıkla tüketilen ekmekek, makarna, et ürünleri, kek ve bisküviler serbest formdaki 3-MCPD için kaynak niteliğindedir (Weißhaar, 2011). Yapılan araştırmalar sonucu hidroliz edilmiş proteinler ve soya sosunda 3-MCPD miktarı için üst limit 0.02 mg/kg olarak belirlenmiş, ayrıca Gıda Katkı Maddeleri FAO/WHO ortak Uzmanlar Komitesi (JECFA) tarafından geçici olarak günlük alınmasına izin verilen limitin (León vd., 2008) vücut ağırlığı başına 2 µg/kg olduğu belirtilmiştir (Zelinková vd., 2008).

Deney hayvanları üzerinde gerçekleştirilen kısa dönemli çalışmalarda, 3-MCPD'ye bağlı toksisite yönünden en duyarlı organın böbrekler olduğu belirlenmiştir. Ayrıca vücut ağırlığı başına 100 mg/kg 3-MCPD alan farelerde ağır proteinüri ve glikozürinin yanı sıra akut glomerulonefrit gözlenmiştir. 3-

MCPD'nin nefrotoksitesinin oluşumunda muhtemel mekanizmanın  $\beta$ -klorolaktat metabolik yolu ile ilişkili metabolitlerin glikoliz reaksiyonlarını inhibe etmesi olduğu belirtilmektedir (Ermacora ve Hrnčičík, 2014). Alkol dehidrogenaz aracılığı ile 3-MCPD'den üretilen  $\beta$ -klorolaktaldehitin, glikolizis reaksiyonlarında yer alan gliseraldehit-3-fosfat-dehidrogenaz ve triozfosfat izomeraz enzimlerini inhibe ettiği ispatlanmıştır. Ek olarak  $\beta$ -klorolaktik asitin degradasyon ürünü olan okzalik asitin, 3-MCPD'nin böbrekler üzerindeki toksisiteye katkı sağladığı bilinmektedir (Lynch vd., 1998; Ermacora ve Hrnčičík, 2014).

Maymunlar üzerinde gerçekleştirilen kısa dönemli çalışmalar ise 3-MCPD'nin kemik iliği üzerine toksik etkili olabileceğini göstermiştir. Çalışmada, altı erkek maymundan üç tanesine altı hafta boyunca vücut ağırlığı başına 30 mg/kg 3-MCPD verilmiş ve sürenin sonunda anemi, kanda lökosit azlığı (lökopeni) ve ağır trombositopeni gibi hematolojik anormallikler gözlenmiştir (Kirton vd., 1970). Ek olarak maymunlardan iki tanesi kemik iliği depresyonu nedeniyle ölmüştür (Ermacora ve Hrnčičík, 2014).

Deney hayvanları üzerinde gerçekleştirilen iki farklı uzun vadeli çalışmada ise (Sunahara vd., 1993; Cho vd., 2008) 3-MCPD'nin karsinojenik olma potansiyeli bulunduğu ve hem erkek hem de dişi hayvanlarda iyi huylu böbrek tümörü oluşumuna neden olduğu, ayrıca erkek hayvanlarda Leydig hücre tümörü oluşumuna neden olduğu belirlenmiştir (Ermacora ve Hrnčičík, 2014).

### **2.3. 3-MCPD Miktarını Azaltmaya Yönelik Çalışmalar**

Rafine yağlarda 3-MCPD esterlerinin miktarını azaltmaya yönelik yapılan çalışmalar genel olarak 3 temel başlık altında toplanmıştır: a) ham maddede bulunan öncül maddelerin minimize edilmesi, b) rafinasyon prosesinin modifikasyonu c) esterlerin rafinasyondan sonra ortamdan uzaklaştırılması (Matthäus ve Pudel, 2014).

#### **2.3.1. Öncül Maddelerin Elimine/Minimize Edilmesi**

Yağlarda 3-MCPD ve glisidil esterlerinin oluşumunun klor verici iyonlar ile birlikte; triaçilgliseroller, mono- ve diaçilgliseroller; fosfolipitler veya gliserol gibi uygun öncüllerin ve uygun proses şartlarının (ör: sıcaklık, süre, pH) varlığında gerçekleşen karmaşık bir problem olduğu belirtilmektedir. 3-MCPD ve esterlerinin yapısına bakıldığında, klor ve klor içeren bileşiklerin kaynağının tespit edilmesi

azaltma stratejilerinin geliştirilmesinde anahtar rolü oynamaktadır. Matthäus vd. (2011) tarafından yapılan çalışmada, palm yağı su veya su-alkol karışımı gibi polar solventlerle yıkandıktan sonra deodorize edilmiş ve son üründe 3-MCPD esterlerinin miktarı azalmış, bunun nedeninin ise yıkama işlemi ile birlikte polar klor-içeren bileşiklerin yağdan uzaklaştırılması olduğu belirtilmiştir (Matthäus ve Pudel, 2014).

Özellikle palm yağında çok fazla farklı 3-MCPD ve glisidil esterleri olduğu bilinmekte ve bunun nedeni olarak iklim, toprak ve yetiştirme şartlarının yanı sıra genotip, hasat tekniği ve işleme koşullarının da etkisi olduğu belirtilmektedir (Rahn ve Yaylayan, 2011). Bu farklı etkenler sonuç olarak klor içeren bileşiklerin ve öncül olarak etki eden açilgliserollerin miktarını etkilemektedir. Ayrıca farklı tür klor verici bileşiklerle yapılan çalışmalar, klor içeren bileşiklerin organik formda olması gerektiğini, yoksa açilgliserollerle reaksiyonun gerçekleşmesinin zor olduğunu göstermiştir.

Nagy vd. (2011), palm yağının farklı organik klor içeren bileşikler ile demir [II] ve demir [III] klorür gibi inorganik klor içeren bileşikler içerdiğini tespit etmişlerdir. Buna bağlı olarak, 3-MCPD esterlerinin oluşumunu engellemek için yağlı hammaddelerin klor içeren bileşiklerle zenginleştirilmesinden kaçınılmalı veya bu bileşenler ham yağdan proses aşamasının hemen başlangıcında uzaklaştırılmalıdır (Matthäus ve Pudel, 2013). Ham yağdaki klor içeren bileşiklerin çeşitli solventlerle yıkanarak uzaklaştırılmasına alternatif olarak yağ ekstraksiyonu sırasında pulpun yıkanması ile reaktif klor türlerinin uzaklaştırılması önerilmektedir (Craft vd., 2012; Matthäus ve Pudel, 2013). Esterlerin oluşumunu etkileyen öncüllerden biri açilgliserollerdir. Bitkisel yağların pek çoğunda triaçilgliserol miktarı %88-96 arasında olup, diaçilgliserol miktarı ise %1-2 arasındadır. Ancak diaçilgliserol miktarı yalnızca palm yağında %4-12 arasında değişmektedir. Bu da rafinasyon işlemi sırasında palm yağının 3-MCPD ve glisidil esterlerinin oluşumuna neden diğer bitkisel yağlardan daha fazla duyarlı olduğunu kanıtlamaktadır. Bu nedenle 3-MCPD ve glisidil esterlerinin oluşumunu engellemek için diaçilgliserol miktarı, prosten önce mümkün olduğu kadar minimize edilmelidir. Bu amaçla en basit şekilde, hammadde özellikle de palm meyvesi doğru şekilde seçilmeli ve işlenmelidir.

Olgun palm meyvesinde eğer lipaz aktivitesi yüksekse bu durum triaçilgliserollerin hızlı bir şekilde degrade olmasına, bu da lipazların aktif olduğu

süreye bağlı olarak yüksek miktarda diaçilgliserol oluşumuna neden olmaktadır. Bu nedenle hasattan sonra enzimlerin inaktivasyonu amacıyla meyve kümelerinin hızlıca toplanması ve sterilize edilmesi ve sorun teşkil edecek meyvelerin diğer kümelerle birlikte işlenmemesi, ester oluşumunun ileri işlemeye geçilmeden önce engellenmesi açısından gereklidir. Malezya'daki bazı firmalar, sterilizasyon uygulaması ile birlikte hasat ve ham yağın işlenmeye başlama sürecinin arasındaki süre optimize edildiğinde palm yağında 3-MCPD ve glisidil esterlerinin oluşumunun ciddi düzeyde azaldığını tespit etmişlerdir (Matthäus ve Pudel, 2013).

### **2.3.2. Rafinasyon Prosesinin Modifikasyonu**

Her ne kadar ham yağın işlenmesi öncesinde alınabilecek tedbirler olsa da, ester oluşumunun minimize edilebileceği temel aşama rafinasyon prosesidir. Degumming işlemi sırasında genel olarak 3-MCPD ve glisidil esterlerinin miktarının azaldığının bilinmesine rağmen, degumming sırasında asit kullanımının 3-MCPD ester öncüllerinin oluşumunu aktive ettiği tespit edilmiştir (Matthäus ve Pudel, 2013). Ek olarak uygulanan bir nötralizasyon işlemi de asitliği deodorizasyon işleminden önce azaltarak ham palm yağında ester oluşum ihtimalini düşürmektedir. Ayrıca bu işlem nötralize edilmiş yağın soapstocktan ayrılması için uygulanan yıkama işlemi esnasında potansiyel öncüllerin ayrılmasına da yardımcı olmaktadır.

3-MCPD ve glisidil esterlerinin oluşumunun ısı varlığında gerçekleştiği bilinmekte ve ısı artışı bu kontaminantların miktarını artırmaktadır, bu nedenle rafinasyonun en kritik aşaması deodorizasyon basamağıdır. Deodorizasyon sırasında 3-MCPD ve glisidil esterlerinin miktarını azaltmanın bir yolu olarak ısıya hassas bileşiklerin distilasyonunda kullanılan kısa yollu distilasyon uygulaması önerilmektedir (Pudel vd., 2016). Bu yöntemin geleneksel damıtma işlemine göre palm yağında 3-MCPD ve glisidil esterlerinin oluşumunu %90'dan daha fazla azalttığı tespit edilmiştir (Matthäus ve Pudel, 2013). Ancak bu uygulamanın bilinen tek dezavantajı son ürünün renginin ham palm yağında görülen kırmızı renk olmasıdır ve bu renk bazı uygulamalarda arzu edilmemektedir. Fakat aynı zamanda, uygulanan hafif işlemde dolayı son ürün özellikle karoten, tokoferol, tokotrienol ve fitosteroller yönünden oldukça zengin olmaktadır (Ooi vd., 1996; Unnithan, 1999; Pudel vd., 2016).

Ayrıca farklı çalışmalarda ağartılmış palm yağına etanol veya gliserol eklenmesi 3-MCPD esterlerinin oluşum oranını azalttığı (Craft vd., 2012; Matthäus ve Pudiel, 2013), deodorizasyon işleminden önce potasyum hidrojen karbonat veya sodyum bikarbonat ilavesinin 3-MCPD ve glisidol oluşumunu engellediği, deodorizasyon sırasında Köstrolith eklenmesinin 3-MCPD miktarını azalttığı ve deodorizasyon esnasında evaporasyon işleminden önce klor-verici ajana rakip molekül olarak diasetin kullanımının bu kontaminatların oluşumunu azaltabildiği tespit edilmiştir (Matthäus ve Pudiel, 2013).

### 2.3.3. Rafinasyondan Sonra Esterlerin Uzaklaştırılması

3-MCPD ve glisidil esterlerini azaltmanın bir diğer yolu da rafinasyon işlemi tamamlandıktan sonra satışa hazır ürünün çeşitli şekillerde işlenmesidir. Strijowski vd. (2011), kalsine edilmiş zeolit ve yapay magnezyum silikat uygulaması ile glisidil esterlerinin miktarını rafine palm yağında azaltmışlardır. Shimizu vd. (2012) tarafından, aktive edilmiş ağartma toprağı kullanımının glisidil palmitatı ortamdan uzaklaştırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca çeşitli kaynaklardan elde edilen farklı enzimlerin (lipaz, halohidrin dehalojenaz, epoksit hidrolaz) kullanımı ile de rafine yağlarda bulunan 3-MCPD esterleri enzimatik olarak farklı bileşiklere dönüştürülebilmekte ve degrade edilebilmektedir (Matthäus ve Pudiel, 2013).

Bunların haricinde yakın tarihte Li vd. (2015) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, öncül içeren kimyasal model reaksiyon ortamında (tripalmitoil gliserol, 1,2-dipalmitoil-sn-gliserol, monopalmitoil gliserol ve sodyum klorür) ve yağ içeren model ortamda (kolza yağı ve sodyum klorür) 3-MCPD esterlerinin oluşumu üzerine 6 farklı antioksidanın (bütillendirilmiş hidroksi toluen, bütillendirilmiş hidroksi anisol, tersiyer bütillhidrokinon, propil gallat, L-askorbil palmitat ve  $\alpha$ - tokoferol) etkisi test edilmiştir. Çalışmada kullanılan tüm antioksidanların test edilen her iki ortamda da 3-MCPD oluşumu üzerine inhibitör etki gösterdiği saptanmıştır. Tersiyer bütillhidrokinon ise hem kimyasal reaksiyon ortamında, hem de yağ içeren model ortamda en yüksek inhibitör etkiye sahip antioksidan olarak bildirilmiştir. Ayrıca farklı bir çalışmada (Hamlet ve Sadd, 2005) model hamur sisteminde, ortamda yüksek miktarda maya bulunmasının 3-MCPD oluşumunu inhibe ettiği belirlenmiştir.



## 2.4. Derin Yağda Kızartma

Derin yağda kızartma işlemi, suyun kaynama noktası üzerindeki bir sıcaklıkta (150-200°C), gıda maddelerinin yenilebilir yağlara daldırılarak pişirilmesi olarak tanımlanmaktadır (Farkas vd., 1996). Bu işlem sırasında gıda maddesinde bulunan su buharlaşarak dışarı çıkmakta ve kaybolan suyun yerine yağ geçmektedir. Kızartma işlemi sırasında ısı ve kütle transferi eşzamanlı olarak meydana gelmekte (Wu vd., 2013) ve işlem sırasında meydana gelen farklı fizikokimyasal değişikliklerle (Maillard Reaksiyonu, nişastanın retrogradasyonu) birlikte gıdalarda arzu edilen duyusal özellikler ortaya çıkmaktadır (Mellema, 2003). Kızartma işlemi üzerinde etkili önemli parametreler yağın sıcaklığı, kızartma süresi, nem miktarı ve kızartılacak olan dilimlerin kalınlığıdır (Wu vd., 2013).

Derin yağda kızartma işlemi sırasında meydana gelen en temel kimyasal reaksiyonlar yağın hidrolizi, oksidasyonu ve polimerizasyonudur (Choe ve Min, 2007) (Çizelge 2.2.).

Çizelge 2.2. Kızartma işlemi sırasında yağda meydana gelen bozulma reaksiyonları (Nawar, 2000; Saguy ve Dana, 2003)

Reaksiyon	Tanım	Ortaya çıkan ana bileşenler ve sonuçlar
<b>Hidroliz</b>	Yağ asitleri ve gliserol arasındaki bağların kırılmasına neden olan de-esterifikasyon reaksiyonu	Mono- ve digliseritler, gliserol ve serbest yağ asitleri açığa çıkmakta, ayrıca yağın dumanlanma noktası azalmaktadır
<b>Oksidasyon</b>	Tat, aroma, renk, besinsel değer ve yağın sağlıkla ilişkili özelliklerini etkilemekte	
<b>a) Birincil oksidasyon</b>	Yüksek sıcaklıklarda oksijenin yağ ile reaksiyonu	Hidroperoksitler ve konjuge dienler oluşmaktadır
<b>b) İkincil oksidasyon</b>	Yüksek sıcaklıklarda hidroperoksitlerin parçalanması	Alkoller, karbonil bileşikler ve serbest yağ asitlerinin oluşumu; polar bileşikler ve malondialdehit oluşmakta, bileşiklerin tespitinde <i>p</i> -anisidin değeri kullanılmaktadır
<b>c) Tersiyer oksidasyon</b>	İkincil oksidasyon ürünlerinin polimerizasyonu	Polimerler oluşmakta, yağın viskozitesi artmakta ve rengi koyulaşmaktadır
<b>Termal polimerizasyon</b>	Polimerizasyon reaksiyonu	Polimer bileşikler oluşmaktadır

### **2.4.1. Yağın Hidrolizi**

Su, buhar ve oksijen; kızartma yağı ve gıdada kızartma işlemi sırasında reaksiyonları başlatan faktörlerdir. Zayıf bir nükleofil olan su, trigliseritlerin ester bağlarına saldırmakta ve mono- ve digliseritler ile gliserol ve serbest yağ asitlerinin açığa çıkmasına neden olmaktadır (Choe ve Min, 2007). Yağda serbest yağ asidi miktarı kızartma sayısının artmasıyla birlikte artmaktadır (Chung vd., 2004). Serbest yağ asitleri ve bunların okside bileşikleri tat kaybına neden olmakta ve yağın kızartma işlemi için kullanılabilirliğini sınırlandırmaktadır. Ayrıca mono- ve digliseritler, gliserol ve serbest yağ asitleri yağın yapısında meydana gelebilecek ileri aşamadaki hidroliz reaksiyonlarını hızlandırmaktadır (Frega vd., 1999). Kızartma işlemi sırasında termal hidroliz yağ-su ara fazından ziyade yağ fazında meydana gelmektedir (Lascaray, 1949). Kızartma yağının belirli araoklarla taze yağla değiştirilmesi yağın hidrolizini yavaşlatmaktadır (Romero vd., 1998). Kızartma ekipmanının temizlenmesinde kullanılan sodyum hidroksit ve diğer alkaliler ise yağın hidrolizini artırmaktadır (Choe ve Min, 2007).

### **2.4.2. Yağın Oksidasyonu**

Yüksek sıcaklıklarda kızartma işlemi sırasında atmosfer oksijeni yağ yüzeyinde yağ ile temas etmekte ve oksidatif reaksiyonlara neden olmaktadır. Oksidasyon ile birlikte hidroperoksitler oluşmakta ve derin yağda kızartma işlemi sırasında, hidroperoksitler stabil bileşikler olmadıklarından peroksit bağlarının homolizi sonucu alkoksi ve hidroksi radikallerine parçalanmaktadır (Choe ve Min, 2007). Ayrıca hidroperoksitler parçalanma, dehidrasyon ve serbest radikal oluşumu olarak bilinen 3 temel degradasyon reaksiyonuna neden olmaktadır. Parçalanma sonucu alkoller ve aldehitler, dehidrasyon sonucu ketonlar oluşmakta, serbest radikaller olarak ise okside monomerler, oksidatif dimerler ve polimerler, trimerler, epoksitler, alkoller, hidrokarbonlar, polar olmayan dimer ve polimerler meydana gelmektedir. Meydana gelen dekompozisyon ürünlerinin birçoğu serbest radikallerin zincir reaksiyonları sonucu oluşmaktadır. Ortaya çıkan interaksiyonlar ise yüksek konsantrasyonda oksijen ve serbest radikaller ile birlikte artmaktadır (Paul vd., 1997).

### 2.4.3. Yağın Polimerizasyonu

Kızartma yağının en önemli dekompozisyon ürünleri uçucu olmayan polar bileşenler ve trigliserit dimer ve polimerleridir. Dimer ve polimerler molekül ağırlıkları 692'den 1600 Dalton'a kadar değişen büyük moleküllerdir (Stevenson vd., 1984; Kim vd., 1999; Choe ve Min, 2007).

Derin yağda kızartma işlemi sırasında gerçekleşen dimerizasyon ve polimerizasyon reaksiyonları radikal reaksiyonlardır. Trigliseritler oksijen ile reaksiyona girerek alkil hidroperoksitler veya dialkil peroksitlerin oluşumuna neden olmaktadır. Bu bileşikler ise kolaylıkla alkoksi ve peroksi radikallerine parçalanabilmektedir. Alkoksi radikalleri yağ molekülünden hidrojeni ayırarak hidroksi bileşiklerin oluşumuna neden olmakta veya hidrojeni farklı alkil radikallerle kombine ederek oksidimerleri oluşturabilmektedir. Peroksi radikalleri ise alkil radikalleri ile birleşmekte ve peroksi dimerlerini oluşturmaktadır (Choe ve Min, 2007).

Derin yağda kızartma işlemi sırasında oluşan polimerler oksijen açısından zengindirler (Choe ve Min, 2007). Ayrıca okside polimer bileşiklerin oluşumu yağın oksidasyonunu hızlandırmaktadır (Yoon vd., 1988). Polimerler yağın ileri aşamalarda degradasyonunu hızlandırmakta, viskoziteyi artırmakta, ısı transferini azaltmakta, köpük oluşumu ve istenmeyen renk oluşumuna neden olmaktadır (Tseng vd., 1996). Polimerler aynı zamanda ürünlerin yüksek oranda yağ absorbe etmesine de neden olmaktadır (Choe ve Min, 2007).

Polimerler genellikle konjuge dienler olup, kızartma işlemi sırasında kızartma ekipmanının yan yüzeylerinde reçine benzeri kalıntılara neden olmaktadır (Choe ve Min, 2007). Kızartma yağında dimer ve polimerlerin oluşumu yağın türü, kızartma sıcaklığı ve kızartma sayısına bağlı olarak değişmektedir.

### 2.5. Derin Yağda Kızartma İşlemi Sırasında 3-MCPD ve Glisidil Esterlerinin Oluşumu

Kızartma işlemi sırasında yağ, su ve hava varlığında yüksek sıcaklıklara maruz bırakıldığından, hidrolitik, termal ve oksidatif reaksiyonlar sonucu bazıları toksik etkili olabilen pek çok uçucu ve uçucu olmayan (Choe ve Min, 2007) yeni bileşik ortaya çıkmaktadır. Diaçilgliseroller de dahil olmak üzere ortaya çıkan, kızartma yağına ait degradasyon ürünleri yüksek sıcaklıklarda glisidil esterlerinin

(Aniołowska ve Kita, 2016) ve 3-MCPD esterlerinin (Arisseto vd., 2017) oluşumuna neden olabilmektedir. Ayrıca kızartma işlemi sırasında ortamda bulunan bileşenlerin büyük oranda gıda tarafından absorbe edildiği belirtilmektedir (Aniołowska ve Kita, 2015).

Aniołowska ve Kita (2016) tarafından yapılan çalışmada palm yağında günde 8 saat olmak üzere toplamda 5 gün tekrarlı kızartma işlemi uygulanmış ve kızartma sıcaklık ve süresinin artmasıyla birlikte glisidil esterlerinin miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca glisidil esterlerindeki azalmanın yağın degradasyon derecesiyle doğrudan ilişkili olduğu belirtilmiştir.

Hammouda vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada, rafine pirina yağı/rafine palm yağı karışımı 175°C'de 16 saat süreyle derin yağda kızartma işleminde kullanılmış ve önemli miktarda 3-MCPD ve glisidil esteri oluşumu gözlenmediği belirtilmiştir. Dingel ve Matissek (2015) tarafından yapılan çalışmada, yüksek oleik asit içerikli ayçiçek yağında derin yağda kızartma işlemi sırasında 3-MCPD ve glisidil esterlerinin oluşmadığı tespit edilmiştir.

Zhou vd. (2014) tarafından yapılan araştırmada ise yüksek sıcaklık derecelerinde uzun süreli ısıtma işlemleri uygulandığında (> 2 saat) 3-MCPD esterlerinin dekompoze oldukları belirtilmiştir. Wong vd. (2017) tavuk etinin 5 gün süreyle derin yağda kızartılması sırasında 3-MCPD ve glisidil esterlerinin oluşumu üzerine etkili faktörleri araştırmışlar ve kızartma süresinin artmasıyla birlikte 3-MCPD ve glisidil ester miktarının önemli düzeyde azaldığını rapor etmişlerdir. Ayrıca örneklerin kızartma öncesi bekletildiği tuz konsantrasyonunun 0'dan %5'e yükselmesiyle 3-MCPD ester miktarının arttığı, ancak bu durumun glisidil esterleri için geçerli olmadığı bildirilmiştir. Ek olarak, Dingel ve Matissek (2015) ayçiçek yağının 160-188°C'de kızartılması esnasında endojen oluşumlar göz ardı edildiğinde, önemli derecede 3-MCPD ve glisidil ester oluşumunun meydana gelmediğini belirtmişlerdir.

## **2.6. Biberiye Ekstraktının Derin Yağda Kızartma İşlemi Sırasında Kullanımı**

Kızartma işlemi sırasında meydana gelen en önemli kimyasal reaksiyonlardan biri oksidasyondur. Oksidasyon derecesini başlıca yüksek sıcaklık, ortamdaki oksijen ve doymamış yağ asitlerinin varlığı gibi faktörler belirlemektedir (Gupta, 2005).

Yağda meydana gelen arzu edilmeyen değişiklikleri önlemek, yağın kalitesini ve stabilitesini artırmak, dolayısıyla kullanılabilirlik süresini uzatmak amacıyla farklı yağların karıştırılması, daha stabil yağ üretimini mümkün kılan yeni hammaddelerin kullanılması ve doğal veya yapay antioksidanların kullanımı gibi farklı yaklaşımlar ortaya konulmaktadır (Chammem vd., 2015). Yapay antioksidanların kullanımı, sağlık üzerine olan olası olumsuz etkilerinden dolayı bazı ülkelerde sınırlandırılmıştır (Branen, 1975; Chen ve Shi 1992; Kahl ve Kappus, 1993). Bu nedenle bitkisel kaynaklı doğal antioksidanların kullanımı, gün geçtikçe yaygınlaşmakta ve doğal antioksidanların sağlık açısından olumsuz etkisi olmadığına inanılmaktadır (Yanishlieva-Maslarova, 2003).

Kızartma işlemi sırasında doğal antioksidanların kaybı, uçuculuklarının daha düşük olması nedeniyle yapay antioksidanlara göre oldukça az miktardadır. Bu nedenle kızartma yağlarının uçucu olmayan antioksidanlar içermesi gerekmektedir. Aksi durumda, seçilen antioksidan yüksek kızartma sıcaklığında, kızartılan materyalde bulunan sudan oluşan su buharı akımında evaporasyon sonucu kademeli olarak kaybolmaktadır (Pokorný vd., 2003).

Bitkisel kaynaklı ekstraktlar arasında en büyük ilgiyi biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) ekstraktı görmektedir (Hraš vd., 2000). Biberiye ekstraktının özellikle kızartma işlemi sırasında yüksek sıcaklıkta aktif kaldığı belirtilmektedir. Biberiye, kızartma sırasında yağı korumakta, ayrıca antioksidan etkisi kızartılan ürüne de geçmektedir. Biberiye ekstraktının aktif bileşenleri olan karnosik asit ve karnosol, termal oksidasyon sırasında parçalanmakta ve ısıtma işlemi boyunca aktif durumda kalan yeni antioksidanların oluşmasını sağlamaktadır (Frankel, 2005). Biberiye ekstraktının ısıya karşı yüksek dayanıklılığı (Man ve Jaswir, 2000) ve yağın kızartılması sırasında yağı koruduğu pek çok çalışmada bildirilmiştir (Man ve Tan, 1999; Man ve Jaswir, 2000; Lalas ve Dourtoglou, 2003; Filip vd., 2011).

Chammem vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada, biberiye ekstraktı ilavesinin kızartma işlemi sırasında peroksit sayısı, asitlik ve doymuş yağ asidi miktarını düşürdüğü, bu etkinin ise biberiyenin etanol ekstraktında bulunan karnosol ve karnosik asitten kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Urbančić vd. (2014) ayçiçek yağında derin kızartma işlemi sırasında biberiye ekstraktının yağın degradasyonunu engellediğini ve bunun yanında akrilamid oluşumunu azalttığını, Lalas ve Dourtoglou (2003), kızartma sırasında biberiye kullanımının kararmayı

ve ransiditeyi geciktirdiğini, ayrıca duyusal özellikleri olumlu yönde etkilediğini, Man ve Jaswir (2000) 6 günlük kızartma işlemleri süresince yağın bozulmasını geciktirdiğini, ayrıca kızartılan patateslerin duyusal özelliklerini geliştirdiğini, Casarotti ve Jorge (2012), biberiye ekstraktı ilavesinin soya yağında toplam polar madde oluşumunu geciktirdiğini ve oksidatif stabiliteyi arttırdığını, ayrıca yapay bir antioksidan olan tersiyer bütül hidrokinona (TBHQ) kıyasla daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. MATERYAL

Çalışmada antioksidan ekstraktın eldesi için hammadde olarak kuru biberiye yapraklarından yararlanılmıştır. Kızartma işlemleri patates örnekleri ile gerçekleştirilmiştir. Kızartma yağı olarak ayçiçek yağı kullanılmıştır.

Kullanılan patates örnekleri, bitkisel sıvı yağlar ve ekstraktın elde edildiği bitkisel hammadde yerel marketlerden, piyasada satılan ürünler arasından temin edilmiştir.

Analizler sırasında kullanılan standart ve çözenlerden hekzan, izooktan, tert-bütül metil eter, dietil eter, etil asetat, sodyum metoksit, toluen, fenil boronik asit, hidroklorik asit, metanol, *p*-anisidin, sodyum hidroksit ve izotop işaretli iç standart (MCPD-d5), glisidol ve 3-MCPD standartları Sigma-Aldrich (St- Louis, ABD) firmasından temin edilmiştir. Sodyum klorür, sodyum bromür, potasyum hidroksit ve fenolftalein ise Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından satın alınmıştır. Çalışmada kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıktadır.

#### 3.2. YÖNTEM

##### 3.2.1. Biberiye Ekstraktının Elde Edilmesi

Biberiye ekstraktları Sokslet yöntemi kullanılarak elde edilmiştir. Bu amaçla 50 g kuru biberiye Sokslet kartuşuna tartılmış, 2 saat süreyle etanol (%96) ile ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon sonrası solvent, döner buharlaştırıcı kullanılarak 50°C'de vakum altında uzaklaştırılmıştır. Elde edilen ekstrakt toplamda 60 ml etanol kullanılarak 3 kez yıkanarak behere aktarılmış, ardından etanol azot gazı altında tamamen uçurulmuştur.

Biberiye ekstraktları koyu renkli, kapaklı cam şişelere aktararak kızartma işlemine kadar -18°C'de muhafaza edilmiştir.

##### 3.2.2. Kızartma İşlemlerinin Gerçekleştirilmesi

Çalışmada kızartma işlemleri fritöz (Remta, Türkiye) kullanılarak iki aşamada gerçekleştirilmiştir:

Birinci aşamada patatesler 2 mm kalınlığında ve 40 mm çapında dilimlenerek %0; 1; 2,5 ve 5'lik NaCl çözeltilerinde 1 saat süreyle bekletilmiş ardından fritözde 1.5 kg derin yağda kızartılmıştır. Kızartma işleminin hemen öncesinde biberiye ekstraktı 0, 500, 1000 ve 2000 mg/kg düzeyinde kızartma yağına ilave edilmiştir ve yağ içerisinde çözünmesi sağlanmıştır. Kızartma işlemi 180°C'de 3 dakika süreyle gerçekleştirilmiştir. Kızartma işlemi sırasında sıcaklık ölçme cihazı (Testo) kullanılarak sıcaklıklar ölçülmüştür. Kızartma işlemi sonrasında elde edilen patates kızartması ve yağ örneklerinin tümü 3-MCPD ve glisidil esterlerinin miktarı yönünden analiz edilmiştir.

Çalışmanın ikinci aşamasında biberiye ekstraktı (2000 mg/kg) ilave edilen yağlarla tekrarlı kızartma işlemi yapılmıştır. Kızartma parametreleri değiştirilmeden (180°C, 3 dk), 3 gün (günde 8 kızartma, toplam 24 kızartma) süreyle kızartma işlemi uygulanmıştır. İşlem süresince kızartma yağı değiştirilmemiş, yalnızca her gün kızartılan örneklerle uzaklaşan yağ miktarı kadar yağ her günün başında fritöze ilave edilmiştir. Günde toplamda 8 kızartma döngüsü uygulanmış, kızartma işlemi birer saat aralıklarla gerçekleştirilmiştir. 4. ve 8. kızartma işlemlerinden sonra ise örnekler toplanmıştır. 8. kızartma işleminin sonunda kızartma yağları filtre edilerek ertesi güne kadar 4°C'de muhafaza edilmiştir.

Kızartma işleminin sonunda elde edilen patates örnekleri 3-MCPD ve glisidil esterleri yönünden; kızartma yağı ise 3-MCPD ve glisidil esterlerine ek olarak renk, toplam polar madde, serbest yağ asitliği, yağ asidi kompozisyonu, *p*-anisidin değeri ve iyot sayısı yönünden analiz edilmiştir. Örneklerin tümü analize kadar -18°C'de muhafaza edilmiştir.

### **3.2.3. Kızartma İşlemi Sonrası Patateslerden Yağın Ekstraksiyonu**

Kızartma işlemleri tamamlandıktan sonra patates örneklerinin yağları hızlı yağ tayin cihazı (SER148, Velp Scientifica, İtalya) kullanılarak ekstrakte edilmiştir. Çözgen olarak hekzan kullanılmıştır. Ekstraksiyon işlemi sonrası örnekler analize kadar -18°C'de muhafaza edilmiştir.

### **3.2.4. 3-MCPD ve Glisidil Esterlerinin Analizi**

Kızartma yağı ve patates örneklerinin 3-MCPD ve glisidil esterlerinin miktarı, indirekt analiz metotlarından olan ve alkali koşullarda transesterifikasyona dayalı DGF C VI 18-10 (Anonim, 2009) standart metodu kullanılarak tespit edilmiştir.



### 3.2.4.1. Çözeltilerin Hazırlanışı

İç standart stok çözeltisi: 25 mg 3-MCPD-d5 100 ml toluende çözülerek hazırlanmıştır.

İç standart çalışma çözeltisi: İç standart stok çözeltisinden 2 ml alınarak 100 ml toluende (v/v) hazırlanmıştır.

Sodyum metoksit çözeltisi: 25 g/L (w/v) olacak şekilde metanolde hazırlanmıştır.

Asitlendirilmiş sodyum klorür çözeltisi: 200 g/L (w/v) olacak şekilde hazırlanmış, sonrasında 35 ml %25'lik sülfürik asit çözeltisi (v/v) ile asitlendirilmiştir.

Asitlendirilmiş kloruz tuz, sodyum bromür, çözeltisi: 600 g/L (w/v) olacak şekilde hazırlanmış, sonrasında 35 ml %25'lik sülfürik asit çözeltisi ile asitlendirilmiştir.

Türevlendirme çözeltisi: Fenil boronik asit ile dietileterde doygun çözelti oluşturacak şekilde (w/v) hazırlanmıştır.

### 3.2.4.2. Analiz Prosedürü

0,1'er g yağ örneği 2 adet kapaklı cam tüpe tartılıp, üzerlerine 100 µl iç standart çalışma çözeltisi ilave edildikten sonra 100 µl tert-bütül metil eter eklenerek örnekler çözülmüştür. Ardından örneklerin üzerine 200 µl sodyum metoksit çözeltisi ilave edilerek alkali transesterifikasyon için örnekler 5 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Sürenin sonunda cam tüplerden birine 600 µl asitlendirilmiş sodyum klorür (Deney A) çözeltisi ilave edilirken, diğerine 600 µl asitlendirilmiş sodyum bromür (Deney B) çözeltisi ilave edilerek reaksiyonlar durdurulmuştur. Sonrasında her iki tüpe de 600 µl hekzan ilave edildikten sonra örnekler 5 dakika bekletilmiştir. Sürenin sonunda üst fazlar ayrılmış, ardından örneklere 600 µl hekzan ilave edilerek yeniden 5 dakika bekletilmiştir. Süre tamamlandığında üst fazlar yeniden ayrılarak atılmış ve tüplere 600 µl dietileter:etil asetat (3:2) karışımı ilave edilmiştir. Bu kez üst fazlar, öncesinde dibine sodyum sülfat ilave edilmiş viallere aktarılmış ve fazlar aktarıldıktan sonra üzerlerine 50 µl fenilboronik asit çözeltisi ilave edilmiştir. Ardından vial içeriği azot gazı altında tamamen uçurulmuştur. Sonrasında viallere 500 µl izooktan ilave edilerek örneklerin analizi GC-MS cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

### 3.2.4.3. GC-MS Çalışma Koşulları

3-MCPD ve glisidil esterlerinin kantitatif tayini laboratuvarımızda bulunan GC-MS (GC-MS 2010, Shimadzu, Kyoto, Japonya) cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Kromatografik ayırım için Agilent J&W HP-5MS GC kolonu (0.32 mm i.d. ve 0.25 µm film kalınlığı) kullanılmıştır.

GC-MS cihazında uygulanan çalışma koşulları aşağıdaki gibidir (Cheng vd., 2016):

Taşıyıcı gaz: Helyum

Taşıyıcı gaz akış hızı: 1.18 ml/dk

Enjeksiyon modu: Splitless

3-MCPD'nin kütle/yük (m/z) oranı: 147

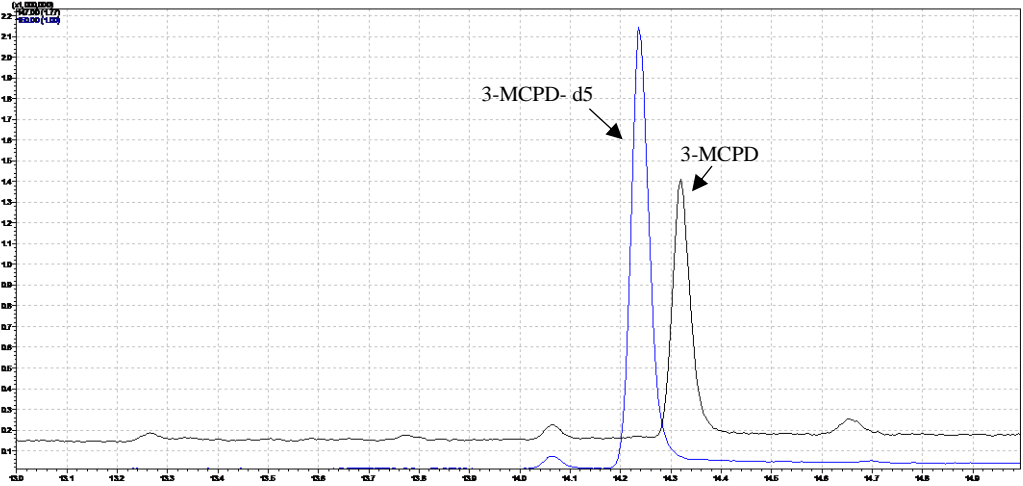
İç standart (3-MCPD-d5) kütle/yük (m/z) oranı: 150

Fırın sıcaklık programı: 80°C → 155°C (5°C/dk artış ile) → 300°C, 5 dk (60°C/dk artış ile)

Kütle dedektörü: SIM modu

İyonizasyon voltajı: 70 eV

İyon ve arayüz sıcaklıkları: 200°C ve 280°C



Şekil 3.1. İç standart (3-MCPD-d5) ve 3-MCPD'ye ait örnek GC-MS kromatogramı

#### 3.2.4.4. Sonuçların Hesaplanması

Kalibrasyon grafiği oluşturmak için, 0,1 g zeytinyağı örneği Deney A'ya göre analiz edilmiş, ek olarak tartım sonrasında üzerine 100 µl glisidol çözeltisi ilave edilmiştir. Glisidol çözeltileri 7 farklı konsantrasyonda (0,025; 0,05; 0,1; 0,25; 0,5; 1 ve 2,5 mg/kg) toluende hazırlanmıştır. Kalibrasyon grafiği Şekil 3.2.'de verilmiştir.

DGF C VI 18 (10) 2 farklı bölümden oluşmaktadır. İlk aşamada 3-MCPD ve glisidil esterlerinin toplam miktarı belirlenmekte, ikinci aşamada ise yalnızca 3-MCPD esterlerinin miktarı belirlenmektedir. Her iki basamak da hedef analitler olan MCPD ve glisidolün oda sıcaklığında, alkali katalizörlüğünde esterlerin ayrıştırılması temeline dayanmaktadır. Birinci aşamada asitlendirilmiş sodyum klorür (NaCl) çözeltisi reaksiyonu durdurmak ve sonrasında glisidolü uyarılmış MCPD'ye dönüştürmek için kullanılmaktadır. Dolayısıyla metodun ilk bölümünde 3-MCPD ve glisidol birbirlerinden ayıramaz hale gelmekte ve toplam miktarları tespit edilmektedir (Karl vd., 2016). Metodun ikinci aşamasında (B) ise glisidolün 3-MCPD'ye dönüşümünü engellemek için reaksiyon asitlendirilmiş, sodyum içermeyen bir tuz çözeltisi (NaBr) eklenerek durdurulmaktadır. Dolayısıyla metodun ikinci aşamasında saf 3-MCPD miktarı bulunmuş olur. Örneğin glisidol

içeriği ise, glisidolün 3-MCPD'ye transformasyon oranı belirlenerek, deneyin her iki aşamasında elde edilen sonuçların farkı alınarak bulunur.

Bağlı 3-MCPD miktarı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

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

$W_{3-MCPD(B)}$  = 3-MCPD'nin Deney B'ye ait kütle fraksiyonu (mg/kg)

$W_{d5-3-MCPD(B)}$  = 3-MCPD-d5'in Deney B'ye ait kütle fraksiyonu (mg/kg)

$SF_B$  = Deney B'ye ait 3-MCPD'nin pik alanı

$SF_{iB}$  = Deney B'ye ait 3-MCPD-d5'in pik alanı

3-MCPD ve glisidil esterlerinin toplam miktarı ise aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

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

$W_{3-MCPD(A)}$  = 3-MCPD'nin Deney A'ya ait kütle fraksiyonu (mg/kg)

$W_{d5-3-MCPD(A)}$  = 3-MCPD-d5'in Deney A'ya ait kütle fraksiyonu (mg/kg)

$SF_A$  = Deney A'ya ait 3-MCPD'nin pik alanı

$SF_{iA}$  = Deney A'ya ait 3-MCPD-d5'in pik alanı

Örneğin glisidol miktarı ise aşağıdaki formüle göre belirlenmiştir:

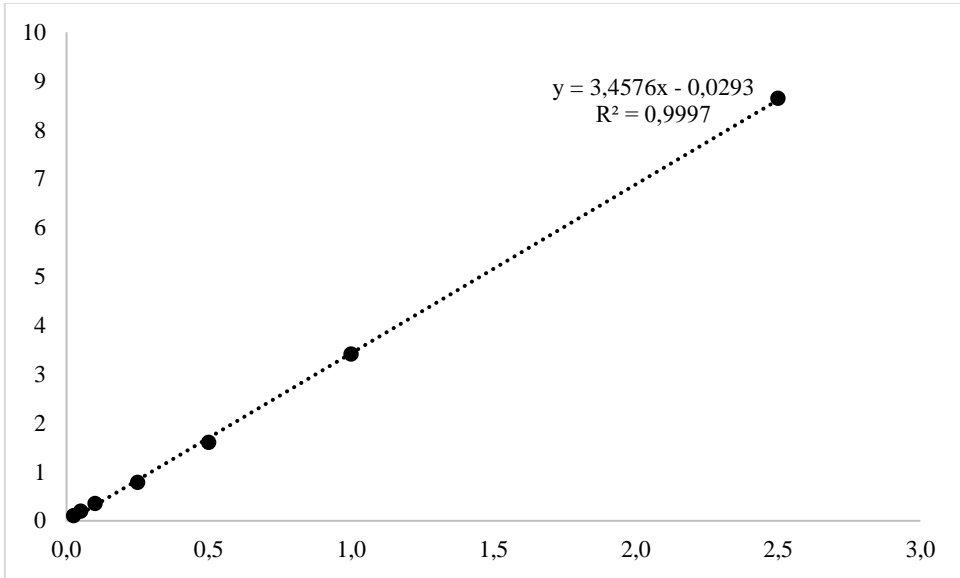
$$W_{Glisidol} = t \times (W_{3-MCPD(A)} - W_{3-MCPD(B)})$$

$W_{Glisidol}$  = Örnekte bulunan glisidolün kütle fraksiyonu (mg/kg)

$t$  = Kalibrasyon eğrisinden  $y=mx+n$  denkleminde  $y$  yerine hesaplanan transformasyon oranı  $\left(\frac{1}{m}\right)$

$y$  =  $W_{3-MCPD}$ 'nin kütle fraksiyonu

$x = W_{\text{Glisidol}}$ 'ün kütle fraksiyonu



Şekil 3.2. Kalibrasyon grafiği

### 3.2.5. Toplam Polar Madde Miktarının Belirlenmesi

Tekrarlı kızartma işlemleri sırasında yağ örneklerinin toplam polar madde miktarı, Testo (270) kızartma yağı test cihazı kullanılarak saat başı gerçekleştirilmiştir. Cihaz kızartma yağına daldırılarak toplam polar madde miktarı cihaz üzerindeki göstergeden okunmuştur.

### 3.2.6. Fotometrik Renk İndeksinin Belirlenmesi

Kızartma yağlarının renk analizi AOCS Official Method Cc 13c-50 (Anonim, 2003) metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yağ örneklerinin absorbanları spektrofotometre (Shimadzu, Japonya) ile 460, 550, 620 ve 670 nm'de şahite karşı ölçülmüş ve aşağıdaki formüle göre fotometrik renk indeksi belirlenmiştir:

$$\text{Fotometrik renk indeksi} = 1,29 * (\text{Abs}460) + 69,7 * (\text{Abs}550) + 41,2 * (\text{Abs}620) - 56,4 * (\text{Abs}670)$$

Abs: Okunan absorban değeri

### 3.2.7. Serbest Yağ Asidi Miktarının Belirlenmesi

Yağ örneklerinin serbest yağ asidi miktarı % oleik asit cinsinden AOCS Official Method Ca 5a-40'a (Anonim, 2003) göre belirlenmiştir. Bu amaçla 3 g yağ örneği erlenmayer içerisine tartılmış ve üzerine 30 ml dietil eter:etil alkol (1:1) karışımı ilave edilerek örnek çözülmüştür. Ardından birkaç damla fenolftalein ilave edildikten sonra 0.1 N sodyum hidroksit çözeltisi ile titrasyon yapılmıştır. Örneğin serbest yağ asidi miktarı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\text{Serbest yağ asidi miktarı} = \frac{\text{Harcanan NaOH miktarı} \times \text{NaOH için ayarlı normalite} \times 28,2}{\text{Örnek miktarı (g)}}$$

### 3.2.8. Yağ Asidi Kompozisyonun Belirlenmesi

Yağ asidi metil esterleri IUPAC (Anonim, 1987) metoduna göre hazırlanmış ve gaz kromatografisi cihazında (GC 2010, Shimadzu, Kyoto/Japan) analiz edilmiştir.

Yağ asidi metil esterlerini oluşturmak için önce 0,4 g örnek erlenmayer içerisine tartılmış ve üzerine 4 ml izooktan ilave edilmiştir. Üzerine 0,2 ml metanollü potasyum hidroksit (2N) ilave edildikten sonra 30 saniye süreyle örnek çalkalanmış, ardından 6 dakika süreyle karanlıkta bekletilmiştir. Sonrasında üzerine 1-2 damla metil turuncusu eklenmiş, ardından 0,45 ml hidroklorik asit (1 N) ilave edilerek 15 dakika yatay pozisyonda bekletilmiştir. Süre sonunda üst faz vialle aktarılmıştır.

Kromatografik ayırım DB-23 erimiş silika kapiler kolon (60 m x 0.25mm i.d. ve 0.25 µm film kalınlığı) (J&W Scientific) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar yağ asitlerinin tüm yağ asitleri içerisinde yüzde dağılımı olarak ifade edilmiştir.

Gaz kromatografisi cihazında uygulanan çalışma koşulları aşağıdaki gibidir:

Taşıyıcı gaz: Helyum

Taşıyıcı gaz akış hızı: 0,3 ml/dk

Split oranı: 80:1

Dedektör sıcaklığı: 240°C

Enjektör sıcaklığı: 230° C

Kolon sıcaklığı: 195°C

### 3.2.9. *p*-Anisidin Değerinin Belirlenmesi

Kızartma yağlarının *p*-anisidin değeri AOCS Cd 18-90 (Anonim, 2003) resmi metodu kullanılarak belirlenmiştir.

0,5-4 g örnek izooktanla 25 ml'ye tamamlanmış ve 350 nm'de spektrofotometrede (Shimadzu, Japonya) şahite karşılık absorbans ölçülmüştür. Hazırlanan örnekten 5 ml alınmış, ardından üzerine 5 ml solvent ve 1 ml *p*-anisidin çözeltisi (0,25 g/100 ml asetik asit) ilave edilerek 10 dakika bekletilmiştir. Ardından 350 nm'de 2 okuma yapılmıştır. *p*-anisidin değeri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$p\text{-anisidin değeri} = \frac{25 \times (1,2As - Ab)}{m}$$

Ab: Yağ çözeltisinin absorbansı

As: *p*-anisidin çözeltisiyle reaksiyon sonrası okunan absorbans

m: Tartılan yağ miktarı

### 3.2.10. İyot Sayısının Belirlenmesi

Kızartma yağlarının iyot sayıları AOCS Cd 1c-85 (Anonim, 2003) resmi metodu kullanılarak tespit edilmiştir. Bu amaçla örneklerin gaz kromatografisinde belirlenen yağ asidi dağılımlarına göre iyot sayıları aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\begin{aligned} \text{İyot sayısı} = & (\% \text{hekzadesenoik asit} \times 0,9976) + (\% \text{oktadesenoik asit} \times 0,8986) + \\ & (\% \text{oktadekadienoik asit} \times 1,810) + (\% \text{oktadekatrienoik asit} \times 2,735) + (\% \text{eikosenoik} \\ & \text{asit} \times 0,8175) + (\% \text{dokosenoik asit} \times 0,7497) \end{aligned}$$

### 3.2.11. İstatistiki Değerlendirme

Çalışma sonunda elde edilen veriler SPSS 15.0 paket programı kullanılarak istatistiki olarak değerlendirilmiştir. Varyans analizi tekniği (ANOVA) kullanılarak grup ortalamaları arasındaki fark belirlenmiştir. Farklılığın önem derecesi ise Duncan çoklu karşılaştırma testi yapılarak tespit edilmiştir.

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Biberiye Ekstraktının ve Tuzun Kızartma Yağı ve Patates Yağında Bulunan 3-MCPD ve Glisidil Esterleri Üzerine Etkisi

Çalışma kapsamında ilk aşamada gerçekleştirilen kızartma işlemlerinden sonra elde edilen kızartma yağı ve patates örneklerinin 3-MCPD esterlerinin miktarları Çizelge 4.1. ve 4.2.'de verildiği gibidir.

Çizelge 4.1. Kızartma yağında oluşan 3-MCPD esterleri (mg/kg)

Tuz (%)	Biberiye konsantrasyonu (mg/kg)			
	0	500	1000	2000
0	0,57	0,96	0,73	0,80
1	0,52	0,70	0,58	0,76
2,5	0,90	0,76	0,72	0,71
5	0,79	0,78	0,53	0,77

İşlem görmemiş ayçiçek yağında tespit edilen 3-MCPD esterlerinin miktarı 0,57 mg/kg olarak bulunmuşken, kızartma işlemi süresince kızartma yağında bu miktar 0,52-0,96 mg/kg aralığında değişim göstermiştir. Biberiye içermeyen örnekler göz önüne alındığında, saf suda bekletilen örneklere kıyasla kızartma öncesi %2,5 ve % 5 tuz çözeltisinde bekletme işleminin 3-MCPD esterlerinin oluşumunu teşvik etme potansiyeli olduğu gözlemlenmiş, ancak artış istatistikî açıdan önemli bulunmamıştır.

500 mg/kg biberiye ekstraktı içeren örnekler dikkate alındığında en yüksek 3-MCPD ester miktarı (0,96 mg/kg) kızartma işlemi öncesinde saf suda bekletilmiş örneklerde tespit edilmiştir. %1 NaCl çözeltisinde bekletme işleminin 3-MCPD ester miktarını azaltma potansiyeli olduğu, diğer yandan %2,5 ve %5 tuz çözeltilerinde bekletme işleminin 3-MCPD oluşumunu teşvik edebildiği görülmüştür. Saf suda bekletilmiş örnekler göz ardı edildiğinde, en yüksek 3-MCPD miktarı (0,78 mg/kg) işlem öncesinde %5 NaCl çözeltisinde bekletilmiş örneklerde tespit edilmiştir.

Kızartma yağlarına 1000 mg/kg düzeyinde biberiye ekstraktı ilavesi,saf suda, %1 ve %2,5 NaCl çözeltisinde bekletilen örnekler dikkate alındığında 3-MCPD



oluşumunu kontrole göre arttırmış, örnekler %5 NaCl çözeltisinde bekletildiğinde ise biberiye ekstraktının oluşumu baskılama potansiyeli olduğu görülmüştür.

2000 mg/kg biberiye ekstraktı ilavesi ise tuzda bekletme işlemi ile birlikte 3-MCPD esterlerinin oluşumunu azaltmaya yönelik etki göstermiş, en düşük 3-MCPD ester miktarı (0,71 mg/kg) kızartma öncesinde %2,5 tuz çözeltisinde bekletilmiş örneklerde, en yüksek 3-MCPD ester miktarı (0,80 mg/kg) ise işlem öncesinde saf suda bekletilmiş örneklerde saptanmıştır.

Ancak işlem sırasında 3-MCPD esterlerinin miktarında meydana gelen değişimler istatistiki olarak önemli bulunmamış, benzer sonuçların varlığı literatürde de bildirilmiştir. Wong vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada örneklerin kızartma öncesi bekletildiği tuz konsantrasyonunun 0'dan %5'e yükselmesiyle 3-MCPD ester miktarının arttığını, ancak bu durumun glisidil esterleri için geçerli olmadığı bildirmişlerdir. Dingel ve Matissek (2015) ayçiçek yağının 160-188°C'de kızartılması esnasında endojen oluşumlar göz ardı edildiğinde, önemli derecede 3-MCPD ve glisidil ester oluşumunun meydana gelmediğini belirtmişlerdir. Hammouda vd. (2017) rafine pirina/palm yağı ile 175°C'de gerçekleştirilen derin yağda kızartma işleminin 3-MCPD ve glisidil esterlerinin oluşumu üzerine etkisi olmadığını rapor etmişlerdir.

Çizelge 4.2. Kızartma yağında oluşan glisidil esterleri (mg/kg)

Tuz (%)	Biberiye konsantrasyonu (mg/kg)			
	0	500	1000	2000
0	0,39	0,20	0,29	0,22
1	0,27	0,36	0,47	0,24
2,5	0,21	0,33	0,27	0,21
5	0,48	0,19	0,36	0,39

Kızartma işlemi süresince kızartma yağında oluşan glisidil esterlerine ait veriler Çizelge 4.2.'de sunulduğu gibidir. Glisidil esterlerinin miktarı işlem süresince analiz edilen tüm NaCl ve biberiye konsantrasyonlarında 3-MCPD esterlerine göre daha düşük miktarda bulunmuştur. En yüksek miktarda glisidil esterleri (0,48 mg/kg) işlem öncesinde %5 tuz çözeltisinde bekletilmiş ve biberiye ekstraktı içermeyen örneklerde tespit edilmiştir. En düşük miktar (0,19 mg/kg) ise %5 tuz çözeltisinde bekletilmiş ve 500 mg/kg biberiye içeren yağda kızartılmış örneklerde

tespit edilmiştir. Biberiye ekstraktı içermeyen örnekler dikkate alındığında glisidil esterlerinin en düşük miktarı (0,21 mg/kg) %2,5 tuz çözeltisinde bekletilen örneklerde tespit edilmiştir. Kızartma yağına 500 mg/kg biberiye ilavesi ile birlikte, test edilen tüm tuz konsantrasyonları için glisidil esterlerinin miktarı kontrole (0,39 mg/kg) göre daha düşük bulunmuştur. Kızartma öncesinde %5 NaCl çözeltisinde bekletme işleminin ise glisidil esterlerinin oluşumunu diğer tuz konsantrasyonlarına göre daha fazla baskılama potansiyeli olduğu belirlenmiştir.

1000 mg/kg biberiye ekstraktı içeren örnekler arasında %1 tuz çözeltisinde bekletme işleminin glisidil esterlerinin oluşumunu teşvik edebildiği, bunun yanında %2,5 tuz konsantrasyonunda bekletmenin test edilen diğer tuz konsantrasyonlarına göre oluşumu maksimum düzeyde baskılama potansiyeli olduğu görülmüştür.

2000 mg/kg biberiye ekstraktı içeren örneklerin glisidil esterlerinin miktarı 0,21-0,39 mg/kg arasında değişim göstermiş ve biberiye ekstraktı içermeyen örneklerde olduğu gibi maksimum glisidil ester miktarı (0,39 mg/kg) %5 NaCl çözeltisinde bekletilmiş yağ örneklerinde saptanmıştır.

Farklı tuz konsantrasyonlarının etkisi dikkate alındığında, saf suda bekletilmiş örnekler için 500 mg/kg biberiye ilavesinin, %1 NaCl çözeltisinde bekletilmiş örnekler için 2000 mg/kg biberiye ilavesinin, %2,5 NaCl çözeltisinde bekletilmiş yağ örnekleri için 0 veya 2000 mg/kg biberiye ilavesinin ve %5 NaCl çözeltisinde bekletilmiş örnekler için 500 mg/kg biberiye ilavesinin glisidil esterlerinin oluşumunu minimize etme potansiyeli yönünden en uygun sonuçları verdiği saptanmıştır.

NaCl ve biberiye konsantrasyonlarındaki değişimlerle birlikte glisidil esterlerinin miktarlarında meydana gelen değişiklikler istatistiki açıdan önemli bulunmasa da, örnekleri kızartma öncesi %5 NaCl çözeltisinde bekletme işleminin glisidil esterlerinin oluşumunu teşvik edebildiği görülmüştür.

Çizelge 4.3. Patates yağında oluşan 3-MCPD esterleri (mg/kg)

Tuz (%)	Biberiye konsantrasyonu (mg/kg)			
	0	500	1000	2000
0	0,83 <sup>a,AB</sup>	0,81 <sup>a,A</sup>	1,08 <sup>a,AB</sup>	1,01 <sup>a,A</sup>
1	0,78 <sup>ab,AB</sup>	0,95 <sup>ab,A</sup>	0,65 <sup>a,AB</sup>	1,46 <sup>b,A</sup>
2,5	0,71 <sup>a,A</sup>	0,85 <sup>a,A</sup>	1,21 <sup>a,B</sup>	0,71 <sup>a,A</sup>
5	1,19 <sup>b,B</sup>	1,23 <sup>b,A</sup>	0,36 <sup>a,A</sup>	1,43 <sup>b,A</sup>

Farklı simgeler aynı tuz konsantrasyonunda bekletilmiş farklı miktarda biberiye içeren (a-b) ve farklı tuz konsantrasyonlarında bekletilmiş, aynı miktarda biberiye içeren (A-B) örneklerin ortaya koyduğu farkları simgelemektedir ( $p<0,05$ )

Kızartma işlemleri süresince patates örneklerinden ekstrakte edilmiş yağların 3-MCPD ester miktarları 0,36-1,46 mg/kg arasında değişim göstermiştir (Çizelge 4.3.).

Saf suda bekletilmiş 500 mg/kg biberiye ekstraktı içeren örnekler, %5 NaCl çözeltisinde bekletilmiş ve 1000 mg/kg biberiye içeren örnekler ile %2,5 NaCl çözeltisinde bekletilmiş, biberiye ekstraktı içermeyen ve 2000 mg/kg biberiye içeren örnekler hariç, test edilen tüm tuz ve biberiye konsantrasyonlarında patates yağlarında tespit edilen 3-MCPD ester miktarları kızartma yağlarında tespit edilen miktarlara göre daha yüksek bulunmuştur.

Biberiye ekstraktı içermeyen örnekler dikkate alındığında 3-MCPD esterlerinin en yüksek oluşumu %5 NaCl çözeltisinde bekletilen örneklerde görülmüş ve farklı tuz konsantrasyonlarında 0,71 mg/kg-1,19 mg/kg aralığında 3-MCPD esterlerinin varlığı tespit edilmiştir. Ayrıca örnekler %2,5 yerine %5 tuz çözeltisinde bekletildiğinde 3-MCPD esterlerinin miktarında meydana gelen artış istatistiki açıdan önemli bulunmuştur. 500 mg/kg biberiye ekstraktı içeren örnekler arasında da en yüksek miktar (1,23 mg/kg) benzer şekilde %5 NaCl çözeltisinde bekletilmiş örneklerde tespit edilmiştir. En düşük miktar (0,81 mg/kg) ise kızartma öncesinde saf suda bekletilmiş patates yağı örneklerinde saptanmıştır. Ancak 1000 mg/kg biberiye ekstraktı içeren örneklerde diğerlerinden farklı olarak minimum 3-MCPD ester miktarı %5 NaCl çözeltisinde bekletilen örneklerde tespit edilmiştir. Saf suda (1,08 mg/kg) ve %2,5 NaCl çözeltisinde (1,21 mg/kg) bekletilmiş örneklerde kontrole göre oldukça yüksek miktarlarda 3-MCPD'nin varlığı tespit edilmiştir. Yine 1000 mg/kg biberiye ekstraktı içeren örnekler göz önüne alındığında %1 NaCl yerine %2,5 NaCl çözeltisinde bekletilen örneklerin bağlı 3-MCPD

miktarında meydana gelen artış ve %2,5 NaCl yerine %5 NaCl çözeltisinde bekletme işlemi sonucu 3-MCPD esterlerinin miktarlarında meydana gelen düşüş istatistiki açıdan önemli bulunmuştur. 2000 mg/kg biberiye ekstraktı içeren örnekler dikakte alındığında ise, %2,5 NaCl çözeltisinde bekletilmiş örnekler hariç, örneklerin tümünde tespit edilen 3-MCPD ester miktarı 1 mg/kg'dan daha yüksektir. Bu durum farklı biberiye konsantrasyonlarının 3-MCPD oluşumunu teşvik edebildiğini göstermektedir.

İşlem öncesi NaCl çözeltisinde bekletilmemiş örneklerin 3-MCPD esterlerinin miktarları 0,81-1,08 mg/kg aralığında değişim göstermiş, en yüksek miktarlar 1000 ve 2000 mg/kg biberiye ilave edilmiş örneklerde belirlenmiştir. %1 (1,46 mg/kg) ve %5 NaCl (1,43 mg/kg) çözeltisinde bekletilmiş örnekler için ise maksimum 3-MCPD miktarı 2000 mg/kg biberiye ekstraktı ilave edilmiş örneklerde saptanmıştır. Yine aynı konsantrasyonda NaCl çözeltileri için minimum bağlı 3-MCPD miktarı bu kez 1000 mg/kg ilave edilmiş örneklerde bulunmuştur.

Çizelge 4.4. Patates yağında oluşan glisidil esterleri (mg/kg)

Tuz (%)	Biberiye konsantrasyonu (mg/kg)			
	0	500	1000	2000
0	0,29	0,33	0,24	0,22
1	0,15	0,25	0,31	0,30
2,5	0,18	0,18	0,21	0,21
5	0,21	0,26	0,41	0,26

Patates örneklerinden ekstrakte edilmiş yağların glisidil esterlerinin miktarları Çizelge 4.4.'te verildiği gibidir. Kızartma yağlarında görülen durum burada da geçerli olup, glisidil esterlerinin miktarları genel olarak 3-MCPD esterlerinden daha düşük bulunmuş, yalnızca %5 NaCl çözeltisinde bekletilmiş ve 1000 mg/kg biberiye ekstraktı içeren örneklerin glisidil esterlerinin miktarı 3-MCPD esterlerinden daha yüksek bulunmuştur. Test edilen diğer bütün konsantrasyonlarda 3-MCPD esterlerinin miktarı daha fazladır.

Kızartma yağlarının glisidil esterleriyle kıyaslandığında 3-MCPD'nin aksine, patates örneklerinde genel olarak daha az miktarda glisidil esterinin oluştuğu görülmüştür. Yalnızca saf suda bekletilmiş 500 mg/kg biberiye ekstraktı içeren

örnekler, %1 NaCl çözeltisinde bekletilmiş 2000 mg/kg biberiye ekstraktı içeren örnekler ve %5 NaCl çözeltisinde bekletilmiş 500 ve 1000 mg/kg biberiye ekstraktı içeren örneklerin glisidil esterlerinin miktarı patates yağında kızartma yağına göre daha yüksek bulunmuştur.

Biberiye içermeyen örneklerin glisidil esterlerinin miktarları 0,15-0,29 mg/kg aralığında değişmiştir. En yüksek miktar (0,29 mg/kg) saf suda bekletilmiş örneklerde, en düşük miktar (0,15 mg/kg) ise %1 NaCl çözeltisinde bekletilmiş örneklerde tespit edilmiştir. 500 mg/kg biberiye ekstraktı içeren örneklerde en düşük glisidil ester miktarı %2,5 NaCl çözeltisinde bekletilmiş örneklerde, en yüksek miktar ise işlem öncesinde saf suda bekletilmiş örneklerde tespit edilmiştir. 1000 mg/kg biberiye ekstraktı içeren örneklerde ise %5 NaCl çözeltisinde bekletme işleminin glisidil esterlerinin oluşumunu teşvik etme potansiyeli olduğu görülmüş ve test edilen tuz konsantrasyonları içerisinde en yüksek miktarda glisidil esterleri (0,41 mg/kg) kızartma işlemi öncesinde %5 NaCl çözeltisinde bekletilen örneklerde tespit edilmiştir. 2000 mg/kg biberiye ekstraktı içeren örneklerin glisidil esterlerinin miktarları 0,21-0,30 mg/kg aralığında değişmiş, ancak farklı tuz konsantrasyonlarının etkisi istatistiki açıdan önemsiz bulunmuştur.

Ancak saf suda bekletilmiş örnekler için 500 mg/kg biberiye ekstraktı ilavesinin, %1 NaCl çözeltisinde bekletilmiş örnekler için 1000 mg/kg biberiye ilavesinin, %2,5 NaCl çözeltisinde bekletilmiş örnekler için 1000 ve 2000 mg/kg biberiye ilavesinin, %5 NaCl çözeltisinde bekletilmiş örnekler için ise 1000 mg/kg biberiye ilavesinin glisidil esterlerinin oluşumunu teşvik edebildiği tespit edilmiştir.

#### **4.2. Tekrarlı Kızartma İşleminin 3-MCPD ve Glisidil Esterleri Üzerine Etkisi**

Tekrarlı kızartma işlemi sırasında 3-MCPD ve glisidil esterlerinin konsantrasyonlarında meydana gelen değişim Çizelge 4.5.'te verildiği gibidir.

Çizelge 4.5. Tekrarlı kızartma işlemi sırasında kızartma yağında bulunan 3-MCPD ve glisidil esterlerinin miktarında meydana gelen değişim

Kızartma süresi (saat)	Ayçiçek yağı/ Biberiye ilaveli ayçiçek yağı	3-MCPD esterleri	Glisidil esterleri
0	A	0,59 <sup>A,x</sup>	0,37 <sup>A,y</sup>
4	A	0,98 <sup>A,x</sup>	0,06 <sup>A,x</sup>
	B	0,64 <sup>a,x</sup>	0,11 <sup>a,x</sup>
8	A	0,80 <sup>A,x</sup>	0,27 <sup>CD,x</sup>
	B	0,65 <sup>a,x</sup>	0,12 <sup>a,x</sup>
12	A	1,01 <sup>A,x</sup>	0,31 <sup>DE,x</sup>
	B	0,79 <sup>a,x</sup>	0,07 <sup>a,x</sup>
16	A	0,53 <sup>A,x</sup>	0,06 <sup>A,x</sup>
	B	0,73 <sup>a,x</sup>	0,07 <sup>a,x</sup>
20	A	0,42 <sup>A,x</sup>	0,14 <sup>B,x</sup>
	B	0,17 <sup>a,x</sup>	0,12 <sup>a,x</sup>
24	A	0,82 <sup>A,x</sup>	0,20 <sup>BC,x</sup>
	B	0,56 <sup>a,x</sup>	0,07 <sup>a,x</sup>

Farklı simgeler kızartma süresinin biberiye içeren (a) ve içermeyen (A-E) örnekler için ortaya koyduğu farklar ile kızartma süresince biberiye içeren ve içermeyen örneklerin konsantrasyonları arasındaki farkları (x-y) simgelemektedir ( $p < 0,05$ )

Kızartma süresinin artmasıyla birlikte biberiye ekstraktı içeren kızartma yağlarının 3-MCPD ve glisidil ester miktarında istatistiki açıdan önemli bir artış saptanmamıştır. Ancak biberiye ekstraktı içermeyen kontrolün glisidil esterlerinin miktarı kızartma süresinde meydana gelen artışla birlikte istatistiki açıdan önemli düzeyde değişmiştir.

Kızartma yağında tespit edilen 3-MCPD esterlerinin miktarı, 24 saatin sonunda biberiye ekstraktı içermeyen örneklerde (0,82 mg/kg) kontrol ayçiçek yağına (0,59 mg/kg) göre artış, biberiye içeren örneklerde ise düşüş (0,56 mg/kg) göstermiştir. Zhou vd. (2014) yüksek sıcaklık derecelerinde uzun süreli ısıtma işlemleri uygulandığında (>2 saat) 3-MCPD esterlerinin dekompoze olduklarını belirtmişlerdir. Hammouda vd. (2017) ise rafine pirina yağı ve palm yağı ile 175°C'de 16 saat süreyle derin yağda kızartma işlemi uygulamışlar ve önemli düzeyde 3-MCPD ve glisidil ester oluşumunun gerçekleşmediğini bildirmişlerdir.

Kızartma işlemi süresince 3-MCPD esterlerinin miktarları biberiye ekstraktı içeren örneklerde 0,17-0,79 mg/kg aralığında, biberiye içermeyen örneklerde ise 0,42-1,01 mg/kg aralığında değişim göstermiştir. 4. 8. 12. 20. ve 24. kızartma işlemlerinin sonunda biberiye ekstraktı içeren örneklerin 3-MCPD esterlerinin miktarının, biberiye içermeyenlere göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Hem biberiye ekstraktı içeren hem de içermeyen örnekler arasında en yüksek bağlı 3-MCPD 12. kızartmanın sonunda elde edilmiştir.

Glisidil esterleri ise tekrarlı kızartma işlemleri süresince biberiye ekstraktı içeren örneklerde 0,07-0,12 mg/kg aralığında değişmiş, biberiye içermeyen örneklerde ise 0,06-0,31 mg/kg aralığında bulunmuştur. Tekrarlı kızartma işlemleri süresince hem 3-MCPD esterleri hem de glisidil esterleri için tespit edilen maksimum miktarlar biberiye ekstraktı içeren örneklerde daha düşük bulunmuş, biberiyenin tekrarlı kızartma sırasında bu bileşiklerin oluşumunu baskılama potansiyeli olduğu görülmüştür.

Kızartma işlemleri süresince en yüksek glisidil ester miktarı, 3-MCPD esterlerine benzer şekilde, 12 saatin sonunda biberiye ekstraktı içermeyen örneklerde saptanmıştır. Ayrıca 8. 12. 20. ve 24. saatin sonunda biberiye ekstraktı içeren örneklerin glisidil ester miktarı içermeyenlere göre daha düşük bulunmuştur.

Aniołowska ve Kita (2016) tarafından yapılan çalışmada palm yağında günde 8 saat olmak üzere toplamda 5 gün tekrarlı kızartma işlemi uygulanmış ve kızartma sıcaklık ve süresinin artmasıyla birlikte glisidil esterlerinin miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca glisidil esterlerindeki azalmanın yağın degradasyon derecesiyle doğrudan ilişkili olduğu belirtilmiştir. Wong vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada da 5 gün süren tekrarlı kızartma işlemleri süresince kızartma süresinin artmasıyla birlikte hem 3-MCPD hem de glisidil esterlerinin miktarlarının azaldığı saptanmıştır.

Çizelge 4.6. Tekrarlı kızartma işlemi sırasında patates yağında bulunan 3-MCPD ve glisidil esterlerinin miktarında meydana gelen değişim

Kızartma süresi (saat)	Ayçiçek yağı/ Biberiye ilaveli ayçiçek yağı	3-MCPD esterleri	Glisidil esterleri
0	A	0,59 <sup>A,x</sup>	0,37 <sup>BC,y</sup>
4	A	0,89 <sup>A,y</sup>	0,19 <sup>AB,x</sup>
	B	0,59 <sup>a,x</sup>	0,11 <sup>a,x</sup>
8	A	0,80 <sup>A,y</sup>	0,19 <sup>AB,x</sup>
	B	0,64 <sup>a,x</sup>	0,12 <sup>a,x</sup>
12	A	0,75 <sup>A,y</sup>	0,13 <sup>A,x</sup>
	B	0,56 <sup>a,x</sup>	0,07 <sup>a,x</sup>
16	A	0,94 <sup>A,y</sup>	0,07 <sup>A,x</sup>
	B	0,60 <sup>a,x</sup>	0,07 <sup>a,x</sup>
20	A	0,72 <sup>A,y</sup>	0,16 <sup>A,x</sup>
	B	0,53 <sup>a,x</sup>	0,12 <sup>a,x</sup>
24	A	0,83 <sup>A,y</sup>	0,45 <sup>C,x</sup>
	B	0,19 <sup>a,x</sup>	0,07 <sup>a,x</sup>

Farklı simgeler kızartma süresinin biberiye içeren (a-b) ve içermeyen (A-C) örnekler için ortaya koyduğu farklar ile kızartma süresince biberiye içeren ve içermeyen örneklerin konsantrasyonları arasındaki farkları (x-y) simgelemektedir ( $p < 0,05$ )

Patateslerden ekstrakte edilen yağ örneklerinde bulunan 3-MCPD ve glisidil esterlerinin miktarlarında meydana gelen değişim Çizelge 4.6.'da verilmektedir. 3-MCPD esterlerinin miktarının işlem süresince istatistiki açıdan önemli düzeyde değişmediği görülmüştür. Ancak tekrarlı kızartma işlemleri süresince analiz edilen tüm örneklerde 3-MCPD esterlerinin miktarı biberiye ekstraktı içeren örneklerde daha düşük bulunmuştur. Bu durum tekrarlı kızartma sırasında biberiye kullanımının 3-MCPD oluşumunu minimize edebildiğini göstermektedir. 3-MCPD esterlerinin miktarı kızartma işlemleri süresince biberiye ekstraktı içeren örneklerde 0,19-0,64 mg/kg aralığında, biberiye içermeyen örneklerde ise 0,56-0,94 mg/kg aralığında değişim göstermiştir. Kızartma yağlarında elde edilen sonuçlarla birlikte patates yağlarında da biberiye ilavesi tespit edilen maksimum miktarın azalmasını sağlamıştır. Biberiye ekstraktı içeren örnekler için en yüksek 3-MCPD miktarı (0,64 mg/kg) 8. saatin sonunda, biberiye içermeyen örnekler için (0,94 mg/kg) ise 16. saatin sonunda elde edilmiştir.

Patates yağlarında tespit edilen glisidil esterleri yalnızca 16. saatin sonunda kontrolle eşdeğer düzeyde bulunmuş, bunun haricinde biberiye ekstraktı içeren örneklerin glisidil esterlerinin daha düşük düzeyde olduğu tespit edilmiştir.



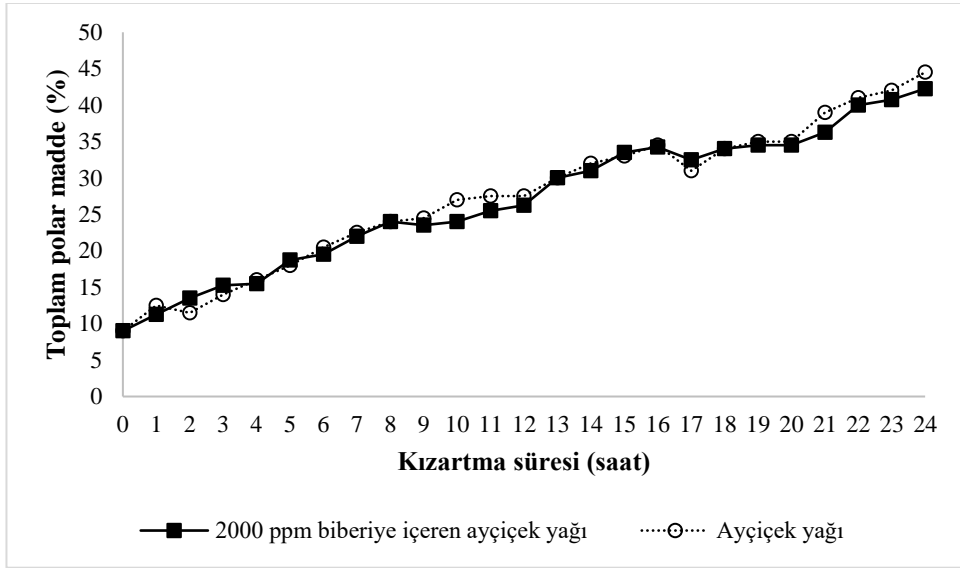
Arisseto vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada farklı gıdalarla gerçekleştirilen kızartma işlemi sırasında kızartma yağından ürüne geçen 3-MCPD esterlerinin miktarı araştırılmış ve kullanılan yağa bağlı olarak 3-MCPD esterlerinin kızartılan ürüne taşınabildiği bildirilmiştir. Patates yağlarının glisidil ester miktarları ayrıca 16. kızartmanın sonuna kadar hem kontrol hem de biberiye içeren örnekler için azalma göstermiştir. Benzer şekilde Wong vd. (2017) tavuk etinin 5 gün süreyle derin yağda kızartılması sırasında 3-MCPD ve glisidil esterlerinin oluşumu üzerine etkili faktörleri araştırmışlar ve kızartma süresinin artmasıyla birlikte 3-MCPD ve glisidil ester miktarının önemli düzeyde azaldığını rapor etmişlerdir.

### **4.3. Tekrarlı Kızartma İşleminin Kızartma Yağı Üzerine Etkisi**

#### **4.3.1. Tekrarlı Kızartma İşleminin Polar Madde Üzerine Etkisi**

Tekrarlı kızartma işlemi sırasında kızartma yağına ait toplam polar madde miktarında meydana gelen değişim Şekil 4.1.'de gösterilmektedir. Polar madde miktarı, kızartma işlemi sırasında polaritesi trigliseritlerden daha yüksek olan maddelerin oluşumunu belirten bir değerdir (Yaşdağ ve Tekin, 2017). Toplam polar madde kızartma yağının kullanılabilirliğini belirleyen bir unsur olup kızartmada kullanılan katı ve sıvı yağlar için üst limit Türk Gıda Kodeksinde %25 olarak belirlenmiştir. Kızartma işlemi süresince hem kontrol, hem de 2000 mg/kg biberiye içeren ayçiçek yağının toplam polar maddesinde artış meydana gelmiş; başlangıç yağında %10'un altında olan toplam polar madde miktarı 24 saatlik kızartma işlemi sonucunda yaklaşık %40 civarına ulaşmıştır. Xu vd. (1999) tarafından yapılan çalışmada 190°C'de 80 saatlik kızartma işleminin sonunda ayçiçek yağında toplam polar madde miktarının %44.6 olduğu bildirilmiş, Quiles vd. (2002) tarafından yapılan çalışmada ise ham ayçiçek yağında %4-6 aralığında bulunan toplam polar madde miktarı 60 dakikalık kızartma işlemi sonucunda %6-8 aralığına ulaşmıştır. Farhoosh ve Tavassoli-Kafrani (2010) 180°C'de 32 saatlik kızartma işleminin sonunda ayçiçek yağında toplam polar madde miktarının %25'i geçtiğini rapor etmişlerdir. Casal vd. (2010) ise ayçiçek yağı bazlı rafine bitkisel yağ karışımında başlangıçta %10-15 arasında olan toplam polar madde miktarının 15 saatlik kızartma işleminin sonunda %25-30 aralığına yükseldiğini ve çalışmada kullanılan diğer yağlara göre en yüksek polar madde oluşumunun bu yağda gözlemlendiğini tespit etmişlerdir. Urbančić vd. (2014) tarafından biberiye ilavesinin kızartma yağı stabilizasyonuna etkisinin araştırıldığı çalışmada biberiye ilavesi yapay antioksidanlara kıyasla toplam polar madde

oluşumunu daha yüksek oranda baskılayarak kızartma yağının stabilizasyonunda daha etkin rol oynadığı belirlenmiştir. Kontrol örneği 10 kızartmadan sonra toplam polar madde yönünden %25'lik yasal limite ulaşırken, biberiye ekstraktı içeren örnek 20 kızartmadan sonra bu değere ulaşmıştır. Kızartma işlemi sırasında oluşan polar maddelerin biberiye ekstraktı kullanılarak baskılanabildiği farklı çalışmalarda da (Réblová vd., 1999; Filip vd., 2011; Casarotti ve Jorge, 2012) belirtilmiştir.



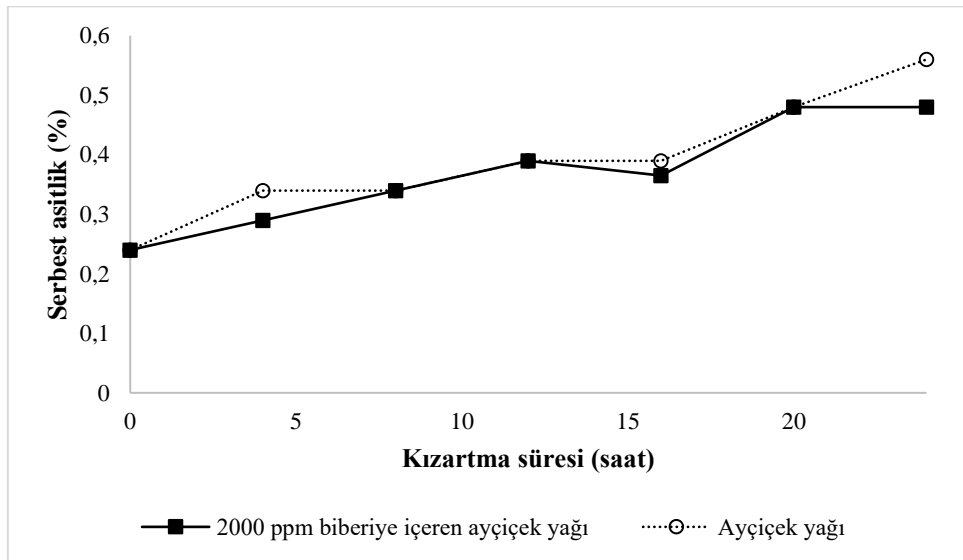
Şekil 4.1. Kızartma işlemi sırasında toplam polar madde miktarındaki değişim

#### 4.3.2. Tekrarlı Kızartma İşleminin Serbest Asitlik Üzerine Etkisi

Kızartma işlemi süresince yağların oleik asit cinsinden serbest asitliklerinde meydana gelen değişim Şekil 4.2.'de gösterildiği gibidir. Trigliseritlerde meydana gelen hidroliz kaynaklı bozulmanın göstergesi olan serbest yağ asidi miktarı kızartma başlangıcında %0,24 iken, işlem sonunda biberiye ekstraktı içeren ayçiçek yağı ve biberiye ekstraktı içermeyen örnekler için sırasıyla %0,48 ve %0,56 olarak saptanmıştır. Ayrıca biberiye ekstraktı kullanımının asitlik değerindeki artışı baskıladığı görülmüştür. Hem biberiye ekstraktı içeren örnekler hem de ayçiçek yağında maksimum serbest asit miktarı kızartma sonunda (24 saat) tespit edilmiştir. Urbančić vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada da biberiye ekstraktı kullanımının ayçiçek yağı ile gerçekleştirilen kızartma işlemi sırasında

serbest yağ asidi oluşumunu azalttığı bildirilmiştir. Çalışmada 20 kızartma işleminin sonucunda kontrolde %0,61 olan serbest yağ asidi miktarı, biberiye ekstraktı içeren yağ örneğinde %0,34 olarak tespit edilmiştir. Derin yağda kızartma işlemi sırasında biberiye ekstraktı kullanımının serbest yağ asidi oluşumunu azaltıcı rol oynadığı Man ve Jaswir (2000) ve Man ve Tan (1999) tarafından yapılan çalışmalarda da belirtilmiştir.

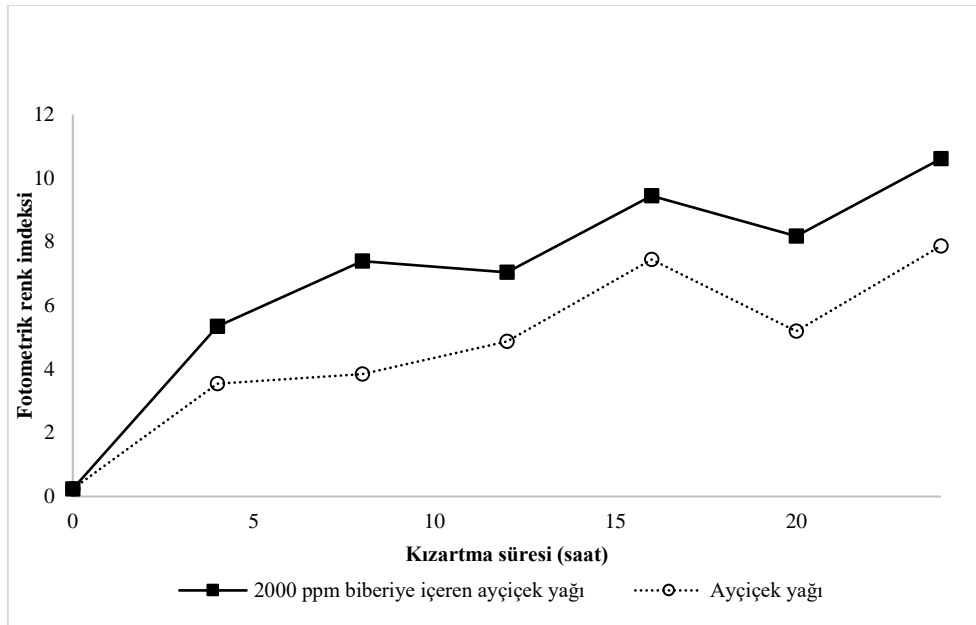
Yaşdağ ve Tekin (2017) tarafından yapılan çalışmada 180°C’de gerçekleşen kızartma başlangıcında %0,08-0,13 aralığında olan serbest yağ asidi miktarı 28 saatin sonunda pik noktasına ulaşmış ve yaklaşık %0,18 olarak tespit edilmiştir. 40 saatin sonunda ise %0,13 civarına düşmüştür. Kızartma sayısı arttıkça yağda serbest yağ asidi miktarının arttığı bilinmektedir (Chung vd., 2004). Stevenson vd. (1984) kızartma yağları için maksimum serbest yağ asidi miktarının %0,05-0,08 olması gerektiğini belirtmişlerdir. Cuesta vd. (1993) 75 kızartmanın ardından ayçiçek yağında tespit edilen serbest yağ asidi miktarının %0,48 olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca bu değer, 20 kızartmanın ardından %0,50; 30 kızartmanın ardından ise %0,59 olarak bulunmuştur. Casal vd. (2010) yaptıkları çalışmada 15 saat süren kızartma işlemi boyunca zeytinyağında asitliğin %0,1 civarında olduğunu belirtmişlerdir.



Şekil 4.2. Kızartma işlemi sırasında serbest asitlik miktarındaki değişim

#### 4.3.3. Tekrarlı Kızartma İşleminin Fotometrik Renk İndeksi Üzerine Etkisi

Kızartma işlemi süresince fotometrik renk indekslerindeki değişim Şekil 4.3.'de verildiği gibidir. Kızartma süresinin artmasıyla birlikte fotometrik renk indeksinde artış gözlenmiştir. Kızartma yağında renk oluşumu 2000 mg/kg biberiye ekstraktı içeren örneklerde kontrole göre daha yüksek oranda meydana gelmiştir. Paul ve Mittal (1996) kızartma süresinin artmasıyla birlikte fotometrik renk indeksinde artış meydana geldiğini; Baixauli vd. (2002) ise ayçiçek yağında 20. kızartmaya kadar fotometrik renk indeksinde önemli bir değişim meydana gelmediğini, ancak 20. kızartmadan sonra ise lineer bir artış ortaya çıktığını kaydetmişlerdir. Aynı çalışmada 40. kızartma sonunda fotometrik renk indeksi 15 düzeyine yaklaşmıştır.

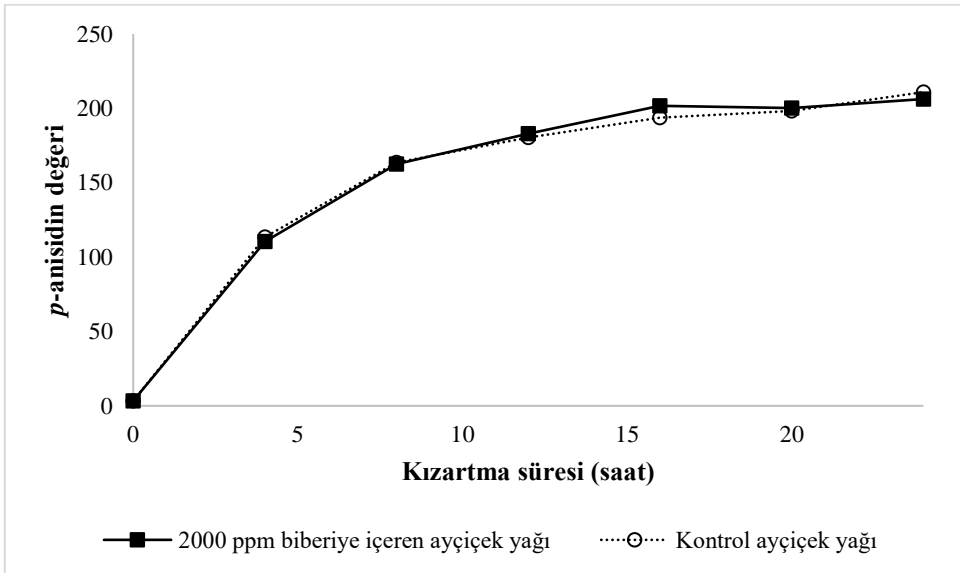


Şekil 4.3. Kızartma işlemi sırasında fotometrik renk indeksindeki değişim

#### 4.3.4. Tekrarlı Kızartma İşleminin *p*-anisidin Değeri Üzerine Etkisi

Kızartma süresince *p*-anisidin değerinde meydana gelen artış Şekil 4.4.'de gösterilmektedir. *p*-anisidin değeri birincil oksidasyon ürünleri olan hidroperoksitlerin aldehit türü bileşiklere dönüşümünü ifade etmektedir. Bu değerlerin artması aldehitlerin miktarının arttığını göstermektedir. Bu nedenle *p*-anisidin değeri yağlarda oksidasyon düzeyinin bir göstergesi olup, bozulma sonucu oluşan aldehitlerin miktarını belirtmektedir (Yaşdağ ve Tekin, 2017).

Kızartma süresinin artmasıyla birlikte artan *p*-anisidin değeri, işlem boyunca hem biberiye içeren kızartma yağlarında hem de ayçiçek yağında aldehitlerin miktarının arttığını göstermiştir. Kızartma işleminde kullanılmamış rafine ayçiçek yağının *p*-anisidin değeri 3,35 olarak bulunmuşken, bu değer 24 saatin sonunda biberiye içeren kızartma yağı ve kontrol için sırasıyla 206,26 ve 210,95 olarak bulunmuştur. Artan *p*-anisidin değeri ile kızartma işlemi süresince oksidasyonun devam ettiği ve biberiye ekstraktı içeren örneklerin 12, 16 ve 20. saatlerin sonunda, ayçiçek yağının ise 4, 8 ve 24. saatlerin sonunda daha ileri düzeyde termal oksidasyona maruz kaldığı belirlenmiştir. Benzer şekilde, Yaşdağ ve Tekin (2017) ayçiçek yağında 32 saatlik kızartma işleminin sonunda *p*-anisidin değerinin yaklaşık 200'e ulaştığını, 40 saatin sonunda ise 100-150 arasında bulunduğunu bildirmişlerdir. Katsuta vd. (2008) tarafından ise işlem görmemiş yüksek oleik asit içerikli ayçiçek yağında *p*-anisidin değerinin 3,4 olduğu tespit edilmiştir. Casal vd. (2010) tarafından yapılan çalışmada ise 15 saatlik kızartma işleminin sonunda ayçiçek yağının *p*-anisidin değeri 10'dan 167'ye ulaşmıştır. Man ve Jaswir (2000) palm yağı ile gerçekleştirilen 6 günlük kızartma işleminin sonunda biberiye içeren örneklerin *p*-anisidin değerinin kontrole göre daha düşük olduğunu belirtmişlerdir.



Şekil 4.4. Kızartma sırasında *p*-anisidin değerindeki değişim

### 4.3.5. Tekrarlı Kızartma İşleminin Yağ Asidi Kompozisyonu Üzerine Etkisi

Kızartma işlemi boyunca kızartma yağlarının yağ asidi bileşiminde meydana gelen değişimler Çizelge 4.7.'de gösterilmektedir. Yağ örneklerindeki temel yağ asitleri palmitik, palmitoleik, heptadekanoik, heptadesenoik, stearik, oleik, linoleik ve linolenik asittir. Ayrıca kızartma işlemi süresince hem biberiye içeren kızartma yağları hem de içermeyen yağda oleik asit miktarı artarken, linoleik asit miktarında istatistiki derecede önemli azalma kaydedilmiştir. Tüm örneklerde en yüksek miktarda bulunan yağ asidi olan linoleik asitin miktarı kızartma başlangıcında en yüksek değerde (%56,89) iken, hem kontrol (%51,17) hem de 2000 mg/kg biberiye ekstartkı içeren yağ örnekleri için en düşük değere (%51,54) kızartma sonunda ulaşmıştır. Palmitik asit miktarı ise hem biberiye içeren kızartma yağı hem de kontrolde işlem boyunca kademeli olarak artmış, 24 saatlik kızartmanın sonunda maksimum değerine ulaşmıştır. Ayçiçek yağında kızartma işlemi sırasında palmitik asit miktarında meydana gelen artış Quiles vd. (2002) tarafından da rapor edilmiştir. Kızartma sırasında ayrıca hem biberiye ekstraktı içeren örnekler hem de içermeyenlerde *trans* yağ asidi oluşumu tespit edilmemiştir.

Kızartma işlemi süresince biberiye içeren ayçiçek yağı ve kontrol örnekleri arasında yağ asidi kompozisyonu yönünden istatistiki açıdan genel olarak önemli bir fark saptanmamıştır. Yalnızca heptadesenoik asit miktarı 20 saatlik kızartma işleminin sonunda kontrol ve biberiye içeren ayçiçek yağı arasında istatistiki açıdan önemli bir değişim göstermiştir. Filip vd. (2011) tarafından yapılan çalışmada da *trans* yağ asitleri hariç, biberiye ekstraktı ilavesinin yağ asidi dağılımı üzerinde genel olarak büyük bir etkisi olmadığı belirtilmiştir.

Kızartma işlemi sırasında meydana gelen oleik asit miktarındaki artış ve linoleik asit miktarındaki azalma benzer şekilde Casal vd. (2010) tarafından da bildirilmiştir. Çalışmada kızartma işlemi öncesi miktarları sırasıyla %24,82 ve %62,78 olan oleik ve linoleik asit miktarlarının 170°C'de 15 saatlik kızartma işlemi sonunda %25,21 ve %61,31 olarak değiştiği belirtilmiştir. Juárez vd. (2011) tarafından da ayçiçek yağında kızartma işlemi esnasında palmitik ve oleik asit miktarlarının arttığı, linoleik asit miktarının ise azaldığı rapor edilmiştir. Romero vd. (2000) tarafından da 20 kızartma işlemi sonunda ayçiçek yağında palmitik ve oleik asit miktarlarının arttığı, linoleik asit miktarının azaldığı tespit edilmiştir.

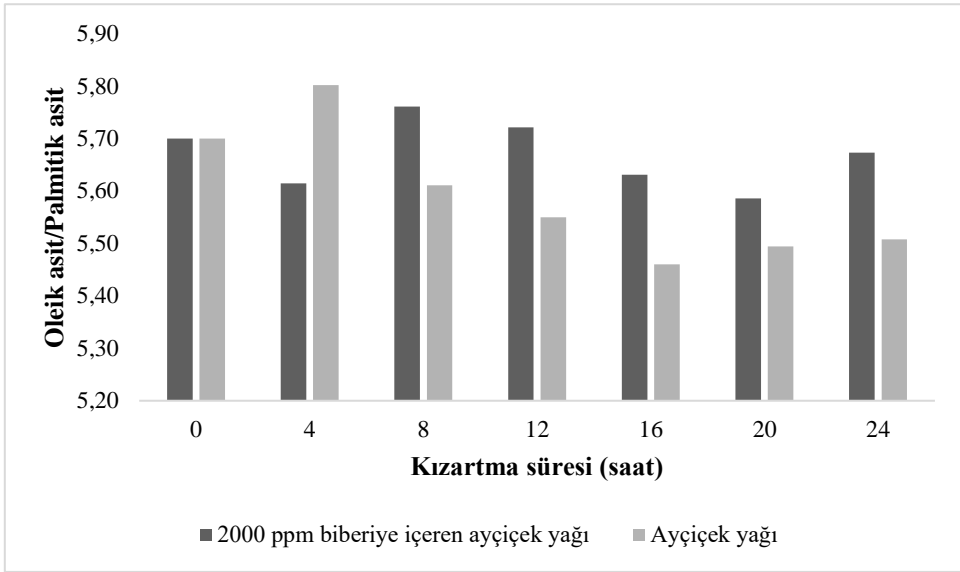
Tekrarlı kızartma işlemleri süresince oleik asitin palmitik asite oranının (18:1/16:0) ve oleik asitin linoleik asite oranının (18:2/16:0) kızartma süresince değişimi sırasıyla Şekil 4.5. ve Şekil 4.6.'da verildiği gibidir. 18:1/16:0 ve 18:2/16:0 oranı yağlarda bozulmayı ifade etmektedir. 18:1/16:0 oranı yalnızca 4. kızartmanın sonunda kontrolde daha yüksek olup, işlem süresince biberiye ekstraktı içeren örneklerde daha yüksek bulunmuştur. 18:2/16:0 oranı ise kızartma süresiyle birlikte hem ayçiçek yağında hem de biberiye ekstraktı içeren örneklerde azalma göstermiştir.

Çizelge 4.7. Tekrarlı kızartma işlemi süresince yağ asidi kompozisyonunda meydana gelen değişim

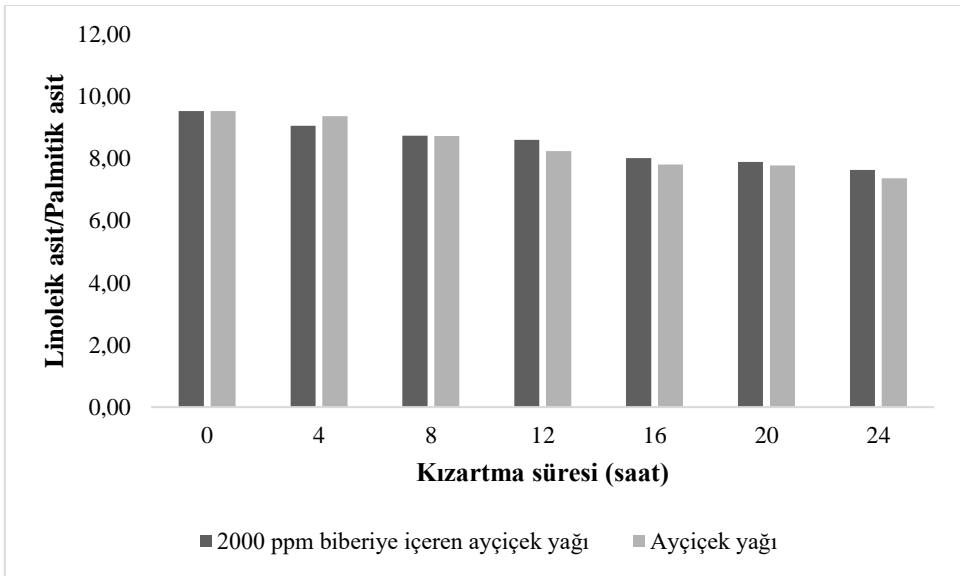
Kızartma süresi (saat)	Ayçiçek yağı/ Biberiye ilaveli ayçiçek yağı	C 16:0	C 16:1	C 17:0	C 17:1	C 18:0	C 18:1	C 18:2	C 18:3
		0	A	5,97 <sup>A,x</sup>	0,13 <sup>AB,x</sup>	0,01 <sup>A,x</sup>	0,01 <sup>A,x</sup>	2,91 <sup>B,x</sup>	34,03 <sup>A,x</sup>
	B	5,97 <sup>a,x</sup>	0,13 <sup>b,x</sup>	0,01 <sup>a,x</sup>	0,01 <sup>a,x</sup>	2,91 <sup>ab,x</sup>	34,03 <sup>a,x</sup>	56,89 <sup>e,y</sup>	0,05 <sup>a,x</sup>
4	A	6,01 <sup>A,y</sup>	0,08 <sup>A,x</sup>	0,01 <sup>A,x</sup>	0,01 <sup>A,x</sup>	2,85 <sup>AB,x</sup>	34,87 <sup>B,y</sup>	56,15 <sup>C,x</sup>	0,05 <sup>A,x</sup>
	B	6,18 <sup>b,y</sup>	0,14 <sup>bc,x</sup>	0,02 <sup>ab,x</sup>	0,01 <sup>a,x</sup>	3,00 <sup>ab,x</sup>	34,68 <sup>b,y</sup>	55,93 <sup>d,x</sup>	0,04 <sup>a,x</sup>
8	A	6,40 <sup>B,y</sup>	0,07 <sup>A,x</sup>	0,09 <sup>A,x</sup>	0,10 <sup>A,x</sup>	2,75 <sup>A,x</sup>	35,91 <sup>C,y</sup>	55,82 <sup>C,x</sup>	0,04 <sup>A,x</sup>
	B	6,27 <sup>b,y</sup>	0,08 <sup>ab,x</sup>	0,02 <sup>ab,x</sup>	0,01 <sup>A,x</sup>	2,82 <sup>a,x</sup>	36,08 <sup>c,y</sup>	54,69 <sup>c,x</sup>	0,04 <sup>a,x</sup>
12	A	6,53 <sup>BC,y</sup>	0,12 <sup>AB,x</sup>	0,03 <sup>A,x</sup>	0,02 <sup>A,x</sup>	3,25 <sup>C,x</sup>	36,24 <sup>C,y</sup>	53,79 <sup>B,x</sup>	0,04 <sup>A,x</sup>
	B	6,32 <sup>b,y</sup>	0,05 <sup>a,x</sup>	0,01 <sup>a,x</sup>	0,01 <sup>a,x</sup>	3,05 <sup>ab,x</sup>	36,17 <sup>c,y</sup>	54,35 <sup>c,x</sup>	0,04 <sup>a,x</sup>
16	A	6,76 <sup>CD,y</sup>	0,16 <sup>B,x</sup>	0,11 <sup>A,x</sup>	0,12 <sup>A,x</sup>	3,28 <sup>C,x</sup>	36,91 <sup>D,y</sup>	52,80 <sup>B,x</sup>	0,24 <sup>A,x</sup>
	B	6,60 <sup>c,y</sup>	0,11 <sup>bc,x</sup>	0,02 <sup>ab,x</sup>	0,01 <sup>a,x</sup>	3,22 <sup>ab,x</sup>	37,14 <sup>d,y</sup>	52,87 <sup>b,x</sup>	0,09 <sup>a,x</sup>
20	A	6,78 <sup>CD,y</sup>	0,12 <sup>AB,x</sup>	0,03 <sup>A,x</sup>	0,02 <sup>A,y</sup>	3,12 <sup>BC,x</sup>	37,25 <sup>D,y</sup>	52,68 <sup>B,x</sup>	0,03 <sup>A,x</sup>
	B	6,68 <sup>c,y</sup>	0,16 <sup>c,x</sup>	0,02 <sup>ab,x</sup>	0,01 <sup>a,x</sup>	2,83 <sup>a,x</sup>	37,31 <sup>d,y</sup>	52,71 <sup>b,x</sup>	0,03 <sup>a,x</sup>
24	A	6,95 <sup>D,y</sup>	0,18 <sup>B,x</sup>	0,02 <sup>A,x</sup>	0,01 <sup>A,x</sup>	3,35 <sup>C,x</sup>	38,28 <sup>C,y</sup>	51,17 <sup>A,x</sup>	0,04 <sup>A,x</sup>
	B	6,75 <sup>c,y</sup>	0,11 <sup>bc,x</sup>	0,02 <sup>b,x</sup>	0,01 <sup>a,x</sup>	3,25 <sup>b,x</sup>	38,28 <sup>e,y</sup>	51,54 <sup>a,x</sup>	0,03 <sup>a,x</sup>

Belirtilen farklı harfler (A-D ve a-e) A ve B örnekleri için önemli düzeyde fark olduğunu, x-y ise A ve B örnekleri arasında önemli düzeyde fark bulunduğunu göstermektedir ( $p<0,05$ )





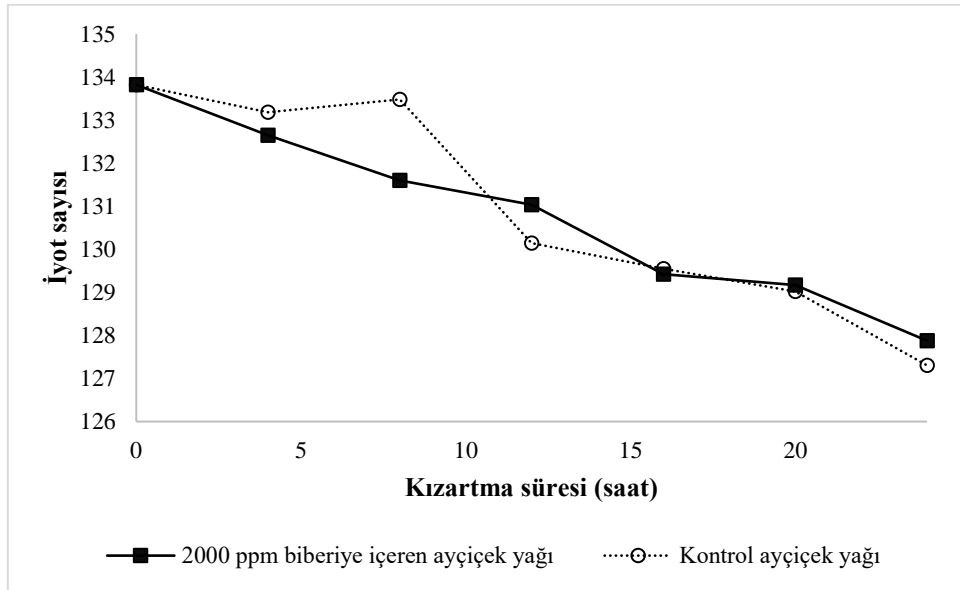
Şekil 4.5. Kızartma işlemi süresince oleik asit/palmitik asit oranındaki değişim



Şekil 4.6. Kızartma işlemi süresince linoleik asit/palmitik asit oranındaki değişim

#### 4.3.6. Tekrarlı Kızartma İşleminin İyot Sayısı Üzerine Etkisi

Kızartma işlemi süresince kızartma yağlarının iyot sayısında meydana gelen değişim Şekil 4.7.'de gösterilmiştir. Hem biberiye içeren yağda hem de kontrolde iyot sayısı zamana bağlı olarak azalma eğilimi göstermiştir. En düşük iyot sayısı hem biberiye içeren ayçiçek yağında (127,87) hem de kontrolde (127,30) 24 saatlik kızartma işleminin sonunda tespit edilmiştir. İyot sayısında meydana gelen düşüş, doymamış yağ asitlerinin miktarının azaldığını göstermektedir (Fillion ve Henry, 1998). Rehman vd. (2003) 185°C'de 50 saatlik ısıtma işleminin ardından ayçiçek yağında iyot sayısının 121'den 78'e düştüğünü göstermişlerdir. Ayçiçek yağında kızartma işlemi sırasında iyot sayısında meydana gelen düşüş literatürde farklı çalışmalarda da ortaya konulmuştur (Navas vd., 2007; Juárez vd., 2011). Biberiye ekstraktı ilavesinin iyot sayısındaki düşüşü önemli düzeyde engellemediği ve yağın kızartma sırasında degrade olduğu görülmüştür. Benzer şekilde Man ve Jaswir (2000) tarafından yapılan çalışmada kızartma işleminin 3. günü sonunda kontrol ve biberiye ekstraktı içeren palm yağlarının iyot sayıları arasında önemli bir fark tespit edilmediği ve kızartma yağlarında işlem sırasında oksidasyonun meydana geldiği bildirilmiştir.



Şekil 4.7. Kızartma işlemi sırasında iyot sayısındaki değişim

## 5. SONUÇ

Bu tez çalışmasının amacı doğal antioksidanlardan olan biberiye ekstraktının kızartma işlemi sırasında 3-MCPD ve glisidil esterlerinin oluşumu üzerine etkisinin incelenmesidir. Bu amaçla sokslet yöntemiyle elde edilmiş biberiye ekstraktı farklı konsantrasyonlarda (0, 500, 1000 ve 2000 mg/kg) kızartma yağına ilave edilmiş ve işlem süresince söz konusu bileşenlerin konsantrasyonları üzerine etkisi araştırılmıştır. Kızartma işlemi belirli sıcaklık (180°C) ve sürede (3 dk) gerçekleştirilmiş, işlem öncesinde kızartılacak patatesler farklı NaCl konsantrasyonlarına (%0; 1; 2,5 ve 5) sahip çözeltilerde bekletilmiştir. Çalışmanın sonraki aşamasında ise 2000 mg/kg düzeyinde biberiye ekstraktı kullanılarak örnekler 3 gün süreyle (günde 8 saat olmak üzere toplamda 24 saat) tekrarlı kızartmaya tabi tutulmuştur. Çalışma boyunca elde edilen kızartma yağları ve patateslerden ekstrakte edilen yağ örnekleri hem 3-MCPD hem de glisidil esterleri yönünden analiz edilmiş, tekrarlı kızartma işlemleri sırasında elde edilen kızartma yağları ise toplam polar madde, serbest yağ asitliği, *p*-anisidin değeri, fotometrik renk indeksi, yağ asidi kompozisyonu ve iyot sayısı yönünden incelenmiştir.

Çalışmanın ilk aşamasında kızartma işlemi öncesinde patates örneklerini farklı konsantrasyonlarda NaCl çözeltisinde bekletmenin ve kızartma yağına farklı konsantrasyonlarda biberiye ekstraktı ilavesinin 3-MCPD ve glisidil esterlerinin oluşumu üzerine istatistiki açıdan önemi olmadığı tespit edilmiştir. Ancak patateslerden ekstrakte edilen yağ örneklerinin 3-MCPD esterlerinin miktarı istatistiki açıdan önemli düzeyde değişim göstermiştir. Kızartma işlemi süresince glisidil esterlerinin miktarı ise işlem boyunca 3-MCPD esterlerinden daha düşük bulunmuştur. NaCl ve biberiye konsantrasyonlarındaki değişimlerle birlikte glisidil esterlerinin miktarlarında meydana gelen değişiklikler istatistiki açıdan önemli bulunmasa da, örnekleri kızartma öncesi %5 NaCl çözeltisinde bekletme işleminin glisidil esterlerinin oluşumunu teşvik edebildiği görülmüştür. (Ayrıca 3-MCPD esterlerinin miktarı patates yağlarında, glisidil esterlerinin miktarı ise kızartma yağlarında daha yüksek bulunmuştur).

Tekrarlı kızartma işlemleri sırasında kızartma yağında tespit edilen 3-MCPD esterlerinin miktarı, 24 saatin sonunda biberiye ekstraktı içermeyen örneklerde kontrole göre artış, biberiye içeren örneklerde ise düşüş göstermiştir. Tekrarlı kızartma işlemleri süresince kızartma yağlarında bulunan hem 3-MCPD esterleri hem de glisidil esterleri için tespit edilen maksimum miktarlar biberiye ekstraktı

içeren örneklerde daha düşük bulunmuş, biberiyenin tekrarlı kızartma sırasında bu bileşiklerin oluşumunu baskılayıcı potansiyeli olduğu görülmüştür.

Tekrarlı kızartma işlemleri sırasında, patateslerden ekstrakte edilen yağ örneklerinde bulunan 3-MCPD ve glisidil esterlerinin miktarları dikkate alındığında işlem süresince istatistikî açıdan önemli düzeyde değişim görülmemiştir. Ancak tekrarlı kızartma işlemleri süresince analiz edilen tüm örneklerde 3-MCPD esterlerinin miktarı biberiye ekstraktı içeren örneklerde daha düşük bulunmuştur. Bu durum tekrarlı kızartma sırasında biberiye kullanımının 3-MCPD oluşumunu baskılayabildiğini göstermiştir.

Biberiye ekstraktı kullanımı ile ayrıca, tekrarlı kızartma işlemleri sırasında 24 saatin sonunda kontrol ayçiçek yağına göre daha düşük serbest asit miktarı, daha düşük *p*-anisidin değeri ve daha yüksek iyot sayısı tespit edilmiştir. Dolayısıyla biberiye ekstraktı kullanımı kızartma sırasında oksidatif stabilitenin sağlanmasına katkı sağlamıştır.

## KAYNAKLAR

- Abraham, K., Appel, K.E., Berger-Preiss, E., Apel, E., Gerling, S., Mielke, H., Creutzenberg O, Lampen, A. 2013. Relative oral bioavailability of 3-MCPD from 3-MCPD fatty acid esters in rats. **Archives of Toxicology**, 87: 649-659.
- Aniołowska, M., Kita, A. 2015. The effect of type of oil and degree of degradation on glycidyl esters content during the frying of french fries, **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 92: 1621-1631.
- Aniołowska, M., Kita, A. 2016. The effect of frying on glycidyl esters content in palm oil. **Food Chemistry**, 203: 95-103.
- Anonim, 1987. International Union of Pure and Applied Chemistry. Standard Methods for Analysis of Oils, Fats and Derivates, 7th Edn, IUPAC Method 2.301, Blackwell Scientific Publications, Palo Alto, California., USA.
- Anonim, 2003. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, Champaign,IL
- Anonim, 2009. German Standard Methods for the Analysis of Fats and other Lipids: C-VI 18 (10) A & B, Ester-bound 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPDEsters) and glycidol (glycidyl esters): Determination in fats and oils by GC-MS, WVG.
- Appel, K.E., Abraham, K., Berger-Preiss, E., Hansen, T., Apel, E., Schuchardt, S., Vogt, K., Bakhiya, N., Creutzenberg, O., Lampen, A. 2013. Relative oral bioavailability of glycidol from glycidyl fatty acid esters in rats. **Archives of Toxicology**, 87: 1649-1659.
- Arisseto, A.P., Marcolino, P.F.C., Augusti, A.C., Scaranelo, G.R., Berbari, S.A.G., Miguel, A.M.R.O., Morgano, M.A., Vicente, E. 2017. Contamination of fried foods by 3-Monochloropropane-1,2-diol fatty acid esters during frying. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 94: 449-455.
- Baixauli, R., Salvador, A., Fiszman, S. M., Calvo, C. 2002. Effect of oil degradation during frying on the color of fried, battered squid rings. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 79: 1127-1131.
- Bakhiya, N., Abraham, K., Gürtler, R., Appel, K.E., Lampen, A. 2011. Toxicological assessment of 3-chloropropane-1, 2-diol and glycidol fatty acid esters in food. **Molecular Nutrition and Food Research**, 55: 509-521.
- Becalski, A., Feng, S., Lau, B. P., Zhao, T. 2015. A pilot survey of 2-and 3-monochloropropanediol and glycidol fatty acid esters in foods on the Canadian market 2011–2013. **Journal of Food Composition and Analysis**, 37: 58-66.

- Branen, A. L. 1975. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxy-anisole and butylated hydroxytoluene. **Journal of American Oil Chemists' Society**, 52: 59-63.
- Breitling-Utzmann, C.M., Köbler, H., Herbolzheimer, D., Maier, A. 2003. 3-MCPD: Occurrence in bread crust and various food groups as well as formation in toast. **Deutsche Lebensmittel-Rundschau**, 9: 280-285.
- Buhrke, T., Weißhaar, R., Lampen, A. 2011. Absorption and metabolism of the food contaminant 3-chloro-1, 2-propanediol (3-MCPD) and its fatty acid esters by human intestinal Caco-2 cells. **Archives of Toxicology**, 85: 1201-1208.
- Casal, S., Malheiro, R., Sendas, A., Oliveira, B. P., Pereira, J. A. 2010. Olive oil stability under deep-frying conditions. **Food and Chemical Toxicology**, 48: 2972-2979.
- Casarotti, S. N., Jorge, N. 2012. Antioxidant activity of rosemary extract in soybean oil under thermoxidation. **Journal of Food Processing and Preservation**, 38:, 136-145.
- Cerbulis, J., Parks, O.W., Liu, R.H., Piotrowski, E.G., Farrell, H.M. 1984. Occurrence of diesters of 3-chloro-1, 2-propanediol in the neutral lipid fraction of goats' milk. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 32: 474-476.
- Chammem, N., Saoudi, S., Sifaoui, I., Sifi, S., De Person, M., Abderraba, M., Moussa, F., Hamdi, M. 2015. Improvement of vegetable oils quality in frying conditions by adding rosemary extract. **Industrial Crops and Products**, 74: 592-599.
- Chen, Q., Shi, H., Ho, C. T. 1992. Effects of rosemary extracts and major constituents on lipid oxidation and soybean lipoxygenase activity. **Journal of American Oil Chemists' Society**, 69: 999-1002.
- Chen, Y., Yang, Y., Nie, S., Yang, X., Wang, Y., Yang, M., Li, C., Xie, M. 2014. The analysis of trans fatty acid profiles in deep frying palm oil and chicken fillets with an improved gas chromatography method. **Food Control**, 44: 191-197.
- Cheng, W., Liu, G., Liu, X. 2016. Formation of glycidyl fatty acid esters both in real edible oils during laboratory-scale refining and in chemical model during high temperature exposure. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 64: 5919-5927.
- Cho, W.S., Han, B.S., Nam, K.T., Park, K., Choi, M., Kim, S.H., Jeong, J., Jang, D.D. 2008. Carcinogenicity study of 3-monochloropropane-1, 2-diol in Sprague–Dawley rats. **Food and Chemical Toxicology**, 46: 3172-3177.

- Choe, E., Min, D.B. 2007. Chemistry of deep-fat frying oils. **Journal of Food Science**, 72: 77-86.
- Chung, J., Lee, J., Choe, E. 2004. Oxidative stability of soybean and sesame oil mixture during frying of flour dough. **Journal of Food Science**, 69: 574-578.
- Craft, B.D., Nagy, K., Sandoz, L., Destailats, F. 2012. Factors impacting the formation of monochloropropanediol (MCPD) fatty acid diesters during palm (*Elaeis guineensis*) oil production. **Food Additives and Contaminants: Part A**, 29: 354-361.
- Crews, C., Brereton, P., Davies, A. 2001. The effects of domestic cooking on the levels of 3-monochloropropanediol in foods. **Food Additives and Contaminants: Part A**, 18: 271-280.
- Crews, C., Hough, P., Brereton, P., Harvey, D., Macarthur, R., Matthews, W. 2002. Survey of 3-monochloropropane-1, 2-diol (3-MCPD) in selected food groups, 1999-2000. **Food Additives and Contaminants: Part A**, 19: 22-27.
- Crews, C., Chiodini, A., Granvogl, M., Hamlet, C., Hrnčirík, K., Kuhlmann, J., Lampen, A., Scholz, G., Weisshaar, R., Wenzl, T., Jasti, P.R. 2013. Analytical approaches for MCPD esters and glycidyl esters in food and biological samples: a review and future perspectives. **Food Additives and Contaminants: Part A**, 30: 11-45.
- Cuesta, C., Sánchez-Muniz, F. J., Garrido-Polonio, C., López-Varela, S., Arroyo, R. 1993. Thermoxidative and hydrolytic changes in sunflower oil used in fryings with a fast turnover of fresh oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 70: 1069-1073.
- Cuvelier, M. E., Berset, C., Richard, H. 1994. Antioxidant constituents in sage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 42: 665-669.
- Davidek, J., Velišek, J., Kubelka, V., Janíček, G., Šimicová, Z. 1980. Glycerol chlorohydrins and their esters as products of the hydrolysis of tripalmitin, tristearin and triolein with hydrochloric acid. **Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und Forschung**, 171: 14-17.
- DGF 2009. German Standard Methods for the Analysis of Fats and other Lipids: C-VI 18 (09) A & B, Ester-bound 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPDEsters) and glycidol (glycidyl esters): Determination in fats and oils by GC-MS, WVG.
- DGF 2009. German Standard Methods for the Analysis of Fats and other Lipids: C-VI 18 (10) A & B, Ester-bound 3-chloropropane-1,2-diol (3-

MCPDEsters) and glycidol (glycidyl esters): Determination in fats and oils by GC-MS, WVG.

- Dingel, A., 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: 719-723.
- Divinová, V., Svejtkovska, B., Dolezal, M., Velisek, J. 2004. Determination of free and bound 3-chloropropane-1, 2-diol by gas chromatography with mass spectrometric detection using deuterated 3-chloropropane-1, 2-diol as internal standard. **Czech Journal of Food Sciences**, 22: 182-189.
- Divinová, V., Dolezal, M., Velisek, J. 2007. Free and bound 3-chloropropane-1, 2-diol in coffee surrogates and malts. **Czech Journal of Food Sciences**, 25: 39.
- Doležal, M., Chaloupská, M., Divinová, V., Svejtkovská, B., Velišek, J. 2005. Occurrence of 3-chloropropane-1, 2-diol and its esters in coffee. **European Food Research and Technology**, 221: 221-225.
- Dubois, M., Tarres, A., Goldmann, T., Empl, A.M., Donaubaauer, A., Seefelder, W. 2012. Comparison of indirect and direct quantification of esters of monochloropropanediol in vegetable oil. **Journal of Chromatography A**, 1236: 189-201.
- Ermacora, A., Hrnčířík, K. 2012. Evaluation of an improved indirect method for the analysis of 3-MCPD esters based on acid transesterification. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 9: 211-217.
- Ermacora, A., Hrnčířík, K. 2014. Development of an analytical method for the simultaneous analysis of MCPD esters and glycidyl esters in oil-based foodstuffs. **Food Additives and Contaminants: Part A**, 31: 985-994.
- Ermacora, A., Hrnčířík, K. 2013. A novel method for simultaneous monitoring of 2-MCPD, 3-MCPD and glycidyl esters in oils and fats. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 90: 1-8.
- Ermacora, A., Hrnčířík, K. 2015. Indirect detection techniques for MCPD esters and glycidyl esters. In: *Processing Contaminants in Edible Oils: MCPD and Glycidyl Esters* (S. MacMahon), AOCS Press, pp. 57-91, USA.
- Farhoosh, R., Tavassoli-Kafrani, M. H. 2010. Polar compounds distribution of sunflower oil as affected by unsaponifiable matters of Bene hull oil (BHO) and tertiary-butylhydroquinone (TBHQ) during deep-frying. **Food Chemistry**, 122: 381-385.



- Farkas, B.E., Singh, R.P., Rumsey, T.R. 1995. Modeling heat and mass transfer in immersion frying. I, model development. **Journal of Food Engineering**, 29: 211-226.
- Filip, S., Hribar, J., Vidrih, R. 2011. Influence of natural antioxidants on the formation of trans-fatty acid isomers during heat treatment of sunflower oil. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 113: 224-230.
- Fillion, L., Henry, C. J. K. 1998. Nutrient losses and gains during frying: a review. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, 49: 157-168.
- Frankel, E. N. 2005. Lipid oxidation. The Oily Press, 488 pages, Bridgewater, England.
- Frankel, E. N., Huang, S. W., Aeschbach, R., Prior, E. 1996. Antioxidant activity of a rosemary extract and its constituents, carnosic acid, carnosol, and rosmarinic acid, in bulk oil and oil-in-water emulsion. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 44: 131-135.
- Frega, N., Mozzon, M., Lecker, G. 1999. Effects of free fatty acids on oxidative stability of vegetable oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 76: 325-9.
- Gardner, A.M., Yurawecz, M.P., Cunningham, W.C., Diachenko, G.W., Mazzola, E.P., Brumley, W.C. 1983. Isolation and identification of C16 and C18 fatty acid esters of chloropropanediol in adulterated Spanish cooking oils. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 31: 625-630.
- Haines, T.D., Adlaf, K.J., Pierceall, R.M., Lee, I., Venkitasubramanian, P, Collison, M.W. 2011. Direct determination of MCPD fatty acid esters and glycidyl fatty acid esters in vegetable oils by LC-TOF-MS. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 88: 1-14.
- Hamlet, C.G., Sadd, P.A. 2004. Chloropropanols and their esters in cereal products. **Czech Journal of Food Sciences**, 22: 259-262.
- Hamlet, C.G. Sadd, P.A., Gray, D.A. 2004. Generation of monochloropropanediols (MCPDs) in model dough systems. 2. unleavened doughs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 52: 2067-2072.
- Hamlet, C.G., Sadd, P.A. 2005. Effects of yeast stress and pH on 3-monochloropropanediol (3-MCPD)-producing reactions in model dough systems. **Food Additives and Contaminants: Part A**, 22: 616-623.
- Hammouda, I. B., Zribi, A., Mansour, A. B., Matthäus, B., Bouaziz, M. 2017. Effect of deep-frying on 3-MCPD esters and glycidyl esters contents and

- quality control of refined olive pomace oil blended with refined palm oil. **European Journal of Food Research and Technology**, 243: 1219-1227.
- Hori, K., Matsubara, A., Uchikata, T., Tsumura, K., Fukusaki, E., Bamba, T. 2012a. High-throughput and sensitive analysis of 3-monochloropropane-1, 2-diol fatty acid esters in edible oils by supercritical fluid chromatography/tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, 1250: 99-104.
- Hori, K., Koriyama, N., Omori, H., Kuriyama, M., Arishima, T., Tsumura K. 2012b. Simultaneous determination of 3-MCPD fatty acid esters and glycidol fatty acid esters in edible oils using liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry. **LWT-Food Science and Technology**, 48: 204-208.
- Hraš, A.R., Hadolin, M., Knez, Z., Bauman, D. 2000. Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with  $\alpha$ -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. **Food Chemistry**, 71: 229-233.
- Hrnčirik, K., Zelinkova, Z., Ermacora, A. 2011. Critical factors of indirect determination of 3-chloropropane-1, 2-diol esters. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 113: 361-367.
- IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans 2013. Some chemicals present in industrial and consumer products, food and drinking-water. Iarc Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans 101, 9.
- Jędrkiewicz, R., Głowacz, A., Gromadzka, J., Namieśnik, J. 2016a. 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.
- Jędrkiewicz, R., Głowacz-Różyńska, A., Gromadzka, J., Kloskowski, A., Namieśnik, J. 2016b. 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: 3460-3469.
- Jira, W. 2010. 3-Monochloropropan-1, 2-diol (3-MCPD) in geräucherten Fleischerzeugnissen. **Mitteilungsblatt Fleischforschung**, 49: 89-96.
- Juárez, M. D., Osawa, C. C., Acuña, M. E., Sammán, N., Gonçalves, L. A. G. 2011. Degradation in soybean oil, sunflower oil and partially hydrogenated fats after food frying, monitored by conventional and unconventional methods. **Food Control**, 22: 1920-1927.

- Kahl, R., Kappus, H. 1993. Antioxidantien BHA and BHT im Vergleich mit dem natürlichen Antioxidans Vitamin E. **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung**, 196: 329-338.
- Karsulinova, L., Folprechtová, B., Dolezal, M., Dostálová, J., Velisek, J. 2007. Analysis of the lipid fractions of coffee creamers, cream aerosols, and bouillon cubes for their health risk associated constituents. **Czech Journal of Food Sciences**, 25: 257.
- Katsuta, I., Shimizu, M., Yamaguchi, T., Nakajima, Y. 2008. Emission of volatile aldehydes from DAG-rich and TAG-rich oils with different degrees of unsaturation during deep-frying. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 85: 513-519.
- Kim, I.H., Kim, C.J., Kim, D.H. 1999. Physicochemical properties of methyl linoleate oxidized at various temperatures. **Korean Journal of Food Science and Technology**, 31: 600-5.
- Kirton, K.T., Ericsson, R.J., Ray, J.A., Forbes, A.D. 1970. Male antifertility compounds: efficacy of U-5897 in primates (*Macacamulatta*). **Journal of Reproduction and Fertility**, 21: 275-278.
- Karl, H., Merkle, S., Kuhlmann, J., Fritsche, J. 2016. Development of analytical methods for the determination of free and ester bound 2-, 3-MCPD, and esterified glycidol in fishery products. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 118: 406-417.
- Koyama, K., Miyazaki, K., Abe, K., Ikuta, K., Egawa, Y., Kitta, T., Kido, H., Sano, T., Takahashi, Y., Nezu, T., Nohara, H., Miyashita, T., Yada, H., Yamazaki, K., Watanabe, Y. 2015. Optimization of an indirect enzymatic method for the simultaneous analysis of 3-MCPD, 2-MCPD, and glycidyl esters in edible oils. **Journal of Oleo Science**, 64: 1057-1064.
- Koyama, K., Miyazaki, K., Abe, K., Egawa, Y., Kido, H., Kitta, T., Miyashita, T., Nezu, T., Nohara, T., Sano, T., Takahashi, Y., Taniguchi, T., Yada, H., Yamazaki, K., Watanabe Y. 2016. Collaborative study of an indirect enzymatic method for the simultaneous analysis of 3-MCPD, 2-MCPD, and glycidyl esters in edible oils. **Journal of Oleo Science**, 65: 557-568.
- Kuhlmann J. 2011. Determination of bound 2, 3-epoxy-1-propanol (glycidol) and bound monochloropropanediol (MCPD) in refined oils. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 113: 335-344.
- Kuksis, A., Marai, L., Myher, J.J., Cerbulis, J., Farrell, H.M. 1986. Comparative study of the molecular species of chloropropanediol diesters and triacylglycerols in milk fat. **Lipids**, 21: 183-190.

- Kuntzer, J., Weißhaar, R. 2006. The smoking process:- A potent source of 3-chloropropane-1, 2-diol (3-MCPD) in meat products. **Deutsche Lebensmittel Rundschau**, 102: 397-400.
- Lalas, S., Dourtoglou, V. 2003. Use of rosemary extract in preventing oxidation during deep-fat frying of potato chips. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 80: 579-583.
- Lascaray L. 1949. Mechanism of fat splitting. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, 41: 786-90.
- Lee, B.Q., Khor, S.M. 2015. 3-Chloropropane-1, 2-diol (3-MCPD) in soy sauce: A review on the formation, reduction, and detection of this potential carcinogen. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 14: 48-66.
- León, N., Yusà, V., Pardo, O., Pastor, A. 2008. Determination of 3-MCPD by GC-MS/MS with PTV-LV injector used for a survey of Spanish foodstuffs. **Talanta**, 75: 824-831.
- Li, C., Jia, H., Shen, M., Wang, Y., Nie, S., Chen, Y., Zhou, Y., Wang, Y., Xie, M. 2015a. Antioxidants inhibit formation of 3-monochloropropane-1, 2-diol esters in model reactions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 63: 9850-9854.
- Li, H., Chen, D., Miao, H., Zhao, Y., Shen, J., Wu, Y., 2015b. Direct determination of fatty acid esters of 3-chloro-1, 2-propanediol in edible vegetable oils by isotope dilution-ultra high performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, 1410: 99-109.
- Lynch, B.S., Bryant, D.W., Hook, G.J., Nestmann, E.R., Munro, I.C. 1998. Carcinogenicity of monochloro-1, 2-propanediol ( $\alpha$ -chlorohydrin, 3-MCPD). **International Journal of Toxicology**, 17: 47-76.
- MacMahon, S., Mazzola, E., Begley, T.H., Diachenko, G.W. 2013a. Analysis of processing contaminants in edible oils. Part 1. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the direct detection of 3-monochloropropanediol monoesters and glycidyl esters. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 61: 4737-4747.
- MacMahon, S., Begley, T.H., Diachenko, G.W. 2013b. Analysis of processing contaminants in edible oils. Part 2. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the direct detection of 3-monochloropropanediol and 2-monochloropropanediol diesters. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 61: 4748-4757.

- Man, Y.B.C, Jaswir, I. 2000. Effect of rosemary and sage extracts on frying performance of refined, bleached and deodorized (RBD) palm olein during deep-fat frying, **Food Chemistry**, 69: 301-307.
- Man, Y.B., Tan, C.P. 1999. Effects of natural and synthetic antioxidants on changes in refined, bleached, and deodorized palm olein during deep-fat frying of potato chips, **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 76: 331–340.
- Matthäus, B., Pudel, F., Fehling, P., Vosmann, K., Freudenstein, A. 2011. Strategies for the reduction of 3-MCPD esters and related compounds in vegetable oils. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 113: 380-386.
- Matthäus, B., Pudel, F. 2013. Mitigation of 3-MCPD and glycidyl esters within the production chain of vegetable oils especially palm oil. **Lipid Technology**, 25: 151-155.
- Matthäus B, Pudel F. 2014. Mitigation of MCPD and glycidyl esters in edible oils. In: Processing Contaminants in Edible Oils: MCPD and Glycidyl Esters (S. MacMahon), AOCS Press, pp. 23-57, USA.
- Mellema, M. 2003. Mechanism and reduction of fat uptake in deep-fat fried foods. **Trends in Food Science & Technology**, 14: 364–373.
- Miyazaki, K., Koyama, K., Sasako, H., Hirao, T. 2012. Indirect method for simultaneous determinations of 3-chloro-1, 2-propanediol fatty acid esters and glycidyl fatty acid esters. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 89: 1403-1407.
- Miyazaki, K., Koyama, K. 2016. Application of Indirect Enzymatic Method for Determinations of 2-/3-MCPD-Es and Gly-Es in Foods Containing fats and Oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 93: 885-893.
- Myher, J.J., Kuksis, A., Marai, L., Cerbulis J. 1986. Stereospecific analysis of fatty acid esters of chloropropanediol isolated from fresh goat milk. **Lipids**, 21: 309-314.
- Nagy, K., Sandoz, L., Craft, B.D., Destailats, F. 2011. Mass-defect filtering of isotope signatures to reveal the source of chlorinated palm oil contaminants. **Food Additives and Contaminants: Part A**, 28: 1492-1500.
- Navas, J. A., Tres, A., Codony, R., Guardiola, F. 2007. Optimization of analytical methods for the assessment of the quality of fats and oils used in continuous deep fat frying. **Grasas y Aceites**, 58: 154-162.
- Nawar, W. W. 2000. Lipids. In: Food Chemistry (Owen, R), pp. 225–319, New York.

- Ooi, C.K., Choo, Y.M., Yap, C.M., Ma, A.N. 1996. Refining of red palm oil. The **International Journal of Oil Palm Research and Development**.
- Paul, S., Mittal, G. S. 1997. Regulating the use of degraded oil/fat in deep-fat/oil food frying. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 37: 635–662.
- Paul, S., Mittal, G. S. 1996. Dynamics of fat/oil degradation during frying based on optical properties. **Journal of Food Engineering**, 30: 389-403.
- Pokorný, J., Trojáková, L., Takácsová, M. 2003. The use of natural antioxidants in food products of plant origin. In: Antioxidants in food: Practical applications (Pokorný, J., Yanishlieva, N., Gordon, M.) Woodhead Publishing Ltd. pp. 355-372, Cambridge, England.
- Pudel, F., Benecke, P., Fehling, P., Freudenstein, A., Matthäus, B., Schwaf, A. 2011. On the necessity of edible oil refining and possible sources of 3-MCPD and glycidyl esters. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 113: 368-373.
- Pudel, F., Benecke, P., Vosmann, K., Matthäus, B. 2016. 3-MCPD-and glycidyl esters can be mitigated in vegetable oils by use of short path distillation. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 118: 396-405.
- Quiles, J. L., Ramírez-Tortosa, M. C., Gómez, J. A., Huertas, J. R., Mataix, J. 2002. Role of vitamin E and phenolic compounds in the antioxidant capacity, measured by ESR, of virgin olive, olive and sunflower oils after frying. **Food Chemistry**, 76: 461-468.
- Rahn, A.K.K., Yaylayan, V.A. 2011. What do we know about the molecular mechanism of 3-MCPD ester formation?. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 113: 323-329.
- Réblová, Z., Kudrnová, J., Trojáková, L., Pokornya, J.A.N. 1999. Effect of rosemary extracts on the stabilization of frying oil during deep fat frying. **Journal of Food Lipids**, 6: 13-23.
- Rehman, Z.U., Salariya, A.M., Habib, F. 2003. Antioxidant activity of ginger extract in sunflower oil. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 83: 624-629.
- Romero, A., Cuesta, C., Sánchez-Muniz, F. J. 2000. Trans fatty acid production in deep fat frying of frozen foods with different oils and frying modalities. **Nutrition Research**, 20: 599-608.

- Romero, A., Cuesta, C., Sanchez-Muniz, F.J. 1998. Effect of oil replenishment during deep-fat frying of frozen foods in sunflower oil and high-oleic acid sunflower oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 75: 161–7.
- Sadowska-Rociak, A., Cieşlik, E., Sieja, K. 2016. Simultaneous sample preparation method for determination of 3-monochloropropane-1, 2-diol and polycyclic aromatic hydrocarbons in different foodstuffs. **Food Analytical Methods**, 9:, 2906-2916.
- Saguy, I.S., Dana, D. 2003. Integrated approach to deep fat frying: engineering, nutrition, health and consumer aspects. **Journal of Food Engineering**, 56: 143-152.
- Schwarz, K., Ternes, W. 1992. Antioxidative constituents of *rosmarinus officinalis* and *salvia officinalis*. **Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und Forschung**, 195: 95-98.
- Samaras, V.G., Giri, A., Zelinkova, Z., Karasek, L., Buttinger, G., Wenzl T. 2016. Analytical method for the trace determination of esterified 3-and 2-monochloropropanediol and glycidyl fatty acid esters in various food matrices. **Journal of Chromatography A**, 1466: 136-147.
- Sato, H., Kaze, N., Yamamoto, H., Watanabe, Y. 2013. 2-Monochloro-1, 3-propanediol (2-MCPD) dynamics in DGF standard methods and quantification of 2-MCPD. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 90: 1121-1130.
- Schilter, B., Scholz, G., Seefelder, W. 2011. Fatty acid esters of chloropropanols and related compounds in food: Toxicological aspects. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 113: 309-313.
- Seefelder, W., Varga, N., Studer, A., Williamson, G., Scanlan, F.P., Stadler, R.H. 2008. Esters of 3-chloro-1, 2-propanediol (3-MCPD) in vegetable oils: significance in the formation of 3-MCPD. **Food Additives and Contaminants**, 25: 391-400.
- Shimizu, M., Moriwaki, J., Shiiba, D., Nohara, H., Kudo, N., Katsuragi, Y. 2012. Elimination of glycidyl palmitate in diolein by treatment with activated bleaching earth. **Journal of Oleo Science**, 61: 23-28.
- Stadler, R.H. 2015. Monochloropropane-1, 2-diol esters (MCPDEs) and glycidyl esters (GEs): an update. **Current Opinion in Food Science**, 6: 12-18.
- Stevenson S.G., Vaisey-Genser, M., Eskin, N.A.M. 1984. Quality control in the use of deep frying oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 61: 1102–8.

- Sunahara, G., Perrin, I., Marchesini, M. 1993. Carcinogenicity study on 3-monochloropropane-1,2- diol (3-MCPD) administered in drinking water to fischer 344 rats. Research & Development, Switzerland, Report No. RE-SR93003.
- Strijowski, U., Heinz, V., Franke, K. 2011. Removal of 3-MCPD esters and related substances after refining by adsorbent material. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 113: 387-392.
- Svejkovska, B., Novotny, O., Divinova, V., Reblova, Z., Dolezal, M., Velisek, J. 2004. Esters of 3-chloropropane-1, 2-diol in foodstuffs. **Czech Journal of Food Sciences**, 22: 190-196.
- Tseng, Y.C., Moreira, R.G., Sun, X. 1996. Total frying-use time effects on soybeanoil deterioration and on tortilla chip quality. **International Journal of Food Science and Tecnology**, 31: 287–94.
- Unnithan, U.R. 1999. U.S. Patent No. 5,932,261. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Urbančič, S., Kolar, M.H., Dimitrijević, D., Demšar, L. 2014. Stabilisation of sunflower oil and reduction of acrylamide formation of potato with rosemary extract during deep-fat frying. **LWT-Food Science and Technology**, 57: 671-678.
- Velisek, J., Davidek, J., Kubelka, V., Bartosova, J., Tuckova, A., Hajslova, J., Janicek, G. 1979. Formation of volatile chlorohydrins from glycerol (triacetin, tributyrin) and hydrochloric acid. **Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft&Technologie**.
- Weißhaar, R. 2008. Determination of total 3-chloropropane-1, 2-diol (3-MCPD) in edible oils by cleavage of MCPD esters with sodium methoxide. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 110: 183-186.
- Weißhaar, R., Perz, R. 2010. Fatty acid esters of glycidol in refined fats and oils. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 112: 158-165.
- Weißhaar, R. 2011. Fatty acid esters of 3-MCPD: Overview of occurrence and exposure estimates. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 113: 304-308.
- Wenzl, T., Samaras, V., Giri, A., Buttinger, G., Karasek, L., Zelinkova, Z. 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. EFSA Supporting Publications, 12:3.



- Wong, Y. H., Lai, O. M., Abas, F., Nyam, K. L., Nehdi, I. A., Muhamad, H., Tan, C. P. 2017. Factors impacting the formation of 3-MCPD esters and glycidyl esters during deep fat frying of chicken breast meat. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 94: 759-765.
- Wu, H., Karayiannis, T.G., Tassou, S.A. 2013. A two-dimensional frying model for the investigation and optimisation of continuous industrial frying systems. **Applied Thermal Engineering**, 51: 926-936.
- Xu, X. Q., Tran, V. H., Palmer, M., White, K., Salisbury, P. 1999. Chemical and physical analyses and sensory evaluation of six deep-frying oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 76: 1091-1099.
- Yamazaki, K., Ogiso, M., Isagawa, S., Urushiyama, T., Ukena, T., 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 and Contaminants: Part A**, 30: 52-68.
- Yanishlieva-Maslarova, N. V. 2003. Inhibiting oxidation (J. Pokorný, N. Yanishlieva, M. Gordon), Woodhead Publishing Limited, pp. 22-70, Cambridge, England.
- Yaşdağ, T., Tekin, A. 2017. Ayçiçek ve pirina yağlarının kızartma stabiliteilerinin karşılaştırılması. **Gıda/The Journal of Food**, 42: 105-115.
- Yoon S.H., Jung, M.Y., Min, D.B. 1988. Effects of thermally oxidized triglycerides on the oxidative stability of soybean oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 65:1652–1656.
- Zelinková, Z., Svejková, B., Velíšek, J., Doležal, M. 2006. Fatty acid esters of 3-chloropropane-1, 2-diol in edible oils. **Food Additives and Contaminants Part A**, 23: 1290-1298.
- Zelinková, Z., Novotný, O., Schůrek, J., Velíšek, J., Hajšlová, J., Doležal, M. 2008. Occurrence of 3-MCPD fatty acid esters in human breast milk. **Food Additives and Contaminants Part A**, 25: 669-676.
- Zelinková, Z., Doležal, M., Velíšek, J. 2009. 3-Chloropropane-1, 2-diol fatty acid esters in potato products. **Czech Journal of Food Sciences**, 27: 421-424.
- Zhang, H., Jin, P., Zhang, M., Cheong, L.Z., Hu, P., Zhao, Y., Yu, L., Wang, Y., Jiang, Y., Xu, X. 2016. Mitigation of 3-Monochloro-1,2-propanediol ester formation by radical scavengers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 64: 5887–5892.
- Zhou, H., Jin, Q., Wang, X., 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: 495-501.

Zwagerman, R., Overman, P. 2015. A novel method for the automatic sample preparation and analysis of 3-MCPD-, 2-MCPD-, and glycidylesters in edible oils and fats. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 118: 997–1006.

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Aslı YILDIRIM  
Doğum Yeri Ve Tarihi : Konak/İzmir, 07.02.1990

### EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü (2013)  
Yabancı Diller : İngilizce, Almanca

### BİLİMSEL FAALİYETLERİ

#### A) Makaleler

Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler

- Yorulmaz A., Yıldırım A., Duran M., Kula Ö., Kıvrak M. 2017. Impact of malaxation on quality and compositional characteristics of Edremit yağlık olive oil. **Journal of Food Processing and Preservation.**
- Kasımoğlu Z., Yıldırım, A., Alkan, S., Topuz, A., Şahin –Nadeem, H. 2016. Microencapsulation of chestnut seedcoat's water extract by spray drying. **Journal of ongoing Chemical Research.**

#### B) Bildiriler

Ulusal Bildiriler

- Yıldırım, A., Yorulmaz, A. “Gıdalarda Bulunan 3-MCPD ve Glisidil Esterlerinin Analiz Yöntemleri”, YABİTED III. Bitkisel Yağ Kongresi, Poster Sunum (13-15 Nisan 2017, İzmir).

Uluslararası Bildiriler

- Yorulmaz, A., Yıldırım, A., Ünay, A. “Fatty Acid and Sterol Profiles of Turkish Safflower Oils” 15<sup>th</sup> Euro Fed Lipid Congress, Poster Sunum (27 - 30 Ağustos 2017, Uppsala / İsveç).

- Yıldırım, A., Yorulmaz, A., “The Effect of Rosemary Extract on 3-MCPD and Glycidyl Esters During Deep-Fat Frying”, 15<sup>th</sup> Euro Fed Lipid Congress, Poster Sunum (27 - 30 Ağustos 2017, Uppsala / İsveç).
- Kula, Ö., Yıldırım A., Yorulmaz, A., Duran, M., Mutlu, İ., Kıvrak, M. “Impact of a Novel-Designed Crushing Operation on Fatty Acid and Sterol Composition of Virgin Olive Oil”, 2<sup>nd</sup> Congresss on Food Structure Design, Poster Sunum (26-28 Ekim 2016, Antalya).
- Şahin-Nadeem, H., Kasımoğlu, Z., Yıldırım, A., Alkan, S., Topuz, A. “Spray Drying Microencapsulation of Chestnut Seedcoat’s Water Extract”, ‘2<sup>nd</sup> Congresss on Food Structure Design’, Poster Sunum (26-28 Ekim 2016, Antalya).
- Kula, Ö., Yıldırım A., Yorulmaz, A., Duran, M., Mutlu, İ., Kıvrak, M. “Influence of a Modified Crushing Process on Certain Characteristics of Virgin Olive Oil”, 14<sup>th</sup> Euro Fed Lipid Congress, Poster Sunum (18 - 21 Eylül 2016, Ghent / Belçika).
- Yorulmaz, A., Yıldırım, A., Duran, M., Kula, Ö., Kıvrak, M. “Changes in Olive Oil Composition During Malaxation”, 18<sup>th</sup> World Congress of Food Science and Technology, Poster Sunum (21 - 25 Ağustos 2016, Dublin / İrlanda).

## B) Projeler

- Biberiye Ekstraktının Kızartma Sırasında Oluşan 3-MCPD ve Glisidil Esterleri Üzerine Etkisi, Adnan Menderes Üniversitesi, BAP Projesi, Araştırmacı, 2017-
- Unların *in vitro* Sindirilebilirlik ve Termal Özellikleri ile Glisemik İndeks Değerlerinin Belirlenmesi ve Glutensiz Ekmek Üretiminde Kullanımı, Adnan Menderes Üniversitesi, BAP Projesi, Araştırmacı, 2017-

## İLETİŞİM

E-Posta Adresi : [asli.yildirim@adu.edu.tr](mailto:asli.yildirim@adu.edu.tr)

Tarih : 26/07/2017