



## **Palm Yağında 3-MCPD ve Glisidol Esterleri Oluşumuna Proses Şartlarının Etkisi<sup>A</sup>**

**Aslıhan ELMAS<sup>1</sup>, Arzu AKPINAR BAYİZİT<sup>2\*</sup>**

**Öz:** Bu çalışmanın amacı, yemeklik yağ ya da katkı olarak kullanılan palm olein yağının rafinasyonu sırasında ağartma ajanları ve deodorizasyon sıcaklığı gibi rafinasyona yardımcı kimyasal malzemelerin ve rafinasyon parametrelerinin değiştirilmesi ile “proses bulaşanı” olarak ifade edilen 3-MCPD (3-monokloropropan diol) ve GE (glisidol esterleri) oluşumunun önlenmesi ya da azaltılması için uygun proses şartlarını belirlemektir. İncelenecek yağ örnekleri ham yağ, nötralize çıkışı, ağartma çıkışı ve deodorizasyon çıkışından alınmış ve 3-MCPD ile glisidol esterlerinin miktarları DGF Standart Metodu ile GC/MS cihazı kullanılarak yapılmıştır. Nötralize edilen ve nötr ağartma toprağı kullanılan örnekler RBD (rafine-ağartılmış-deodorize) palm olein ile karşılaştırıldığında, 3-MCPD ve GE değerlerindeki en dikkat çeken azalmalar %46.00 ile 220<sup>0</sup>C’de ve %87.85 ile 230<sup>0</sup>C’de deodorizasyon çıkışında tespit edilmiştir. Nötralize edilen ve asit aktive toprak kullanılan örneklerin 3-MCPD ve GE değerleri RBD palm olein ile karşılaştırıldığında ise en büyük azalma sırasıyla %22.80 ile nötralizasyon ve %85.22 ile 200<sup>0</sup>C’deki deodorizasyon çıkışında belirlenmiştir. Nötralize edilmeden nötr ağartma toprağı kullanılan örneklerde 3-MCPD değerinde gözlenen en yüksek azalma %69.91 ile 230<sup>0</sup>C’deki deodorize çıkışında, GE miktarında ise %90.32 ile ağartma çıkışında saptanmıştır. Nötralize edilmeden ve asit aktive toprak kullanılan örneklerde ise 3-MCPD değeri %14.02 ile 230<sup>0</sup>C’deki deodorize çıkışında en yüksek azalmayı gösterirken, GE sonuçlarında en fazla azalma %93.85 ile 230<sup>0</sup>C’deki deodorize çıkışında elde edilmiştir. Çalışma kapsamında 3-MCPD miktarının azaltılması hedeflendiğinde, RBD palm olein’de %69.91 düzeyinde azalmanın nötralize edilmeden, nötr ağartma toprağının kullanıldığı ve 230<sup>0</sup>C’de deodorizasyon prosesinin gerçekleştiği parametrelerle sağlandığı tespit edilmiştir. GE miktarının azaltılması

<sup>A</sup> Yapılan bu çalışma etik kurul izni gerektirmemektedir.

\* **Sorumlu yazar/Corresponding Author:** <sup>2</sup>Arzu AKPINAR BAYİZİT, Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bursa, Türkiye, [abayizit@uludag.edu.tr](mailto:abayizit@uludag.edu.tr), [OrcID 0000-0003-1898-1153](https://orcid.org/0000-0003-1898-1153)

<sup>1</sup> Aslıhan ELMAS, Emek Yağ, Çağrısan Köyü, Bursa, Türkiye, [aemas@emekyag.com.tr](mailto:aemas@emekyag.com.tr), [OrcID 0000-0002-5261-6021](https://orcid.org/0000-0002-5261-6021)

hedeflendiğinde ise, %93.85'lik azalma için nötralize edilmeden, asit aktive ağartma toprağının kullanıldığı, 230<sup>0</sup>C'de gerçekleşen deodorizasyon koşulları optimum parametreler olarak tavsiye edilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** 3-MCPD, Glisidol esterleri, palm yağı, rafinasyon, GC-MS.

## The Impact of Process Conditions on the Formation of 3-MCPD and Glycidol Esters in Palm Oil

**Abstract:** The aim of the present study is to determine the suitable process conditions to prevent and/or reduce the formation of 3-MCPD and glycidol esters expressed as "process contaminant" by modifying the refining-aid chemical materials and refining parameters, such as bleaching agents and deodorisation temperature during the refining of palm olein oil used as edible oil or additive. The samples were taken from RBD palm olein and outputs of neutralisation, bleaching and deodorisation. The amounts of 3-MCPD and glycidol esters in the samples were determined according to the DGF Standard Method by GC/MS. In the study by neutralizing and using neutral bleaching earth, the highest decrease in the 3-MCPD results was obtained as 46.00% from output of deodorization at 220<sup>0</sup>C, and the highest decrease in glycidol esters was obtained as 87.85% from output of deodorization at 230<sup>0</sup>C. The highest decrease in the 3-MCPD of neutralized and bleached with acid activated earth was obtained as 22.80% from output of neutralization, and the highest decrease in glycidol esters was obtained as 85.22% from output of deodorization at 200<sup>0</sup>C. The highest decrease in the 3-MCPD of non-neutralized and bleached with neutral earth was obtained as 69,91% from output of deodorization at 230<sup>0</sup>C, and the highest decrease in glycidol esters was obtained as %90,32 from output of bleaching. The highest decrease in the 3-MCPD of non-neutralized and bleached with acid activated earth was obtained as 14.02% from output of deodorization at 230<sup>0</sup>C, and the highest decrease in glycidol esters was obtained as 93.85% from output of deodorization at 230<sup>0</sup>C. If the focus is the reduction of 3-MCPD values in RBD palm olein the recommended refining parameters are non-neutralising, using neutral bleaching earth and deodorising at 230<sup>0</sup>C which result in 69.91% decrease. For GE the maximum reduction with 93.85% is obtained by non-neutralising, using acid activated bleaching earth and deodorising at 230<sup>0</sup>C.

**Keywords:** 3-MCPD, glycidol esters, palm oil, refining, GC-MS.

## Giriş

Palm yağı, Afrika Palmiye Ağacı (*Elaeis guineensis*), Amerikan Yağ Palmiyesi (*Elaeis oleifera*) ile Maripa Palmiyesi (*Attalea maripa*) meyvelerinden edilen doymuş yağ asidi içeriği yüksek bir bitkisel yağdır (Şekil 1; Akinola ve ark. 2010, Lai 2012, Choudhary ve Grover 2019).



Şekil 1: a) Palm ağacı b) Palm meyve salkımları, c) Palm meyvesinin kesiti

Palm meyvesinin mezokarp (meyve eti ya da pulp) kısmından elde edilen palm yağı yarı-katı bitkisel bir yağ olup %48 oranında doymuş yağ asitleri ile %45 oranında tekli ve çoklu doymamış yağ asitlerini içermektedir. Yağın rengi içerdiği yüksek karotenoid (500-700 mg/kg yağ) oranına bağlı olarak kırmızıdır. Bu karotenoidler arasında  $\alpha$ -karoten (%36.2),  $\beta$ -karoten (%54.4),  $\gamma$ -karoten (%3.3), likopen (%3.8) ile ksantofiller (%2.2) yer almaktadır. Palm yağında 500 ile 800 mg/kg yağ arasında E vitamini aktivitesi gösteren bileşik bulunmaktadır. Başlıca E vitamini izomerleri  $\alpha$ -tokotrienol (% 29),  $\alpha$ -tokoferol (% 28) ve  $\delta$ -tokotrienol (% 14)'dür (Sundram ve ark. 2003). Palm yağları aynı zamanda koenzim Q10 (ubiquinone) (18-25 mg/kg) ve sterol (325-365 mg/kg) bakımından da zengin kaynaklardır. Meyvenin yüksek yağ verimine sahip olması (hektar başına 7 250 L), yağ üretim maliyetinin düşük olması, gıdanın tekstür, renk, tat ve koku gibi duyuşal özellikleri üzerinde olumsuz etkisinin olmaması, trans yağ asidi içermemesi, yüksek miktarda doğal antioksidan bileşenleri içermesi ve rafine ürünün yüksek oksidatif kararlılık sergilemesi nedeniyle, palm yağı gıda sanayinde margarin, unlu mamuller, pasta, çikolata, dondurma ve benzeri ürünlerin üretiminde tercih edilmektedir (Akusu ve ark. 2000, Sundram ve ark. 2003, Berger 2005, Bin Ismail 2005, Matthäus 2007, Pande ve ark. 2012, Lai ve ark. 2015, Imoisi ve ark. 2015, Waisundara 2018). FAO/WHO ortak kuruluşu olan uluslararası Codex Alimentarius Komisyonu (1999) tarafından yemeklik yağ çeşidi olarak kabul edilen palm yağı "kızartma yağı" olarak da restoranlarda yaygın biçimde kullanılmaktadır. Palm çekirdek (kernel) yağı ise daha çok kozmetik ve sabunculuk sektöründe uygulama alanı bulmaktadır (Kuntom ve Kifli 1998, Berger 2003).

Günümüzde sıcak, nemli ve tropik iklime sahip Güneydoğu Asya, Latin Amerika ve Afrika'da palm üretimi yoğun şekilde yapılmaktadır. 27 milyon hektardan fazla olan palm ağacı ekili alanından yıllık olarak 66 milyon ton palm yağı elde edilmektedir (Paterson ve Lima 2017). 2016 yılı Dünya bitkisel yağ üretimi 62.6 milyon ton

olup bu üretimin yaklaşık %76.67'sini (48 milyon ton) palm ve palm kernel yağı oluşturmaktadır (FAO 2016). Üretimde söz sahibi ülkeler Endonezya ve Malezya olup, palm yağının üretim ve ihracatının %85'i bu ülkelerden sağlanmaktadır (Gibon 2012, Corley ve Tinker 2015).

Palm yağının üretiminin temel işlem basamakları arasında meyve sterilizasyonu, meyve gevşetme/sıyırma, sindirim, mekanik pres yada çözen ile yağ ekstraksiyonu ve berraklaştırma yer almaktadır. Elde edilen ham palm yağı istenen ve istenmeyen bileşikler içerebilmektedir. İstenen bileşenler triaçilgliseroller (TAG, nötral yağlar) ve E vitamini (tokoferoller ve tokotrienoller), karotenoidler ve fitosteroller gibi sağlık için yararlı bileşenlerdir. Serbest yağ asitleri, fosfolipitler ya da gamlar, lipit oksidasyon ürünleri, metaller, pestisit kalıntıları ise başlıca istenmeyen (safsızlık) bileşenleridir. Bu nedenle safsızlık öğeleri yağın rafinasyon prosesi sırasında uzaklaştırılmakta ve yağ yenilebili hale gelmektedir (Ramli ve ark. 2011).

Ham palm yağı fiziksel ya da kimyasal yöntemlerle rafine edilebilmektedir. İki proses yöntemi arasındaki temel fark fiziksel rafinasyonda serbest yağ asitlerinin deodorizasyon aşamasının damıtma basamağında uzaklaştırılmasıdır. Kimyasal rafinasyonda ise serbest yağ asitlerindeki safsızlıklar nötralizasyon aşamasında bir alkali çözeltisi ile tepkime sonucu uzaklaştırılmaktadır. Daha kısa sürede ve düşük sıcaklıklarda gerçekleştirilen kimyasal rafinasyon ile rafine olan yağların depolama stabilitesi fiziksel yöntemle göre daha yüksektir (Čmolík ve Pokorný 2000, Hamm ve ark. 2013, Arris ve ark. 2020). Gamlar (hidratlanabilir ve hidrate olmayan fosfolipitler) ve diğer fosfor içeren bileşikler degumming işlemiyle uzaklaştırılmaktadır. Gibon ve ark. (2007), palm yağının fosfolipid ve fosfor içeriklerinin (10-20 ppm) genellikle düşük olduğunu bildirmiştir. Bu nedenle palm yağı üretiminde degumming aşaması uygulanmamaktadır. Bazı işletmeler ise deodorizasyon işlemi sonrasında fosforik asit ya da sitrik asit ilave ederek "kuru degumming" olarak adlandırılan işlemi tercih etmektedirler (Prudel ve ark. 2011). Yağın ağartma toprağı ile işlenmesi, karotenler gibi renkli pigmentlerin uzaklaştırılması için kullanılmaktadır. Pigmentler van der Waals kuvvetleri ile ağartma toprağı üzerine adsorbe edilmektedirler. Pigmentlerin yağdan uzaklaştırılmasına ya da azaltılmasına ek olarak, ağartma, lipit oksidasyon ürünleri ve metaller gibi diğer yabancı maddeleri de uzaklaştırmaktadır.

**Avrupa Gıda Bilgi Konseyi (EUFIC)** günlük 2 000 Kcal enerji gereksinimi olan bir bireyin doymuş yağ asidi alımının günde 20 gramı aşmamasını tavsiye etmekte ve palm yağı tüketiminden günlük doymuş yağ alımının 2.7 g olduğunu belirtmektedir. Yaklaşık 5 000 yıldır yemeklik olarak değerlendirilen ve prostat, kolorektal, meme gibi kanser gelişimi üzerinde etkisinin yüksek olduğu düşünülen trans yağ asitlerini (Smith ve ark. 2009, Vinikoor ve ark. 2009,2010, Michels ve ark. 2020) içermeyen palm yağının sağlık riskinin olmadığı ifade edilmektedir. Bununla birlikte beslenme ve sağlık arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi tek bir gıda ürünü üzerinden değil, beslenmenin geneline ve kişinin metabolizma özellikleri dikkate alınarak yapılmalıdır (EUFIC 2019a,b).

Palm yağı ve diğer tüm bitkisel yağlarda karşılaşılan en önemli problem pişirme sırasındaki sıcaklık uygulamaları ve bu sırada oluşan bileşenlerdir. 3-monokloro-1,2-propandiol (3-MCPD), 2-kloro-1,3-propandiol (2-MCPD) ve glisidolün yağ asidi esterleri (GE) gibi proses kontaminantlarının rafine palm yağı ve palm bazlı fraksiyonlarda diğer yemeklik yağlara göre daha yüksek miktarda olduğu bildirilmiştir (Larsen 2009, Masukawa ve ark. 2010, Weißhaar ve Perz 2010, Hrnčirik ve van Duijn 2011, Matthäus ve Pudol 2013, Becalski ve ark.

2015, Özdikiciler ve ark. 2016). Ancak günümüzde farklı ürün gruplarına yönelik risk değerlendirmeleri tamamlanmadığı için yasal bir düzenleme bulunmamaktadır. Çeşitli ülkelerde kamu, özel sektör ve akademi birliktelikleriyle ürün grupları incelenmektedir. Ancak hangi bileşenin (3-MCPD, 2-MCPD ve glisidol ester) toksisite açısından limit değerine dahil edileceği konusunda bir anlaşma sağlanamamıştır.

Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından 2016 yılında yayınlanan raporda, 200°C'nin üzerine ısıtılan palm yağında oluşan 3-monokloropropandiol (3-MCPD), 2-monokloropropandiol (2-MCPD) ve glisidol yağ asidi esterlerinin (GE) karsinojen özellikte olduğu ve diğer bitkisel yemeklik yağlara kıyasla palm yağında daha yüksek düzeyde oluşabildikleri bilgisine yer verilmiştir. Ancak, palm yağı kullanımının yasaklanması ya da sınırlandırılması konusunda bir öneri yapılmamıştır (EFSA 2016, 2017).

Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından “insan üzerinde büyük olasılıkla kanser etkileri olan madde (grup 2B)” olarak tanımlanan 3-MCPD'nin, farelerde ağır proteinüri ve glikozürinin yanı sıra akut glomerulonefrit ve renal ve testiküler tümör oluşumuna neden olduğu tespit edilmiştir (IARC 2000,2012, Bakhiya ve ark. 2011, Buhrke ve ark. 2015, JECFA 2016). Glisidol ile onun yağ asidi esterleri ise “insan üzerinde kanser etkileri olma potansiyelindeki madde (grup 2A)” olarak tanımlanmaktadır. Reaktif bir epoksit molekülüne sahip olan bu bileşiklerin de genotoksik ve karsinojenik özellik gösterdiği belirtilmektedir (IARC 2000, Grosse ve ark. 2012, EFSA 2016, JECFA 2016).

EFSA 3-MCPD kontaminantı için soya sosu ve hidrolize sebze proteinlerinde maksimum bulunma miktarını 20 µg/kg olarak belirtmiştir (EFSA 2018a). Bununla birlikte, Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ile Dünya Sağlık Örgütü Gıda Katkı Maddeleri Uzman Komitesi (JECFA) tolere edilebilir günlük 3-MCPD tüketim miktarını 4 µg/kg vücut ağırlığı olarak bildirmektedir. Rafine bitkisel yağlarda en yüksek miktarda bulunan işlem bulaşanlarının glisidol yağ asidi esterleri oldukları ve bunların gastrointestinal sistemde glisidole hidrolize olduğu bildirilmiştir. Glisidol genotoksik ve karsinojen etki gösteren bir bileşiktir. Bu nedenle EFSA sağlık riskini göz önünde bulundurarak gıdalarda glisidol olarak ifade edilen glisidil esterleri için “maruz kalma sınırı (margin of exposure, MoE) yaklaşımı uygulanmasını ve MoE değeri 25 000'den düşük olan gıdaların riskli olarak değerlendirilmesini tavsiye etmiştir. Gözlenebilen hiçbir yan etki göstermeyen dozun (NOAEL) tahmini insan maruziyetine (EHE) bölünmesiyle hesaplanan MoE değeri toksikolojide gözlemlenmemiş yan etki seviyesinin teorik, öngörülen ya da tahmini doz veya insan alım konsantrasyonuna oranı olarak ifade edilmektedir. Bu bağlamda, 1881/2006 (EC) sayılı yönetmelik değiştirilerek 27.2.2018 tarihinde Yönetmelik 2018/290 yayımlanmıştır. Bu yönetmelikte bitkisel yağlar ve nihai tüketici için piyasaya sürülen gıda yağları ile bebek/çocuk gıdaları/mamalarında GE değerinin maksimum 1 000 µg/kg olması gerektiğini bildirmiştir (EFSA 2018a,b).

Bu nedenle planlanan çalışma ile yemeklik yağ ya da katkı olarak kullanılan palm yağının rafinasyonu sırasında rafinasyon yardımcı kimyasal malzemelerin ve rafinasyon parametrelerinin değiştirilmesi ile “proses bulaşanı” olarak ifade edilen 3-MCPD ve glisidol esterleri oluşumunun önlenmesi ya da azaltılması için uygun proses şartlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

## Materyal ve Yöntem

### Materyal

Çalışmada Bursa'da yemeklik yağ üretiminde faaliyet gösteren bir firmadan temin edilen RBD (rafine ağartılmış ve deodorize/refined bleached and deodorised) palm olein (ham yağ) numuneleri kullanılmıştır. İşletmeye gelen RBD palm olein müşteri spektlerinden daha yüksek asiditeye (%0.15-0.20) sahip olduğu ve rengi çok koyulaştığı için ikincil rafinasyona tabi tutulmaktadır. İkincil rafinasyonun temel amacı işlendiği noktadan ithal edilen palm olein'de bu süreçte gözlenen stabilite ve duyuusal özelliklerinin iyileştirilmesidir.

3-MCPD ve GE oluşumu üzerinde etkili olduğu düşünülen parametreler olarak nötralizasyon uygulaması, ağartmada kullanılan toprağın özellikleri ile deodorizasyon sıcaklığı incelenmiştir. Nötr ve asitle aktive edilmiş ağartma toprağıyla muamele sonrası deodorizasyon için 3 farklı sıcaklık (200, 220 ve 230°C) denenmiştir. Örneklem nötralizasyon uygulanan (kimyasal rafinasyon) ve nötralizasyon uygulanmayan (fiziksel rafinasyon) palm yağlarından, nötralizasyon çıkışı, ağartma çıkışı ve deodorizasyon çıkışında yapılmıştır.

Palm olein numunelerine RBD tip olmaları ve fosfolipit ile fosfor içeren bileşik oranının çok düşük olması nedeniyle degumming işlemi uygulanmamıştır. Nötralizasyon uygulanan ham palm yağı için %0.065 fosforik asit kullanılmıştır. Nötralizasyon uygulanmayan örnekler için ise bu basamak uygulanmamış, bu örneklerde ham yağ doğrudan ağartma ve deodorizasyon işlemlerine tabi tutularak fiziksel rafinasyon gerçekleştirilmiştir. Nötralizasyon uygulanan ve uygulanmayan örneklerin hepsi için ağartma işleminde uygulanan parametreler aynıdır. Bu parametreler; sıcaklık 95°C, vakum 80 mbar ve işlem süresi 1 saat olarak belirlenmiştir. Nötr ağartma toprağı olarak Tonsil® Optimum 258 FF (Clariant AG Chemicals, İsviçre) ağartma toprağı kullanılırken, asit ile aktifleştirilmiş ağartma toprağı olarak ise Pure-Flo® B81 Supreme Activated Bleaching & Decolorizing Bentonite for Edible Oils \*FDA-GRAS (Oil-Dri Ltd, Birleşik Krallık) kullanılmıştır. Tüm örneklere uygulanan deodorizasyon koşulları ise süre 1.5 saat, kuru buhar miktarı %1.5 ve vakum 1.5-2.0 mbar olarak belirlenmiştir.

### Yöntem

Numunelerdeki 3-MCPD ve glisidol esterlerinin miktarları DGF (Deutsche Gesellschaft für Fettwissenschaft – German Society for Fat Science) Standart Metod C-VI 18 (2009) yöntemi ile GC/MS cihazı kullanılarak yapılmıştır. Bu metodun amacı; doğrudan 3-MCPD esterlerinin yanında fenil boronik asit ile türevlendirilmiş serbest 3-MCPD ile glisidol esterlerinin GC/MS cihazı ile kantitatif olarak analiz edilmesidir. Analiz iki ayrı deneyden oluşmaktadır (Deney A ve B). Sabunlaşma işleminin sodyum kloridin asidik çözeltisi ya da asidik klorin içermeyen tuz solüsyonu (sodyum bromid) ilavesi ile sonlandırılması iki deney arasındaki temel farklılıktır. Deney A 3-MCPD ve glisidol toplamını verirken; Deney B ise sadece 3-MCPD miktarı hakkında bilgi vermektedir.



### Numunenin Hazırlanması

Palm olein yağ numuneleri 80°C'deki su banyosunda 30 dakika bekletilerek eritilmiştir. Eritme işlemi sırasında manyetik balık ile numune sürekli karıştırılmıştır. Erimiş yağ örneğinden A ve B reaksiyonları için 0.1 g kapaklı cam deney tüplerine tartılmıştır. Her deney tüpüne 100 µL iç standart çözeltisi (3MCPD-d5) ve 1 mL t-BME (tert-butil metil eter) karışım çözeltisi ilave edilerek oda sıcaklığında vorteks ile karıştırılmıştır.

### Esterlerin parçalanması ve glisidollere dönüşüm

Her numuneye 200 µL sodyum hidroksit çözeltisinden eklenmiş ve çalkalanmıştır. Deney A için ester parçalanması reaksiyon zamanı 4 dakika ve Deney B için 2 dakika olarak uygulanmıştır. Ester parçalanması Deney A için 600 µL asitlendirilmiş sodyum klorit çözeltisi ve Deney B için 800 µL asitlendirilmiş sodyum bromid çözeltisi ilave edilerek sonlandırılmıştır.

Sonraki aşamalarda A ve B deney tüplerine aşağıda belirtilen işlemler uygulanmıştır:

- ✓ Reaksiyon sonlandırma çözeltileri ilave edildikten sonra iki deney tüpüne de 600 µL n-hekzan ilave edilerek tüp içeriği çalkalanmıştır.
- ✓ Faz ayrımı gözlemlendiğinde üstteki organik hekzan fazı (yağ aside metil esterleri) pastör pipeti ile uzaklaştırılmıştır.
- ✓ n-hekzan ile yıkama işlemi bir kez daha tekrarlanmıştır.

### Türevlendirme

Elde edilen sulu faz (tüpün altta kalan kısmı) üzerine 300 µL PBA (fenil etan boronik asit) türevlendirme çözeltisi ilave edilerek 1 dakika vorteks ile karıştırılmıştır. Deney tüplerinin kapakları kapatılarak 90°C su banyosunda 30 dakika bekletilmiştir. Daha sonra deney tüpleri oda sıcaklığına soğutulmuştur.

### 3-MCPD Ekstraksiyonu

Türevlendirme sonrası oda sıcaklığına soğutulan deney tüplerine 600 µL dietil eter+etil asetat karışımı (600 µL/mL dietil eter; 400 µL/mL etil asetat) ilave edilmiştir. Üstte bulunan organik faz pastör pipeti yardımıyla susuz sodyum sülfat içeren temiz deney tüplerine aktarılmıştır. Bu aktarma işlemi iki defa tekrarlanmıştır. Elde edilen ekstraktlar tamamen kuruyana kadar azot gazı altında uçurulmuştur. Deney tüplerine 500 µL izooktan ilave edilerek tüp içeriği insörtlü viallere aktarılmış ve GC/MS cihazına enjekte edilmiştir. Tüp içeriği berrak değil ise sartrifüj edilmiş ya da 0.2 µm filtreden geçirildikten sonra analiz edilmiştir. Deney A ve B sonucunda elde edilen ekstraktlar ayrı ayrı analiz edilmiştir.

### GC ve MS Şartları

Elde edilen ekstraktların kromatografik ayrımı için tek kuadropollü Gaz Kromatografi/Kütle Spektrometresi (Agilent 7890A GC & 5977A MSD, Agilent Technologies, ABD) kullanılmıştır. GS/MS sisteminde uygulanan çalışma koşulları aşağıda belirtilmiştir:

---

Enjeksiyon hacmi	: 1 µL
Taşıyıcı gaz	: Helyum
Akış hızı	: 1 mL/dk
Enjeksiyon sıcaklığı	: 250°C
Split	: Yok
Purge akışı	: 50 mL/dk (0.5 dakikadan 1 dakikaya kadar), septum purge 3 mL/dakika
Kolon	: 30 m*0.25 mm iç çap* 0.25µm (HP 5 MS)
Fırın programı	: 85°C (1 dk); 85°C'den 150°C'ye (dakikada 6°C artışla) (11 dk); 150°C'den 180°C'ye (dakikada 12°C artışla) (2.5 dk); 180°C'den 280°C'ye (dakikada 25°C artışla) (4 dk)
Analiz süresi	: Enjeksiyon yaklaşık 25 dk
Dedektör	: Kütle Spektrometresi (EI <sup>+</sup> , SIM Modu)
İç standart (3-MCPD-d5) için iyonlar	: m/z = 149/150/201/203
3MCPD için iyonlar	: m/z = 146/147/196/198
Miktar analizi için iyonlar	: 3-MCPD (147) ve 3-MCPD-d5 (150)

---

### Hesaplama ve Sonuç

$$W_{3-MCPD(A)} = \frac{SF_A \times W_{D5-3-MCPD(A)}}{SF_{iA}} \quad (1)$$

$W_{3-MCPD(A)}$  = Deney A 3-MCPD miktarı mg/kg

$SF_A$  = Deney A 3-MCPD alanı

$W_{D5-3-MCPD(A)}$  = 3MCPD-d5 konsantrasyonu mg/kg

$SF_{iA}$  = Deney A 3-MCPD-d5 alanı

Deney A ve B belirlenen değerlerin arasındaki fark deneysel olarak belirlenmiş bir dönüşüm katsayısı (t) ile çarpılarak numunedeki glisidol miktarı hesaplanmaktadır.

$$\text{Glisidil Esterleri İçeriği} = (A - B) \times t \quad (2)$$

Glisidil Esterleri dönüşüm katsayısı; glisidil stearat (mg/kg)'ın farklı konsantrasyonlarına karşı 3-MCPD (mg/kg) oluşumunun belirlendiği kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak belirlenmiştir. Kalibrasyon eğrisi; 3-



MCPD pik alanının (belirleyici iyonlar: 149/150/201/203), iç standart (3-MCPD-d5) pik alanı oranına (belirleyici iyonlar: 146/147/196/198) karşılık gelen ilgili glisidil stearate konsantrasyonu ile oluşturulmuştur. Deney A için bu işlem uygulanarak glisidil stearat'ın 3-MCPD'ye dönüşüm faktörü hesap edilmiştir.

$$t = \frac{\text{Pik alanı 3-MCPD}}{\text{Pik alanı iç standart (3-MCPD-d5)}} \quad (3).$$

## Bulgular

### Nötralize Edilerek ve Nötr ya da Asit Aktive Ağartma Toprağı Kullanıldığında Rafine Palm Yağındaki 3-MCPD ve GE Miktarında Gözlenen Değişimler

Nötralize edilerek ve nötr toprak kullanılarak rafinasyon basamaklarından alınan örneklerdeki ortalama 3-MCPD ve GE değerleri Çizelge 1'de verilmiştir. RBD yağda ortalama 2.50 mg/kg olarak belirlenen 3-MCPD miktarının her bir proses basamağı sonrasında azaldığı tespit edilmiştir. Sırası ile nötralize çıkışı %6.8, ağartma çıkışı %23.6, 200°C deodorize çıkışı %20.8, 220°C deodorize çıkışı %46.00 ve 230°C deodorize çıkışında %15.60 azalma olduğu belirlenmiştir. RBD yağda, ortalama 5.27 mg/kg olarak belirlenen GE miktarı da benzer şekilde her bir rafinasyon basamağında azalmıştır. Bu verilere göre 3-MCPD miktarı dikkate alındığında 220°C ve GE miktarları dikkate alındığında ise 230°C deodorizasyonun yapılması gerekmektedir. GE miktarı nötralizasyonun uygulandığı ve nötr ağartma toprağının kullanıldığı örneklerde sürekli olarak azalırken, 3-MCPD miktarının 200°C ve 230°C'de oluşumunun arttığı görülmektedir. Nötralize edilerek ve asit aktive toprak kullanılarak rafinasyon basamaklarından alınan örneklerdeki 3-MCPD ve GE değerleri incelenmiş ve RBD yağda ortalama 3.07 mg/kg olarak belirlenen 3-MCPD miktarı nötralize çıkışı için %22.80, ağartma çıkışı için %14.98, deodorize çıkışı 200°C için %12.37, deodorize çıkışı 220°C için %0.65 ve deodorize çıkışı 230°C için %7.17 düzeyinde azalmıştır. Nötralizasyon çıkışında 3-MCPD azalmış olsa bile ağartma çıkışı ve deodorizasyondan sonra 3-MCPD oranı artmış, ancak RBD yağda göre azalmıştır. RBD yağda, ortalama 5.55 mg/kg olarak belirlenen GE miktarında her proses basamağı sonrası azalma olduğu tespit edilmiştir. Sırası ile nötralize çıkışı %9.90, ağartma çıkışı %32.25, 200°C deodorize çıkışı %85.22, 220°C deodorize çıkışı %25.76 ve 230°C deodorize çıkışı için %77.11 azalma belirlenmiştir.

**Çizelge 1.** Nötrleştirilerek ve nötr ya da asit aktive ağartma toprağı kullanılarak rafine palm oleinin 3-MCPD ve GE miktarındaki değışim

Örnekler	Nötr Toprak		Asit Aktive Toprak	
	3-MCPD (mg/kg)	GE (mg/kg)	3-MCPD (mg/kg)	GE (mg/kg)
RBD yağ	2.50 ± 0.11	5.27 ± 0.41	3.07 ± 0.48	5.55 ± 1.20
Nötrleştirilme Çıkışı	2.33 ± 0.15	4.62 ± 0.29	2.37 ± 1.50	5.00 ± 0.53
Ağartma Çıkışı	1.91 ± 0.57	3.01 ± 0.48	2.61 ± 0.02	3.76 ± 1.37
<i>Deodorize Çıkışı</i>				
200 °C	1.98 ± 0.22	1.43 ± 0.15	2.69 ± 0.18	0.82 ± 0.42
220 °C	1.35 ± 0.09	1.38 ± 0.32	3.05 ± 0.47	4.12 ± 0.44
230 °C	2.11 ± 0.35	0.64 ± 0.46	2.85 ± 0.42	1.27 ± 0.22

### Nötrleştirilmeden ve Nötr ya da Asit Aktive Ağartma Toprağı Kullanıldığında Rafine Palm Yağındaki 3-MCPD ve GE Miktarında Gözlenen Değışimler

Nötrleştirilmeden ve nötr toprak kullanılarak rafinasyon basamaklarından alınan örneklerdeki 3-MCPD ve GE değerleri Çizelge 2’de verilmiştir. RBD yağda 3-MCPD ortalama 3.39 mg/kg ve GE ortalama 3.41 mg/kg olarak belirlenmiştir. 3-MCPD miktarı her bir proses basamağı sonrasında azalmıştır. Sırası ile ağartma çıkışı %10.32, deodorize çıkışı 200°C %31.85, 220°C %23,60 ve 230°C %69.91 azalma olmuştur. En yüksek azalma deodorizasyon çıkışı 230°C’de tespit edilmiştir. Rafinasyon basamaklarının her parti için etkisi incelendiğinde; GE miktarlarında RBD yağ ile karşılaştırıldığında her proses basamağı sonrası azalma olduğu saptanmıştır. Sırası ile ağartma çıkışı %90.32, deodorize çıkışı 200°C %76.24, deodorize çıkışı 220°C %79.18, deodorize çıkışı 230°C %44.57 azalma olduğu tespit edilmiştir. Deodorizasyon sıcaklığı arttıkça GE miktarında artış olmuştur. Nötrleştirilmeden ve asit aktive toprak kullanılarak rafinasyon basamaklarından alınan örneklerdeki 3-MCPD ve GE değerleri incelendiğinde, RBD yağda ortalama 3-MCPD 2.78 mg/kg bulunmuştur. Rafinasyon basamaklarının her parti için etkisi incelendiğinde; 3-MCPD miktarlarında RBD yağ ile karşılaştırıldığında sadece 230°C deodorize çıkışı için %14.02 azalma olduğu tespit edilmiştir. GE miktarları RBD yağda bulunan 5.37 mg/kg ile karşılaştırıldığında her proses basamağı sonrası azalma olduğu belirlenmiştir. Sırası ile ağartma çıkışı %74.30, 200°C deodorize çıkışı için %73.37, 220°C için %96.08 ve 230°C için %93.85 azalma saptanmıştır (Çizelge 2).

**Çizelge 2.** Nötrleştirilmeden ve nötr veya asit aktive ağartma toprağı kullanılarak rafine palm oleinin 3-MCPD ve GE miktarındaki değışim

Örnekler	Nötr Toprak		Asit Aktive Toprak	
	3-MCPD (mg/kg)	GE (mg/kg)	3-MCPD (mg/kg)	GE (mg/kg)
RBD yağ	3.39 ± 1.79	3.41 ± 3.22	2.78 ± 0.93	5.37 ± 1.11
Ağartma Çıkışı	3.04 ± 1.73	0.33 ± 0.07	3.04 ± 0.52	1.38 ± 1.49
<i>Deodorize Çıkışı</i>				
200 °C	2.31 ± 0.32	0.81 ± 0.53	3.67 ± 0.50	1.43 ± 0.30
220 °C	2.59 ± 0.68	0.71 ± 0.25	3.15 ± 0.17	0.21 ± 0.12
230 °C	1.02 ± 0.14	1.89 ± 0.20	2.39 ± 0.25	0.33 ± 0.28

## Tartışma ve Sonuç

Kalite tüketici tercih ve memnuniyetinde etkin rol oynamakta ve bir gıda maddesini diğerlerinden ayırt etmeye yarayan özelliklerin bileşimi olarak ifade edilmektedir. Bu bağlamda kalite ürünün biyolojik değerini ve sağladığı güvenceyi de kapsamaktadır. FAO'nun tanımına göre gıda kalitesinin temel gerekliliklerinden biri olan gıda güvenliği, "gıdayı akut ve kronik olarak sağlığa zararlı olabilecek bulaşan, yabancı madde, doğal olarak oluşan toksin ve benzeri maddelerin olmaması veya kabul edilebilir, güvenli seviyelerde bulunması" dır (FAO 1996). Bu bağlamda herhangi bir gıdanın güvenliği gıda zincirinde bilgi değişimi ve mevzuata uyum, bilimsel işbirliği, risk analizi ve yönetimi, bu konudaki tüketici bilgisi ile alınması gerekli tedbirleri kapsamaktadır (Şahin ve ark. 2010).

Tüketici kabulünün ve raf stabilitesinin artması için yenilebilir yağlar endüstriyel olarak işlenmektedir. Tat, koku, renk ve görünümü olumsuz yönde etkileyecek bileşenlerin uzaklaştırılması amacıyla gerçekleştirilen rafinasyon işlemi sırasında istenmeyen kimyasal değişiklikler de meydana gelebilmektedir. Bu değişimler sonucu oluşan 3-MCPD, 2-MCPD ve glisidolün yağ asidi esterleri rafine edilmemiş yağlarda bulunmayan ve ısı kaynaklı kirletici kontaminantlar olarak bildirilmektedir (Hrnčirik ve van Duijn 2011, Matthäus ve ark. 2011a,b,2016, Ramli ve ark. 2015). Bu nedenle yürütülen çalışmada değişen proses parametrelerinin, palm olein yağında 3-MCPD ve GE miktarları üzerine etkileri değerlendirilmiştir.

3-MCPD ve esterlerinin oluşumu için öncelikle triaçilgliserollerin hidrolize olarak gliserol, mono- ve diaçilgliserollere degrade olması gerektiği ve yüksek sıcaklıkta bu maddelerden oluşan siklik açil protonlaşmış su molekülü ile GE'in klor iyonları varlığında MCPD'ye dönüştüğü bildirilmektedir (Bakhiya ve ark. 2011, Hamlet ve ark. 2011). Glisidil yağ asidi esterlerinin ise daha çok rafine edilmiş yağlarda ve yağlı gıdalarda üretim koşullarına bağlı kirleticiler oldukları vurgulanmaktadır. MCPD hem de GE'nin aynı öncülleri ve oluşum mekanizmasını paylaştığı düşünülmüştür. Ancak son yıllarda yapılan çeşitli araştırmalar bu iki proses bulaşanın öncül maddelerinin ve oluşum mekanizmalarının farklı olduğunu vurgulamaktadır. "MAG, DAG ve klor iyonu" öncül maddeler olarak adlandırılmakla birlikte, işlem sıcaklığı ve süresi gibi parametreler de oluşumda rol oynamaktadır. 3-MCPD, bir klorin kaynağı ile lipit kaynağı arasındaki reaksiyon sonucu oluşmaktadır. Bu klor kaynağı gıda maddesinin kendisi olabildiği gibi gıda ile temas eden materyal, kullanılan klorlu su ya da ilave tuz olabilir. Nagy ve ark. (2011) pek çok kovalent bağlı inorganik klor kaynağının,  $FeCl^3$ ,  $FeCl^2$ ,  $MgCl^2$  ve  $CaCl^2$  dahil olmak üzere ham palm yağında ppm (mg/kg) seviyelerinde bulunduğunu ve bunların diğer bitkisel yağlardan daha fazla olduğunu kanıtlamışlardır. GE oluşumu ise yüksek sıcaklıklar ve bu sıcaklıklarda ne kadar süreyle kalındığı ile doğrudan ilişkilidir ve klorlu bileşiklerin varlığına gereksinim olmadan da direkt diaçilgliserollerden oluşabilmektedir. GE stabil moleküller değildirler, ancak 3-MCPD çok kararlı moleküllerdir. Oluştuktan sonra, 3-MCPD stabilitesinin ortam pH'sı ve sıcaklığına bağlı olduğu bildirilmiştir. Uygulanan ısı işlemin pH'sı ve sıcaklığı ne kadar yüksek olursa, 3-MCPD degradasyonu da o kadar fazla olmaktadır (Rahn ve Yaylayan 2011, Craft ve ark. 2012,2013, Zhang ve ark. 2013, Sevindirici ve ark. 2016, Cheng ve ark. 2017a,b, Turan ve ark. 2018).

Franke ve ark. (2009) 10 mbar vakum, 90°C sıcaklık, 20 dakika işlem süresi ve %1 Tonsil optimum 214 FF ağartma toprağı kullanarak yaptıkları çalışmalarında ağartma öncesi palm yağında, 3-MCPD konsantrasyonunu 6.06 mg/kg, ağartmadan sonra 2.48 mg/kg olarak tespit etmişler ve %59 oranında bir azalma olduğunu gözlemlemişlerdir. Kloroester, klorür ve klorlu bileşikler, mono- ve diçilgliseroller gibi öncül maddelerin degumming, nötralizasyon ve ağartma ile uzaklaştırılmasının 3-MCPD oluşumunda etkili olduğunu, ancak deodorizasyon sıcaklığının yükselmesiyle 3-MCPD oluşumunun arttığını tespit etmişlerdir. Deodorizasyon sıcaklığının 3-MCPD oluşumunda belirleyici olduğunu ama işlem süresinin kritik bir rol oynamadığını vurgulamışlardır.

Hrnçirik ve van Dujin (2011) deodorizasyon sıcaklık ve süresinin 3-MCPD ve GE oluşumu üzerine etkisini inceledikleri çalışmalarında, 1 saat boyunca 180°C'de deodorize edilmiş ve kimyasal olarak rafine edilmiş palm yağında 3-MCPD konsantrasyonunun yaklaşık 4.8 mg/kg olduğunu rapor etmişlerdir. Deodorizasyon süresinin 1 ila 5 saat arasında uzatılması, kimyasal olarak rafine edilmiş palm yağında 3-MCPD konsantrasyonunu 4.1 mg/kg'a düşürmüştür. Ağartma işleminden önce yapılan nötralizasyonun deodorizasyon sırasında 3-MCPD ester oluşumunu değil GE miktarını etkilediğini; deodorizasyon sıcaklığı 230°C olduğunda GE konsantrasyonunun 2.2 mg/kg'a yükseldiğini, ancak 180°C'de daha düşük GE seviyesi gözlendiğini ve 5 saat gibi uzun bir deodorizasyon süresinin serbest yağ asitlerinin %20'sini bile uzaklaştırmak için yeterli olmadığını bildirmişlerdir.

Pudel ve ark. (2011) yaptıkları çalışmalarında su ile degumming, nötralizasyon için potasyum hidroksit (KOH) ile sodyum hidroksit (NaOH) kullanılması ve deodorizasyon öncesi ağartma uygulanmasının bitkisel yağlarda 3-MCPD ve GE oluşumunu azalttığını gözlemlemişlerdir. Fosfolipit içeriğı ile 3-MCPD ve GE oluşumu arasında korelasyon olmadığı, nötralizasyon uygulanan yağlar nötralize edilmemiş yağ ile kıyaslandığında KOH için %45 ve NaOH %35 oranında bir azalma olduğu ile 60 ya da 90°C'de yapılan ağartma işleminin deodorizasyon sırasında 3-MCPD ve GE oluşumunu azalttığı bildirilmiştir. Nötralizasyon sonrasında uygulanan yıkama işlemi, ağartma toprağı ve deodorizasyon sırasında süreye bağılı olarak klorür iyonları, açilgliseroller gibi öncül maddelerin uzaklaştırılması ya da parçalanması sonucu 3-MCPD ve GE oluşumunun azaldığı düşünülmüştür. Ağartma toprağının türünün (nötr ya da asidik), koku giderme aşamasından önce yağın pH değerini etkilediğı ve 3-MCPD ile GE oluşumunu hızlandırdığı bildirilmiştir (Zschau 2001). Bu nedenle, 3-MCPD ve GE'lerin moleköl yapılarına zarar vermeden fiziksel adsorpsiyon ile RBD palm yağından farklı polariteye sahip olmalarına bağılı olarak uzaklaştırılabileceğı ve bunun için karbon, magnezyum silikat, zeolit ve aktif ağartma toprağı gibi adsorbanlardan yararlanılabileceğı öngörölmüştür (Strijowski ve ark. 2011, Shimizu ve ark. 2012).

Ramli ve ark. (2011) yaptıkları çalışmalarında asitle aktive ağartma toprağı ve nötr ağartma toprağı ile asit degumming işleminin kombinasyonunu karşılaştırmışlardır. Nötr ağartma toprağı kullanıldığında ortalama 2.2 mg/kg 3-MCPD, asitle aktive ağartma toprağı kullanıldığında 2.8 mg/kg 3-MCPD konsantrasyonu olduğu tespit etmişlerdir. %22 oranında bir azalma olduğunu gözlemlemişlerdir. Ağartma parametrelerini 50 mbar vakum, 105°C sıcaklık ve 30 dakika işlem süresi, kullanılan ağartma toprağı miktarını %1 olarak bildirilmiştir. Sülfürik asit ya da hidroklorik asit ile aktive edilen ağartma topraklarında adsorpsiyon için daha geniş bir yüzey

alanı sağlanmakta ve bağlantı noktası bulunmaktadır. Düşük pH değerlerinde ağartma toprağının kullanıldığı rafinasyon işleminde müsilaj gidermenin asit ya da su ile yapılmasının etkili olmadığını ve daha yüksek 3-MCPD ester oluşumunun gözlemlendiğini belirtmişlerdir. Asitle aktive olan topraklarda ester oluşumunun yüksek olduğu, proton verme özelliğinden dolayı organik bileşiklerin protonasyonuna neden olabildiği ve organik reaksiyonları katalize edebildiği ile klorür iyonlarının varlığında açilgliserollerin protonasyonu sonucu 3-MCPD esterlerinin daha fazla oluştuğunu vurgulamışlardır.

Ramli ve ark. (2015), asitle aktive edilmiş kil ile %0.1 fosforik asit kullanıldığında 3-MCPD ester oluşumunun en yüksek düzeyde olduğunu (3.89 ppm'ye kadar) gözlemlemişlerdir. Araştırmacılar, 3-MCPD ester oluşumunun suyla zamlı giderme ve doğal ağartma kili kullanıldığında en düşük seviyede (0.25 ppm) olduğunu; demir ve fosfor bileşikleri etkin olarak uzaklaştırılmadığı için yağ kalitesinin bozulduğunu; ve yüksek kaliteli ham yağ kullanılamıyor ise özellikle metalik safsızlıkları gidermek için başka bir işlemin uygulanması gerektiğini de ifade etmişlerdir.

Shimizu ve Desrochers (2012) yaptıkları çalışmalarında GE'yi palm yağı dahil olmak üzere farklı bitkisel yağlardan çıkarmak için asitle aktifleştirilmiş ağartma toprağı kullanmıştır. Test edilen tüm yağlarda, %1 asit aktive ağartma toprağı kullanıldığında GE konsantrasyonunun %99 ya da daha fazla azaltıldığını tespit etmişlerdir. Örnek olarak, ölçülen tüm GE konsantrasyonlarının toplamının, ortalama 10.3 mg/kg'dan 0.1 mg/kg'ın altına düşürüldüğünü tespit etmişlerdir.

Zulkurnain ve ark. (2012) yaptıkları çalışmalarında asitle aktive ağartma toprağı ve nötr ağartma toprağı ile kullanımını karşılaştırmışlardır ve farklı bir sonuç elde etmişlerdir. Nötr ağartma toprağının, asitle aktifleştirilmiş ağartma toprağından biraz daha yüksek bir 3-MCPD konsantrasyonuna yol açtığını gözlemlemişlerdir. Nötr ağartma toprağı kullanıldığında ortalama 1.75 mg/kg 3-MCPD, asitle aktive ağartma toprağı kullanıldığında ise 1.55 mg/kg 3-MCPD konsantrasyonu olduğunu tespit etmişlerdir. Asit aktive ağartma toprağı kullanıldığında %11 oranında bir azalma olduğunu gözlemlemişlerdir. Ağartma parametrelerini, 95°C sıcaklık ve 30 dakika işlem süresi, kullanılan ağartma toprağı miktarını %1 olarak bildirmişlerdir. 3-MCPD ester oluşumundaki azalmanın deodorizasyon öncesinde öncül maddelerin degumming ve ağartma sırasında uzaklaştırılması ya da azaltılması ile ilgili olabileceğini belirtmişlerdir.

Vispute ve ark. (2018), 3-MCPD ve GE oluşumunu azaltmak için degumming sırasında düşük konsantrasyonlu asit kullanımı ve asidik ağartma toprağı yerine doğal tipte bir ağartma toprağı kullanımını denemişlerdir. Özellikle, asitle aktive olan ağartma toprağı kullanıldığında GE içeriğinin GE'nin moleküler halka açılma reaksiyonu sonucu gliserol mono-palmitat, gliserol palmitat oleat ve gliserol dipalmitata dönüştüğü ve adsorpsiyon yerine dönüşüm sonucu azaldığı ifade edilmiştir.

Deodorizasyon basamağı sıcaklığa bağlı olan GE oluşumu için en kritik parametre olarak vurgulanmaktadır. GE konsantrasyonunun yağlar uzun süre (> 1 saat) 230°C ila 250°C aralığındaki sıcaklıklara maruz kaldığında üssel olarak arttığı bildirilmiştir (Hrnčirik ve van Dujin 2011, Pudiel ve ark. 2011). Craft ve ark. (2012) yaptıkları çalışmalarında, ağartılmış palm yağının 240°C, 220°C ve 200°C'de deodorize etmişler ve GE konsantrasyonlarındaki değişimleri incelemişlerdir. 240°C'de deodorize edildiğinde GE konsantrasyonunda

önemli bir artış olduğunu; 200°C ve 220°C'deki konsantrasyon 0.4 mg/kg GE iken, 240°C'de %6 oranında bir artışla 1.7 mg/kg GE düzeyine yükseldiğini gözlemlemişlerdir. Ayrıca, GE içeriğinin 250-290°C gibi yüksek sıcaklıklarda ya da 200°C gibi düşük bir sıcaklıkta uzun süre, örneğin 2 saat gibi, uygulanan deodorizasyon işlemi ile uzaklaştırılabileceği ya da degrade olabileceğini önermişlerdir.

Palm ham yağı (RBD), palm meyvesinin mezokarp kısmından fiziksel işlemler ve ekstraksiyonla elde edilen, kimyasal işlem görmemiş bir yağdır. Diğer bitkisel kaynaklı yağlarda olduğu gibi de en önemli bileşeni triaçilgliserollerdir (%98-99 oranında). Bunların dışında serbest yağ asitleri, monoaçilgliseroller, diaçilgliseroller, fosfolipidler, serbest ve esterleşmiş bitkisel steroller, fenolik maddeler, triterpen alkoller, tokoller (tokoferoller, tokotrienoller), hidrokarbonlar (skualen, karotenler vb.), iz metaller (demir, sülfür, bakır vb.), oksidasyon ürünleri, yapışkan maddeler, vakslar, pestisit kalıntıları, tat ve koku bileşenleri gibi minör bileşenleri de içermektedir (Schwartz ve ark. 2008). Bu bileşenlerin kısmen/tamamen yağ bünyesinden uzaklaştırılması ya da miktarlarının belirli düzeye düşürülmesi sonucunda ham yağ insan tüketimi için kabul edilebilir hale gelebilir. Bu amaçla uygulanan fiziksel ya da kimyasal rafinasyon arasındaki temel farklılık fiziksel rafinasyonda serbest yağ asitleri destilasyon yoluyla ve fosfatitler ile diğer safsızlıklar da deodorizasyon sırasında uzaklaştırılırken, kimyasal rafinasyonda ise serbest yağ asitleri, fosfatitlerin çoğu ve diğer safsızlıkların bir alkali çözeltisi kullanılarak yağdan uzaklaştırılmasıdır. Ancak ham yağın tüketici tarafından kabul edilir özelliklere gelmesi sırasında çeşitli proses bulaşanlarının da oluşması kaçınılmazdır. Palm yağı endüstrisi çevresel etkinin daha az olarak nitelendiği fiziksel rafinasyonu tercih etmektedir (Sulin ve ark. 2020).

RBD palm olein yağında 3-MCPD ve GE miktarının önlenmesi ya da azaltılması amacıyla yapılan bu çalışmada, gerçekleştirilen kimyasal ve fiziksel rafinasyon işleminin etkili olduğu söylenebilmektedir. Degumming, nötralizasyon, ağartma ve deodorizasyon uygulamalarından oluşan kimyasal rafinasyon basamaklarında GE miktarındaki oransal azalma 3-MCPD'ye göre daha fazla olarak gözlenmiştir. GE miktarındaki azalmanın daha yüksek olması, 3-MCPD'nin daha stabil ve kararlı yapıda olduğu ile proses sırasında GE'nin MCPD esterlerine dönüşebildiğini desteklemektedir (Matthäus ve Pudel 2013, Cheng ve ark. 2017, Goh ve ark. 2020, Wong ve ark. 2020). MCPD esterlerinden farklı olarak GE, mevcut klor olmadan oluşabilir. GE oluşumu, yük göçü yoluyla molekül içi yeniden düzenlemeden kaynaklanabildiği gibi (Rahn ve ark. 2011, Destailats ve ark. 2012b, Cheng ve ark. 2017), aktif bir ara ürün olan siklik asiloksonyum iyonu da GE oluşumunda rol oynayabilmektedir (Weißhaar ve ark. 2010). Razak ve ark. (2012) ise, özellikle deodorizasyon basamağında yüksek sıcaklığın (180-260°C) uygulandığı rafinasyon sırasında sıcaklık kaynaklı reaksiyonlar ile hem 3-MCPD hem de GE oluşabildiğine dikkat çekmişlerdir. İncelenen 105 adet ham palm yağının %80'inde 3-MCPD esterlerinin bulunmadığını, ancak rafinasyon sonrasında palm yağlarının sadece %1'inde tespit sınırının altında 3-MCPD ester değerini belirlemişlerdir. Bununla birlikte, MCPD yağ asidi esterleri TAG, DAG ve MAG asiloksonyum iyonu ya da epoksit gibi ara madde oluşturması ile klorür iyonlarının ester veya hidroksil grubu taşıyan karbona doğrudan nükleofilik saldırısı sonucunda da meydana gelmektedir (Rahn ve ark. 2011, Šmidrkal ve ark. 2016). Ermacora ve ark. (2014), MCPD esterleri ve GE oluşumunun aynı anda meydana gelen birden fazla rekabetçi reaksiyonun sonucu olduğunu, aynı grup arasında



bir dizi kloropropanol türü oluşturan bir rekabet olsa bile, ne kısmi açilgliserol ne de klorlu bileşiğin termal ısıtma üzerine oluşan MCPD ester seviyesiyle sıkı bir şekilde ilişkilendirilemediğini de ifade etmektedirler.

Matthäus ve ark. (2011b) ise, 3-MCPD esterlerini ve GE'yi azaltmak için düşük deodorizasyon sıcaklığını (200°C'de 120 dakika) takiben daha yüksek sıcaklığın (250°C 5 dakika) ya da tam tersinin uygulanması şeklindeki "çift (dual) koku giderme" işleminin geleneksel (tek aşamalı) koku gidermeye göre, 3-MCPD esterleri ve ilgili bileşiklerde yaklaşık % 80'lik bir azalma sağladığını belirtmişlerdir.

3-MCPD ve GE oluşumunda öncül madde ve koşulların detaylı olarak incelenmesiyle birlikte bazı araştırmacılar, özellikle klorin, kısmi açilgliseroller ve serbest yağ asitleri gibi öncüllerin palm yağında nasıl azaltılacağı ya da uzaklaştırılacağı hususuna odaklanmışlardır. Yetiştirme aşamasında klorür içeren gübre kullanılmaması, sulama suyunun klor içeriğinin düzenlenmesi, hasat sırasında dış kabuğu zarar görmüş ve lipaz aktivitesi başlamış meyvelerin yağa işlenmemesi, ham yağda lipaz aktivitesini engellemek için uygulanan sıcaklık uygulamasının 120°C'nin altında olması, ham yağın eldesi için kullanılan ekipmanlardan olası klorür bulaşmasının engellenmesi ile hekzan gibi solvent ekstraksiyon yöntemi ile yağın alınması rafinasyon öncesi için dikkat edilecek konulardır. Bununla birlikte, bazı araştırmacılar da MCPD esterlerin ve GE'in oluşumunda rol alan öncülleri uzaklaştırmak ya da miktersal olarak azaltmak için daha çok operasyon prosedürlerinin, özellikle yetiştirme, yağ ekstraksiyonu/sterilizasyon, rafinasyon ve depolama aşamalarında yeni uygulamaların geliştirilmesi üzerinde yoğunlaşmıştır (Sulin ve ark. 2020). İlk aşama ham yağ eldesinden önce ezme sırasında klor içermeyen suyun kullanılma ya da meyve yüzeyindeki pestisit ve gübre kalıntısının yıkanması ile öncülerin uzaklaştırılmasıdır. İkinci aşama uygun ezme yöntemi ve degumming için koşulların seçilmesidir. Üçüncü ve son aşama da istenmeyen reaksiyonları en aza indirmek ve 3-MCPD ile GE'nin uzaklaştırılmasını en etkin düzeyde gerçekleştirmek için optimum deodorizasyon sıcaklığının belirlenmesidir. Bitki büyümek için topraktan su ve besin elementlerini bünyesine almaktadır. Kullanılan gübre ve sulama suyu palm meyvesi için klorür kaynağıdır. Palm meyvesinde klorür içeren bileşik miktarı, toprak tipi, büyüme koşulları ve genotipe bağlıdır. Bu nedenle, aşırı miktarda klor içeren gübre, böcek ilacı ve klorlu sulama suyu gibi maddelerin kullanımını en aza indirmek yetiştirme sırasında MCPD öncüllerini uzaklaştırmak için önerilmektedir (Matthäus ve ark. 2011b). Meyvenin DAG, MAG ve serbest yağ asitleri içeriği mezokarpın içindeki TAG yine mezokarp içindeki lipaz enzimi tarafından hidrolize edildiğinde artmaktadır. Meyve olgunlaştıkça ekzokarp yumuşamakta ve lipaz daha aktif hale gelmektedir. Ayrıca, lipaz aktivitesi uygun olmayan toplama, istifleme ve taşıma koşullarında da artmaktadır (Sambanthamurthi ve ark. 2000). FFA içeriğini en aza indirmek için palm meyvesi aşırı olgunlaşmadan önce hasat edilmeli ve meyveyi zedeleden demet halinde bağlanmalıdır. Demetler lipaz enzim inaktivasyonu için en az 70°C'de 40 dakika kadar ısıtılmalıdır (Shehu ve ark. 2019), ancak endüstriyel uygulamalarda bu sıcaklık 140°C'de 75-90 dakika arasındadır. Cheng ve ark. (2017), sıcaklığın MCPD esterlerinin 120°C ve daha yüksek sıcaklıklarda oluşması nedeniyle 120°C ya da düşük olmasını önermektedirler. Matthäus ve ark. (2011a), ham yağı 25:75 su-etanol ile yıkamanın, ısıtılardan sonra 3-MCPD ester oluşumunu yaklaşık %30 azalttığını ancak GE miktarının ise neredeyse hiç değişmediğini bildirmişlerdir. Ham yağın çözügen ile yıkanması maliyet, düşük yağ verimi ve fosfolipidler ya da diğer bileşenler kaynaklı emülsifikasyon nedeniyle yağın zor ayrılması gibi dezavantajlara da sahiptir. Mekanik olarak gerçekleşen yağ



ekstraksiyon işleminin bifazik polar çözügen (örneğin hekzan-su karışımı) yardımıyla yapılmasının 3-MCPD diester içeriğini azaltılabileceği bildirilmiştir (Matthäus ve Pudiel 2014). Ancak bu ekstrakte yağın tüketici tarafından kabuledilebilirliği toksisite ve hekzanın yüksek patlayıcılığı gibi güvenilirlik sorunları nedeniyle düşüktür.

İncelenen literatür ve sanayi uygulamaları dikkate alınarak planlanan bu çalışmada, ithal edilmeden önce üretim sırasında ön rafinasyon (ağartma ve deodorizasyon) uygulanan ham palm yağında nihai tüketici taleplerine göre 3-MCPD ve GE miktarını azaltmak amacıyla gerçekleştirilen rafinasyon parametrelerinin optimize edilmesi amaçlanmıştır. Seçilen parametrelere göre, 3-MCPD miktarının azaltılması hedeflendiğinde RBD yağdaki 3-MCPD miktarı ile karşılaştırıldığında en fazla azalma %69.91 ile nötralize edilmeyerek, nötr ağartma toprağı kullanılarak ve 230<sup>0</sup>C'de deodorize edilerek yapılan proses parametrelerinin olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, daha kararsız yapıda olan GE miktarının azaltılması hedeflendiğinde ise RBD yağdaki GE miktarı ile karşılaştırıldığında en fazla azalma %93.85 ile nötralize edilmeyerek, asit aktive ağartma toprağı kullanılarak ve 230<sup>0</sup>C'de deodorize edilerek yapılan proses parametreleri kullanılmalıdır.

Sonuç olarak, 3-MCPD ve GE önemli proses kontaminantlarıdır. 3-MCPD ve GE yalnızca palm yağına özgü bir risk olmayıp; kötü hammaddenin özensiz ya da yetersiz teknolojiyle işlenmesi durumunda oluşmaktadır. Mevcut çalışmalar 3-MCPD ve GE oluşumunun azaltma stratejisinin geliştirilmesi için klorür, DAG, MAG gibi öncülerin uzaklaştırılması ile sıcaklık ve pH gibi parametrelerin optimizasyonunun gerekliliğini vurgulamaktadır. Ancak uzaklaştırma ya da azaltma stratejileri hammaddeden başlayarak nihai tüketiciye kadar olan tüm palm yağı üretim zinciri için planlanmalıdır. Çalışmamıza dayalı olarak benimsenebilecek en iyi uygulama senaryosu birkaç adımdan oluşmaktadır. İlk aşama, yağın ekstraksiyonundan önce öğütme aşamasında öncü maddelerin uzaklaştırılması ya da minimize edilmesidir; yıkama için serbest klor içermeyen suyun kullanılması ya da herhangi bir pestisit ile gübre kalıntısının yıkama sırasında uzaklaştırılması gibi. İkinci adımda degumming için uygun ekstraksiyon yöntem ve koşulları seçilmelidir. Son aşama ise, istenmeyen reaksiyonları ve 3-MCPD ile GE oluşumunu/miktarını en aza indirmek için optimum deodorizasyon sıcaklık ve süresinin belirlenmesidir.

## Teşekkür Bilgi Notu

Çalışma kapsamında palm yağı örneklerini temin eden Sayın Okan MERAL'e ve analizlerin gerçekleştirilmesi hususunda desteğini esirgemeyen Bursa Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü'nden Sayın Orhan EREN'e ve Dr. Müge NEBİOĞLU'na teşekkür ederiz.

## Kaynakça

- Akinola, F.F., Oguntibeju, O.O., Adisa, A.W. and Owojuyigbe, O.S. 2010. Physico-chemical properties of palm oil from different palm oil local factories in Nigeria. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 8(3&4): 264-269.
- Akusu, M.O., Achinewhu and S.C., Mitchell, J. 2000. Quality attributes and storage stability of locally and mechanically extracted crude palm oils in selected communities in Rivers and Bayelsa states, Nigeria. *Plant Foods and Human Nutrition*, 55(2):119-126.
- Bakhiya, N., Abraham, K., Gürtler, R., Appel, K.E. and 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, F.B.P. and Zhao, T.A. 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.
- Berger, K.G. 2003. Palm kernel oil. In: Trugo, L. and Finglas, P.M. (Eds.), *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, 2nd Edition, Academic Press, Maryland, USA, pp: 4322-4324.
- Berger, K.G. 2005. The use of palm oil in frying. *Frying oil series*. Malaysian Palm Oil Promotion Council (MPOPC). <http://www.mpoc.org> (Erişim tarihi: 16.08.2019)
- Berger, K.G. and Martin, S.M. 2000. Palm oil. In: Kiple, K.F. and Ornelas K.C. (Eds.), *The Cambridge World History of Food*, Cambridge University Press, UK, pp: 397-411.
- Bin Ismail, R. 2005. Palm oil and palm olein frying applications. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 4(4): 414-419.
- Buhrke, T., Frenzel, F., Kuhlmann, J. and Lampen, A. 2015. 2-Chloro-1,3-propanediol (2-MCPD) and its fatty acid esters: cytotoxicity, metabolism, and transport by human intestinal Caco-2 cells. *Archives in Toxicology*, 89: 2243-2251.
- Cheng, W., Liu, G. and Liu, X. 2017a. Effects of Fe<sup>3+</sup> and antioxidants on glycidyl ester formation in plant oil at high temperature and their influencing mechanism, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65: 4167-4176.
- Cheng, W., Liu, G., Wang, L. and Liu, Z. 2017b. Glycidyl fatty acid esters in refined edible oils: A review on formation, occurrence, analysis, and elimination methods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16: 263-281.
- Choudhary, M. and Grover, K. 2019. Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) oil. In: Ramadan, M. (Ed.), *Fruit Oils: Chemistry and Functionality*, Springer Cham, Switzerland, pp: 789-802.
- Čmolík, J. and Pokorný, J. 2000. Physical refining of edible oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 102(7): 472-486.

- Codex Alimentarius. 1999. FAO/WHO Codex Standard for Named Vegetable Oils. <http://www.fao.org/3/y2774e/y2774e04.htm>- (Erişim Tarihi: 29.08.2019).
- Corley, R.H.V. and Tinker, P.B. 2015. The Oil Palm. 5<sup>th</sup> edition. Wiley Blackwell, UK, 627 p.
- Craft, B.D., Chiodini, A., Garst, J. and Granvogl, M. 2013. Fatty acid esters of monochloropropanediol (MCPD) and glycidol in refined edible oils. Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment, 30(1): 46-51.
- Craft, B.D., Nagy, K., Sandoz, L. and 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 Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment, 29(3): 354-361.
- DGF-Einheitsmethoden C-VI 18 (10). 2009. Standard Method C-VI 18 (10) Fatt-acid-bound 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) and 2,3-epoxipropane-1-ol (glycidol). Determination in oils and fats by GC/MS (Differential measurement). Deutsche Einheitsmethoden zur Untersuchung von Fetten, Fettprodukten, Tensiden und verwandten Stoffen, 2011.
- EFSA. 2016. Risks for human health related to the presence of 3- and 2-monochloropropanediol (MCPD), and their fatty acid esters, and glycidyl fatty acid esters in food. EFSA Journal 14.5 (2016): e04426 (Erişim tarihi: 17.07.2019)
- EFSA. 2017. Update of the risk assessment on 3-monochloropropane diol and its fatty acid esters. <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/5083>- (Erişim tarihi: 17.07.2019)
- EFSA. 2018a. Revised safe intake for 3-MCPD in vegetable oils and food. <https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/180110>- (Erişim tarihi: 17.07.2019)
- EFSA. 2018b. Process contaminants in vegetable oils and foods. <https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/process-contaminants-vegetable-oils-and-foods>- (Erişim tarihi: 21.08.2019)
- EUFIC. 2019a. Palm Oil (Q&A). <https://www.eufic.org/en/whats-in-food/article/palm-oil-qa>- (Erişim Tarihi: 20.08.2019).
- EUFIC. 2019b. 8 Facts About Fats. <https://www.eufic.org/en/whats-in-food/article/8-facts-on-fats>- (Erişim Tarihi: 20.08.2019).
- FAO. 1996. Rome Declaration on World Food Security, World Food Summit, 13-17 November, Rome, Italy, [www.fao.org/wfs/index\\_en.htm](http://www.fao.org/wfs/index_en.htm) (Erişim Tarihi: 15.08.2019).
- FAO. 2016. Oil Bearing Plants Production and Processing. <http://www.fao.org/faostat/en/#data> (Erişim Tarihi: 15.08.2019).
- Franke, K., Strijowski, U., Fleck, G. and Pudiel, F. 2009. Influence of chemical refining process and oil type on bound 3-chloro-1,2-propanediol contents in palm oil and rapeseed oil. Food Science and Technology, 42: 1751-1754.

- Gibon, V. 2012. Palm oil and palm kernel oil refining and fractionation technology. In: Lai, O.M., Tan, C.P., Akoh, C.C. (Eds.), *Palm Oil Production, Processing, Characterization, and Uses*, pp. 329-375
- Gibon, V., De Greyt, W. and Kellens, M. 2007. Palm oil refining. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109 (4): 315-335.
- Grosse, Y., Baan, R., Secretan-Laubay, B., El-Ghissassi, F., Bouvard, V., Benbrahim-Tallaa, L., Guha, N., Islami, F., Galichet, L., Straif, K. 2011. Carcinogenicity of chemicals in industrial and consumer products, food contaminants and flavourings, and water chlorination byproducts. *Lancet Oncology*, 12: 328-329.
- Hamlet, C.G., Asuncion, L., Velisek, J., Dolezal, M., Zelinkova, Z. and Crews, C. 2011. Formation and occurrence of esters of 3-chloropropane-1,2-diol (3-CPD) in foods: What we know and what we assume. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113: 279-303.
- Hamm, W., Hamilton, R.J. and Calliauw, G. 2013. *Edible Oil Processing*, 2nd Edition, Wiley-Blackwell, UK, 342 p.
- Hrnčirík, K. and van Duijn, G. 2011. An initial study on the formation of 3-MCPD esters during oil refining. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113(3): 374-379.
- IARC. 2000. Some Industrial Chemicals. In: *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Volume 7*, Lyon, France, pp: 469-486.
- IARC. 2012. 3-Monochloro-1,2-propanediol. In: *International Agency for Research on Cancer Monographs on Some Chemicals Present in Industrial and Consumer Products, Food and Drinking-water, Volume 101*, Lyon, France, 349-374.
- Imoisi, O.B., Ilori, G.E., Agho, I. and Ekhaton, J.O. 2015. Palm oil, its nutritional and health implications (Review). *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 19(1): 127-133.
- JECFA. 2016. Evaluation of Certain Contaminants in Food: Eighty-third Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee On Food Additives, Rome. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254893/9789241210027-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (Erişim Tarihi: 15.08.2019).
- Knutsen, H.K., Alexander, J., Barregård, L., Bignami, M., Brüschweiler, B., Ceccatelli, S., Cottrill, B., Dinovi, M., Edler, L., Grasl-Kraupp, B., Hoogenboom, L. (Ron) ., Nebbia, C.S., Oswald, I.P., Petersen, A., Rose, M., Roudot, A., Schwerdtle, T., Vleminckx, C., Vollmer, G., Wallace, H., Lampen, A., Morris, I., Piersma, A., Schrenk, D., Binaglia, M., Levorato, S., and Hogstrand, C. 2018. Update of the risk assessment on 3-monochloropropane diol and its fatty acid esters. *EFSA Journal* 16(1): 5083. <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.2903/j.efsa.2018.5083> (Erişim Tarihi: 15.08.2019).
- Kuntom, A., and Kifli, H. 1998. Properties of soaps derived from distilled palm stearin and palm kernel fatty acids. *Journal of Surfactants and Detergents*. 1: 329-334.
- Lai, O.M., Lo, S.K. and Akoh C.C. 2012. Enzymatic and chemical modification of palm oil, palm kernel oil, and its fractions. In: Lai, O.M., Tan, C.P., and Akoh, C.C. (Eds.), *Palm Oil Production, Processing, Characterization, and Uses*, AOCS Press, Urbana, USA, pp: 527-545.

- Lai, O.M., Tan, C.P. and Akoh, C.C. 2015. Palm Oil Production, Processing, Characterization, and Uses. Academic Press and AOCS Press, Urbana, USA, 846 p.
- Larsen, J.C. 2009. 3-MCPD esters in food products. ILSI Europe Report Series. Summary Report of a Workshop held in February 2009 in Brussels, Belgium. 36 p. <https://ilsi.org/mexico/wp-content/uploads/sites/29/2016/09/3-MCPD-Esters-in-Food-Products.pdf> (Erişim tarihi: 14.08.2019)
- Masukawa, Y., Shiro, H., Kondo, N. and Kudo, N. 2011. Generalized method to quantify glycidol fatty acid esters in edible oils. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 88: 15-21.
- Matthäus, B. 2007. Use of palm oil for frying in comparison with other high-stability oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109: 400-409.
- Matthäus, B., Lacoste, F. and Brühl, L. 2016. Contaminants in edible fats and oils—fresh news. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 118(3): 337-338.
- Matthäus, B. and Pudel, F. 2013. Mitigation of 3-MCPD and glycidyl esters within the production chain of vegetable oils especially palm oil. *Lipid Technology*, 25(7): 151-155.
- Matthäus, B. and Pudel, F. 2014. Mitigation of MCPD and glycidyl esters in edible oils. In: *Processing Contaminants in Edible Oils*, pp. 23-55.
- Matthäus, B., Pudel, F., Fehling, P., Vosmann, A. and Freudenstein, A. 2011a. 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., Freudenstein, K., Brühl, L., Pudel, F., Fehling, P., Rudolph, T., Granvogl, M., Schieberle, P., Franke, K., Strijowski, U. 2011b. Final Report: Investigations on the Formation of 3-Monochloropropane-1,2-diol Fatty Acid Esters (3-MCPD Esters) in Vegetable Oils and Development of Minimization Strategies. Research Association of the German Food Industry, Bonn, Germany.
- Michels, N., Specht, I.O., Heitmann, B.L., Chajès, V., Huybrechts, I. 2020. Dietary trans-fatty acid intake in relation to cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Nutrition Reviews*, 0(0): 1-19.
- Özdikicierler, O., Yemişcioğlu, F. and Gümüşkesen, A.S. 2016. Effects of process parameters on 3-MCPD and glycidyl ester formation during steam distillation of olive oil and olive pomace oil. *European Food Research and Technology*, 242: 805-813.
- Pande, G., Akoh, C.C. and Lai, O.M. 2012. Food uses of palm oil and its components. In: Lai, O.M., Tan, C.P., and Akoh, C.C. (Eds.), *Palm Oil Production, Processing, Characterization, and Uses*, AOCS Press, Urbana, USA, pp: 561-587.
- Paterson, R.R.M. and Lima, N. 2018. Climate change affecting oil agronomy, and oil palm cultivation increasing climate change, require amelioration. *Ecology and Evolution*, 8: 452-461.
- Pudel, F., Benecke, P., Fehling, P., Freudenstein, A., Matthäus, B. and 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(3): 368-373.

- Rahn, A.K.K. and Yaylayan, V.A. 2011. What do we know about the molecular mechanism of 3-MCPD ester formation? *European Journal of Science and Technology*, 113(3): 323-329.
- Ramli, M.R., Siew, W.L., Ibrahim, N.A., Hussein, R., Kuntom, A., Abd Razak, R.A. and Nesaretnam, K. 2011. Effects of degumming and bleaching on 3-MCPD esters formation during physical refining. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 88(11): 1-7.
- Ramli, M.R., Siew, W.L., Ibrahim, N.A., Kuntom, A. and Abd Razak, R.A. 2015. Other factors to consider in the formation of chloropropanediol fatty esters in oil processes. *Food Additives and Contaminants – Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 32(6): 817-824.
- Sevindirici, G., Özdikicierler, O. and Yemişçiöğlü, F. 2016. Rafine bitkisel yağlarda 3-MCPD ve GE riski: Yapısı, oluşum mekanizması, yasal düzenlemeleri ve azaltılma yöntemleri. *Gıda* 43(5): 886-895.
- Shimizu, H. and Desrochers, M. 2012. The health, environmental and economic benefits of palm oil. *Institut Economique Molinari Economic Note*: 4 pp. [https://www.institutmolinari.org/IMG/pdf/note0912\\_en.pdf](https://www.institutmolinari.org/IMG/pdf/note0912_en.pdf) (Erişim Tarihi: 01.09.2019)
- Shimizu, M., Moriwaki, J., Shiiba, D., Nohara, N., Kudo, N., Katsuragi, Y. 2012. Elimination of glycidyl palmitate in diolein by treatment with activated bleaching earth. *Journal of Oleo Science*, 61: 23-28.
- Sundram, K., Sambanthamurthi, R. and Tan, Y.A. 2003. Palm fruit chemistry and nutrition. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 12(3): 355-362.
- Sahin, O.I., Aka, A., Akpınar-Bayizit, A., Baltaş-Minas, E. 2010. Sofralık zeytin üretim tesislerinde gıda güvenliği yönetim sisteminin uygulanması. *U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 24(1): 11-24.
- Smith, B.K., Robinson, L.E., Nam, R., Ma, D.W.L. 2009. Trans-fatty acids and cancer: a mini-review. *British Journal of Nutrition*, 102: 1254-1266.
- Vinikoor, L.C., Satia, J.A., Schroeder, J.C., Millikan, R.C., Martin, C.F., Ibrahim, J.G., Sandler, R.S., 2009. Associations Between Trans Fatty Acid Consumption and Colon Cancer Among Whites and African Americans in the North Carolina Colon Cancer Study I. *Nutrition and Cancer*, 61: 427-436.
- Vinikoor, L.C., Millikan, R.C., Satia, J.A., Schroeder, J.C., Martin, C.F., Ibrahim, J.G., Sandler, R.S. 2010. Trans-fatty acid consumption and its association with distal colorectal cancer in the North Carolina Colon Cancer Study II. *Cancer Causes Control*, 21(1): 171-180.
- Waisundara, V.Y. 2018. Multifaceted perspectives of palm oil. In: Waisundara, V.Y. (Ed.), *Palm Oil*, Intechopen, London, UK, pp: 186-477.
- Weißhaar, R. and Perz, R. 2010. Fatty acid esters of glycidol in refined fats and oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112(2): 158-165.
- Zhang, H., Jini P., Zhang, M., Cheong, L.Z., Hu, P., Zghao, Y., Yu, L., Wang, Y. and Jiang, Y. 2013. Free radical mediated formation of 3-monochloropropanediol (3-MCPD) fatty acid diesters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61: 2548-2555.

Zulkurnain, M., Lai, O.M., Latip, R.A., Nehdi, I.A., Ling, T.C. and Tan, C.P. 2012. The effects of physical refining on the formation of 3-monochloropropane-1,2-diol esters in relation to palm oil minor components. *Food Chemistry*, 135: 799-805.

Zschau, W. 2001. Bleaching of edible fats and oils. Cooperative work of the German Society for fat science (DGF). *Eur. Journal of Lipid Science and Technology*, 103: 505-551.