



EGE ÜNİVERSİTESİ

DOKTORA TEZİ

ZEYTİNYAĞI VE PİRİNA YAĞINDA 3-MCPD OLUŞUMU ÜZERİNE SU BUHARI DİSTİLASYON KOŞULLARININ ETKİSİ

Onur ÖZDİKİCİLER

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Aytaç SAYGIN GÜMÜŞKESEN

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu : 614.01.00

Sunuş Tarihi : 02.09.2016

Bornova-İZMİR

2016

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(DOKTORA TEZİ)

**ZEYTİNYAĞI VE PİRİNA YAĞINDA 3-MCPD OLUŞUMU
ÜZERİNE SU BUHARI DİSTİLASYON KOŞULLARININ
ETKİSİ**

Onur ÖZDİKİCİLER

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Aytaç SAYGIN GÜMÜŞKESEN

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Sunuş Tarihi : 02.09.2016

Bornova-İZMİR

2016

Onur ÖZDİKİCİLERLER tarafından doktora tezi olarak sunulan “Zeytinyağı Ve Pirina Yağında 3-MCDP Oluşumu Üzerine Su Buharı Distilasyon Koşullarının Etkisi” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 02.09.2016 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı :

Raportör Üye :

Üye :

Üye :

Üye :

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Doktora Tezi olarak sunduğum “Zeytinyağı ve Pirina Yağında 3-MCPD Oluşumu Üzerine Su Buharı Distilasyon Koşullarının Etkisi” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

06.09.2016

Onur ÖZDİKİCİLER

ÖZET**ZEYTİNYAĞI VE PİRİNA YAĞINDA 3-MCPD OLUŞUMU
ÜZERİNE SU BUHARI DİSTİLASYON KOŞULLARININ ETKİSİ**

ONUR ÖZDİKİCİLER

Doktora Tezi, Gıda Mühendisliği Bölümü
Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Aytaç SAYGIN GÜMÜŞKESEN
Ağustos 2016, 110 sayfa

Bitkisel yağlara uygulanan rafinasyon işlemi, ham yağlarda bulunan istenmeyen maddelerin uzaklaştırılması veya miktarlarının kabul edilebilir düzeylere indirilmesini amaçlamaktadır. Rafinasyon işlemi; kimyasal ve fiziksel olarak iki farklı yöntem ile uygulanmaktadır. Kimyasal rafinasyon; yapışkan maddelerin giderilmesi, alkali çözeltileri kullanılarak asitlik giderme, renk açma ve deodorizasyon kademelerinden oluşmaktadır. Fiziksel rafinasyonda ise yapışkan maddelerin giderilmesinden sonra renk açma işlemi gerçekleştirilmekte, son kademede su buharı distilasyonu yöntemi ile asitlik giderme ve deodorizasyon işlemleri aynı işlem kademesinde yapılmaktadır. Fiziksel rafinasyonun son aşaması olan su buharı distilasyonu sırasında uygulanan yüksek sıcaklık nedeniyle yağların yapısında istenmeyen reaksiyonlar meydana gelebilmekte, 3-monokloropropan 1, 2-diol (3-MCPD) esterleri ve glisidil esterleri gibi proses bulaşanı olarak tanımlanan toksik bileşenler oluşabilmektedir.

Bu çalışmada; zeytinyağı ve pirina yağına uygulanan su buharı distilasyonu işlem parametrelerinin (sıcaklık, basınç ve su miktarı), 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri oluşumu üzerindeki etkisinin belirlenmesi ve işlem parametrelerinin en düşük 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri oluşumuna neden olacak şekilde optimize edilmesi amaçlanmıştır. Bir rafinasyon tesisinden rengi açılmış zeytinyağı ve ön asitlik giderme işlemi ve renk açma işlemi uygulanmış pirina yağı temin edilmiş, bu yağların bazı kimyasal özellikleri ile 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri içerikleri belirlenmiştir. Zeytinyağında 3-MCPD esterleri tespit edilmemiş, pirina yağında ise 4,1mg/kg 3-MCPD esterleri ve 0,3mg/kg glisidil esterleri saptanmıştır.

Su buharı distilasyonu işlemi; işlem sıcaklığının, basıncının ve sürükleyici buhar olarak kullanılacak suyun debisinin ayarlanabildiği laboratuvar ölçekli bir düzenekte, Box-Behnken deneme dizaynına göre belirlenen koşullarda gerçekleştirilmiş, cevap olarak yağ örneklerinin 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri miktarları belirlenmiştir.

Su buharı distilasyon koşullarının 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri oluşumuna etkisi, Design Expert programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Çalışmanın ikinci aşamasında işlem parametreleri, Cevap Yüzey Metodu kullanılarak en düşük 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri oluşturacak şekilde optimize edilmiştir.

Su buharı distilasyonunda sıcaklığın, zeytinyağında 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri oluşumunu, pirina yağında ise 3-MCPD esterleri oluşumunu istatistiksel olarak önemli düzeyde etkilediği belirlenmiştir ($P<0,05$). Su buharı distilasyonunda uygulanan basıncın ve su miktarının ise 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri oluşumunda istatistiksel olarak önemli bir etkisi olmadığı saptanmıştır ($P>0,05$).

Su buharı distilasyonunda en düşük düzeyde 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri oluşumunun sağlandığı optimum işlem koşulları; zeytinyağı için; 230°C sıcaklık, 4mbar basınç ve 1,2ml su/dak sürükleyici buhar üretimi için gerekli olan su miktarı olarak belirlenmiştir. Pirina yağı için optimum işlem koşulları; 230°C sıcaklık, 2mbar basınç ve 1 ml su/dak sürükleyici buhar üretimi için gerekli olan su miktarı olarak saptanmıştır.

Anahtar Sözcükler: 3-MCPD, glisidil esterleri, zeytinyağı, pirina yağı, buhar distilasyonu, Cevap Yüzey Metodu

EFFECTS OF PROCESS PARAMETERS ON 3- MCPD AND GLYCIDYL ESTER FORMATION DURING STEAM DISTILLATION OF OLIVE OIL AND OLIVE POMACE OIL

ONUR ÖZDİKİCİLER

PhD Thesis, Food Engineering Department
Supervisor: Prof. Dr. Aytaç SAYGIN GÜMÜŞKESEN
August 2016, 110 pages

ABSTRACT

The objective of refining, which is applied to vegetable oils, is to remove or reduce undesired substances and impurities in crude oils. Oil refining is applied by chemical or physical means. Chemical refining consists of degumming, alkali neutralization, bleaching and deodorization operations. In physical refining, degummed and bleached oils are subjected to steam distillation; where neutralization and deodorization steps are carried out in same operation as a last step. Elevated temperature might yield in undesired side reactions and formation of process contaminants such as 3-monochloropropane 1,2 diol (3-MCPD) and glycidyl esters, which are known as toxic contaminants during steam distillation process.

The aim of this study is to determine the effects of process parameters (temperature, pressure and water flow rate) on formation of bound 3-MCPD and glycidyl esters during steam distillation of olive oil and olive pomace oil. Besides; optimization of these process parameters to minimize the bound 3-MCPD and glycidyl ester formation stands to be as another goal of this study. For this purpose; bleached olive oil and deacidified/bleached olive pomace oil were obtained from a local refining plant. Bleached oils are analyzed to determine basic chemical characteristics and bound 3-MCPD and glycidyl esters contents. Results showed that bound 3-MCPD and glycidyl esters were not detected in olive oil; whereas bleached pomace oil contained 4,1mg/kg bound 3-MCPD and 0,3mg/kg glycidyl esters; initially.

Steam distillation operations were carried out in a laboratory scale steam distillation equipment in which process temperature, pressure and

water flow rate of stripping steam were adjustable. Experiment sets were designed by using Box-Behnken methodology. Bound 3-MCPD and glycidyl esters contents were chosen as responses of experimental design.

The effect of steam distillation process parameters on bound 3-MCPD and glycidyl esters formation were determined by using Design-Expert software. Process parameters were optimized using Response Surface Methodology to minimize the bound 3-MCPD and glycidyl esters formation.

It was concluded that, temperature was significantly effective on bound 3-MCPD and glycidyl esters formation in olive oil and bound 3-MCPD formation in olive pomace oil during steam distillation ($P < 0,05$). Pressure and water flow rate were found to be ineffective ($P > 0,05$) on formation of bound 3-MCPD and glycidyl esters for steam distillation of both oils.

Optimum steam distillation parameters were determined as 230°C temperature, 4 mbar pressure and 1,2ml/min water flow rate to achieve minimum bound 3-MCPD and glycidyl esters formation for olive oil. Optimum steam distillation parameters for olive pomace oil were predicted as 230°C temperature, 2 mbar pressure and 1 ml/min water flow rate.

Keywords: Bound 3-MCPD, glycidyl esters, olive oil, olive pomace oil, steam distillation, response surface methodology

TEŞEKKÜR

Öncelikle;

Tez çalışmamın hazırlanmasından yazımına kadar tüm aşamalarında desteğini esirgemeyerek, engin bilgi ve deneyiminden yararlanmamı sağlayan değerli tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Aytaç SAYGIN GÜMÜŞKESEN'e,

Bilgi birikimini benimle her zaman paylaşarak tüm tez çalışmam boyunca her zaman yanımda olan ve her konuda desteğini asla esirgemeyen Sayın Yard. Doç. Dr. Fahri YEMİŞÇİOĞLU'na,

Doktora eğitimim boyunca tez izleme kurulunda yer alan ve değerli görüşleriyle bana yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Neriman BAĞDATLIOĞLU'na,

Tez çalışmam devam ederken yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen tüm Öğretim Üyesi hocalarıma, Araştırma Görevlisi ve Teknisyen arkadaşlarıma,

Tez çalışmama finansal destek sunarak çalışmanın gerçekleşmesi için gerekli bütçeyi sağlayan Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK) ve Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Şube Müdürlüğü'ne teşekkürlerimi sunuyorum.

Ayrıca;

Tüm hayatım boyunca desteklerini her an hissettiğim, özveriyle çalışmanın ve üretmenin erdemini öğütleyerek benim başarıyla bu günlere gelmemi sağlayan annem Meral ÖZDİKİCİERLER ve babam Mustafa ÖZDİKİCİERLER'e,

Hayatım boyunca bana her zaman destek olan ve bundan sonra da her konuda destek olacağını bildiğim sevgili kardeşim Emre ÖZDİKİCİERLER ve eşi Tuğba ÖZDİKİCİERLER'e teşekkürler ediyorum.

Son olarak;

Kendi tez çalışmasını da bir yandan yürütürken, benden ilgisini, sevgisini ve desteğini esirgemeyerek gerekli özveriyi sunmakta ve sabrı göstermekte asla çekinmeyen eşim Bedriye ÖZDİKİCİERLER'e,

Tez çalışmamın ortasında ailemize katılarak doğduğu günden bu yana tüm aileye neşe kaynağı olan ve yoğun günlerin sonunda eve gittiğimde gülümseyişiyle tüm yorgunluğumu unutturan oğlum Barış ÖZDİKİCİERLER'e sonsuz teşekkürlerimi sunmak istiyorum. İyi ki varsınız.



İÇİNDEKİLER**Sayfa**

ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
TEŞEKKÜR	xi
İÇİNDEKİLER	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xxi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xxiii
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	3
2.1. 3-MCPD'nin Yapısı ve Oluşum Mekanizması	3
2.2. 3-MCPD'nin ve Glisidil Esterlerinin Sağlık Üzerine Etkileri	5
2.3. 3-MCPD ile İlgili Yasal Düzenlemeler	6
2.4. Ham Yağların Rafinasyonunda İşlem Kademelerinin ve Bazı Gıda İşleme Yöntemlerinin 3-MCPD Oluşumuna Etkisi	7
2.5. Yağlarda 3-MCPD Miktarının Belirlenmesinde Kullanılan Analiz Yöntemleri	12
2.6. Cevap Yüzey Metodu	14

İÇİNDEKİLER (Devam)

	<u>Sayfa</u>
3. MATERYAL VE YÖNTEM	19
3.1. Materyal	19
3.2. Yöntem.....	20
3.2.1. Laboratuvar Ölçekli Su Buharı Distilasyonu İşlemi	20
3.2.2. Analiz yöntemleri.....	25
3.2.2.1. Serbest Yağ Asidi Tayini	25
3.2.2.2. Monoglisericit ve Diglisericit Miktarı Tayini.....	25
3.2.2.3. 3-MCPD ve Glisidil Ester Miktarı Tayini.....	25
3.2.2.4. İstatistiksel Analiz ve Optimizasyon.....	27
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	29
4.1.Zeytinyağı ve Pirina Yağının Genel Kimyasal Özellikleri	29
4.2. Su Buharı Distilasyonunda Sıcaklık ve Süre İlişkisinin Belirlenmesi	30
4.3. Zeytinyağında 3-MCPD Esterleri Oluşumuna Su Buharı Distilasyonu Koşullarının Etkisinin Modellenmesi	31
4.4. Zeytinyağında Glisidil Esterleri Oluşumuna Su Buharı Distilasyonu Koşullarının Etkisinin Modellenmesi	39
4.5. Pirina Yağında 3-MCPD Esterleri Oluşumuna Su Buharı Distilasyonu Koşullarının Etkisinin Modellenmesi	47

İÇİNDEKİLER (Devam)**Sayfa**

4.6. Pirina Yağında Glisidil Esterleri Oluşumuna Su Buharı Distilasyonu Koşullarının Etkisinin Modellenmesi	55
4.7. Zeytinyağı ve Pirina Yağına Uygulanan Su Buharı Distilasyonu İşlem Parametrelerinin Optimizasyonu	56
5. SONUÇ.....	59
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	62
EKLER	69



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Serbest ve yağ asitleri ile esterleşmiş 3-MCPD bileşenin yapısı	3
Şekil 2.2. Trigliserit ve trigliserit türevi olan öncü maddelerden 3-MCPD esterlerinin oluşum mekanizması (Hamlet et al., 2011).	4
Şekil 2.3. Kimyasal ve Fiziksel ve Rafinasyon Akış Şeması	8
Şekil 2.4. Maksimum nokta için (a) cevap yüzey grafiği ve (b) izohips eğrileri ..	16
Şekil 2.5. Minimum nokta için (a) cevap yüzey grafiği ve (b) izohips eğrileri.....	16
Şekil 3.1. Laboratuvar ölçekli su buharı distilasyon düzeneğinin şematik gösterimi	22
Şekil 3.2. İşlem sıcaklığının ayarlanmasında ve sıcaklığın sabit tutulmasında kullanılan elektronik kontrollü termokupl	22
Şekil 3.3. Sürükleyici buhar üretiminde kullanılan medikal tip akış hızı sabitleyici	23
Şekil 3.4. Sistem basıncının ayarlandığı ILMVAC marka yüksek performanslı vakum pompası	23
Şekil 3.5. Laboratuvar ölçekli su buharı distilasyon düzeneği	24
Şekil 3.6. Deneme akışı	24
Şekil 3.7. 3-MCPD Analiz yönteminin akış şeması	26
Şekil 4.1. Su buharı distilasyonu sırasında zeytinyağında 3-MCPD esterleri oluşumu için model tarafından hesaplanan değerlere karşılık deneysel olarak elde edilen sonuçların dağılımı.....	34

ŞEKİLLER DİZİNİ (Devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 4.2. Su buharı distilasyonu sırasında zeytinyağında 3-MCPD esterleri oluşumuna işlem parametrelerinin etkisini gösteren pertürbasyon eğrileri [A-Sıcaklık (°C), B-Su Miktarı (ml/dak), C-Basınç (mbar)]	35
Şekil 4.3. Su buharı distilasyonu sırasında uygulanan sıcaklığın ve su miktarının zeytinyağında oluşan 3-MCPD esterleri miktarına etkisi (üç boyutlu grafik)	36
Şekil 4.4. Su buharı distilasyonu sırasında uygulanan sıcaklığın ve su miktarının zeytinyağında oluşan 3-MCPD esterleri miktarına etkisi (eşyükselti eğrisi).....	36
Şekil 4.5. Su buharı distilasyonu sırasında uygulanan basınçın ve su miktarının zeytinyağında oluşan 3-MCPD esterleri miktarına etkisi (üç boyutlu grafik)	37
Şekil 4.6. Su buharı distilasyonu sırasında uygulanan basınçın ve su miktarının zeytinyağında oluşan 3-MCPD esterleri miktarına etkisi (eşyükselti eğrisi).....	37
Şekil 4.7. Su buharı distilasyonu sırasında uygulanan basınçın ve sıcaklığın zeytinyağında oluşan 3-MCPD esterleri miktarına etkisi (üç boyutlu grafik)	38
Şekil 4.8. Su buharı distilasyonu sırasında uygulanan basınçın ve sıcaklığın zeytinyağında oluşan 3-MCPD esterleri miktarına etkisi (eşyükselti eğrisi).....	38
Şekil 4.9. Su buharı distilasyonu sırasında zeytinyağında glisidil esterleri oluşumu için model tarafından hesaplanan değerlere karşılık deneysel olarak elde edilen sonuçların dağılımı.....	42
Şekil 4.10. Su buharı distilasyonu sırasında zeytinyağında oluşan glisidil esterlerine işlem parametrelerinin etkisini gösteren pertürbasyon eğrileri [A-Sıcaklık (°C), B-Su Miktarı (ml/dak), C-Basınç (mbar)]	43
Şekil 4.11. Zeytinyağının su buharı distilasyonu sırasında uygulanan sıcaklığın ve su miktarının oluşan glisidil esterleri miktarına etkisi (üç boyutlu grafik).....	44

ŞEKİLLER DİZİNİ (Devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 4.12. Zeytinyağının su buharı distilasyonu sırasında uygulanan sıcaklığın ve su miktarının oluşan glisidil esterleri miktarına etkisi (eşyükselti eğrisi)	44
Şekil 4.13. Zeytinyağının su buharı distilasyonu sırasında uygulanan basıncın ve su miktarının oluşan glisidil esterleri miktarına etkisi (üç boyutlu grafik)	45
Şekil 4.14. Zeytinyağının su buharı distilasyonu sırasında uygulanan basıncın ve su miktarının oluşan glisidil esterleri miktarına etkisi (eşyükselti eğrisi)	45
Şekil 4.15. Zeytinyağının su buharı distilasyonu sırasında uygulanan basıncın ve sıcaklığın oluşan glisidil esterleri miktarına etkisi (üç boyutlu grafik)	46
Şekil 4.16. Zeytinyağının su buharı distilasyonu sırasında uygulanan basıncın ve sıcaklığın oluşan glisidil esterleri miktarına etkisi (eşyükselti eğrisi).....	46
Şekil 4.17. Pirina yağında su buharı distilasyonu sırasında 3-MCPD esterleri oluşumu için model tarafından hesaplanan değerlere karşılık deneysel olarak elde edilen sonuçların dağılımı.....	50
Şekil 4.18. Su buharı distilasyonu sırasında pirina yağında oluşan 3-MCPD esterlerine işlem parametrelerinin etkisini gösteren perturbasyon eğrileri [A-Sıcaklık (°C), B-Su Miktarı (ml/dak), C-Basınç (mbar)].....	50
Şekil 4.19. Pirina yağının su buharı distilasyonu sırasında uygulanan sıcaklığın ve su miktarının oluşan 3-MCPD esterleri miktarına etkisi (üç boyutlu grafik).....	52
Şekil 4.20. Pirina yağının su buharı distilasyonu sırasında uygulanan sıcaklığın ve su miktarının oluşan 3-MCPD esterleri miktarına etkisi (eşyükselti eğrisi).....	52
Şekil 4.21. Pirina yağının su buharı distilasyonu sırasında uygulanan basıncın ve su miktarının oluşan 3-MCPD esterleri miktarına etkisi (üç boyutlu grafik).....	53

ŞEKİLLER DİZİNİ (Devam)**Şekil****Sayfa**

Şekil 4.22. Pirina yağının su buharı distilasyonu sırasında uygulanan basıncın ve sıcaklığın oluşan 3-MCPD esterleri miktarına etkisi (eşyükselti eğrisi).....53

Şekil 4.23. Pirina yağının su buharı distilasyonu sırasında uygulanan basıncın ve sıcaklığın oluşan 3-MCPD esterleri miktarına etkisi (üç boyutlu grafik).....54

Şekil 4.24. Pirina yağının su buharı distilasyonu sırasında uygulanan basıncın ve su miktarının oluşan 3-MCPD esterleri miktarına etkisi (eşyükselti eğrisi).....54

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1. Su buharı distilasyonu işleminin koşulları (De Greyt, 2013).....	8
Çizelge 2.2. Yağlarda 3-MCPD miktarının belirlenmesinde kullanılan analiz yöntemleri.....	13
Çizelge 2.3. İstenilirlik fonksiyonlarının standart tahminleme skalası (KOÇ, 2009)	17
Çizelge 3.1. Zeytinyağı ve pirina yağının bazı kimyasal özellikleri	19
Çizelge 3.2. Zeytinyağına uygulanan su buharı distilasyonu ön deneme sonuçları.....	21
Çizelge 3.3. Su buharı distilasyonu parametrelerinin alt ve üst limitleri.....	27
Çizelge 3.4. Su buharı distilasyonu denemelerinde kullanılan Box-Behnken deneme dizaynı	28
Çizelge 4.1. Farklı koşullarda su buharı distilasyonu işlemi uygulanan zeytinyağındaki 3-MCPD esterlerinin miktarı.....	31
Çizelge 4.2. Su buharı distilasyonu sırasında zeytinyağında oluşan 3-MCPD esterleri ile ilgili modelin geliştirilmesi için geriye doğru eleme yöntemi ile çıkarılan terimler.....	32
Çizelge 4.3. Su buharı distilasyonu sırasında zeytinyağında oluşan 3-MCPD esterleri miktarı üzerine işlem parametrelerinin etkisini gösteren matematiksel modelin uyumluluğu ile ilgili değerler	33
Çizelge 4.4. Su buharı distilasyonu işleminde zeytinyağında oluşan glisidil esterleri miktarı	40

ÇİZELGELER DİZİNİ (Devam)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 4.5. Su buharı distilasyonu sırasında zeytinyağında glisidil esterleri oluşumu ile ilgili modelin geliştirilmesi için geriye doğru eleme yöntemi ile çıkarılan terimler.....	41
Çizelge 4.6. Su buharı distilasyonu sırasında zeytinyağında oluşan glisidil esterleri miktarı üzerine işlem parametrelerinin etkisini gösteren matematiksel modelin uyumluluğu ile ilgili değerler.....	41
Çizelge 4.7. Su buharı distilasyonu işlemi sırasında pirina yağında oluşan 3-MCPD esterleri miktarı	47
Çizelge 4.8. Su buharı distilasyonu sırasında pirina yağında 3-MCPD esterleri oluşumu ile ilgili modelin geliştirilmesi için geriye doğru eleme yöntemi ile çıkarılan terimler.....	48
Çizelge 4.9. Su buharı distilasyonu sırasında pirina yağında oluşan 3-MCPD esterleri miktarı üzerine işlem parametrelerinin etkisini gösteren matematiksel modelin uyumluluğu ile ilgili değerler.....	49
Çizelge 4.10. Su buharı distilasyonu sırasında pirina yağında oluşan glisidil esterleri miktarı	55
Çizelge 4.11. Zeytinyağının su buharı distilasyonu için optimum işlem koşulları	56
Çizelge 4.12. Pirina yağının su buharı distilasyonu için optimum işlem koşulları	56
Çizelge 4.13. Zeytinyağı ve pirina yağı için optimum işlem parametrelerinde gerçekleştirilen doğrulama denemelerinde oluşan 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri miktarları	57

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklamalar</u>
3-MCPD	3-monokloropropan 1, 2-diol
R^2	Regresyon katsayısı
R^2_{adj}	Düzeltilmiş regresyon katsayısı
CV	Varyans sabiti
PRESS	Tahminlenmiş kalıntı (artık) hataların kareler toplamı



1. GİRİŞ

Avrupa Komisyonunun Gıda Bilimsel Komitesi ve İngiltere Gıda Danışma Komitesi tarafından 3-MCPD esterleri, miktarı gıdalarda en düşük düzeylere indirilmesi önerilen, genotoksik karsinojen proses kaynaklı bir bulaşan olarak tanımlanmaktadır (EFSA, 2006).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, yağların yapı taşı olan trigliseritlerin parçalanma ürünlerinin yüksek sıcaklıkta ve klor iyonları varlığında, 3-MCPD esterlerinin oluşumuna neden olduğunu vurgulamaktadır. Reaksiyon mekanizması incelendiğinde; yüksek sıcaklıkta trigliseritlerin parçalanma ürünlerinden açiloksonyum iyonlarının ve toksik bir bileşen olan glisidil esterlerinin ara ürün olarak oluştuğu, daha sonra bu bileşiklerin klor iyonları ile reaksiyona girerek 3-MCPD esterlerine dönüştüğü görülmektedir (Pudel et al., 2011).

3-MCPD esterlerinin oluşumunda yüksek sıcaklığın önemli bir etken olduğu göz önünde bulundurulduğunda, bitkisel yağların rafinasyonunda yüksek sıcaklıkların uygulandığı deodorizasyon ve su buharı distilasyonu kademeleri, 3-MCPD esterlerinin oluşumu açısından kritik önem taşımaktadır.

Fiziksel rafinasyonun son kademesi olan su buharı distilasyonunda yağlardaki kötü tat ve koku bileşenlerinin uzaklaştırılmasının yanı sıra yağın serbest yağ asidi içeriğinin de azaltılması amaçlanmaktadır. Bu nedenle su buharı distilasyonu işlemi 230-260°C gibi yüksek sıcaklıklarda, düşük basınçta ve yağa su buharı enjekte edilerek gerçekleştirilmektedir. Uygulanan yüksek sıcaklık, su buharı üretiminde kullanılan suyun klor içeriği, yağlarda 3-MCPD esterleri oluşum riskini artırmaktadır. Rafine edilecek yağların trigliseritlerin parçalanma ürünleri olan monogliserit ve digliseritler gibi bileşenleri yüksek miktarda içermesinin de, 3-MCPD esterleri oluşumunu önemli düzeyde artırdığı saptanmıştır.

Yüksek asitli rafinajlık zeytinyağı ve pirina yağı gibi yağların monogliserit ve digliserit içeriklerinin diğer tohum yağlarına oranla daha yüksek olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, özellikle zeytinyağı ve pirina yağı

için su buharı distilasyonu kademesinin 3-MCPD esterlerinin oluşumu açısından incelenmesi, güncel ve önemli bir araştırma konusudur.

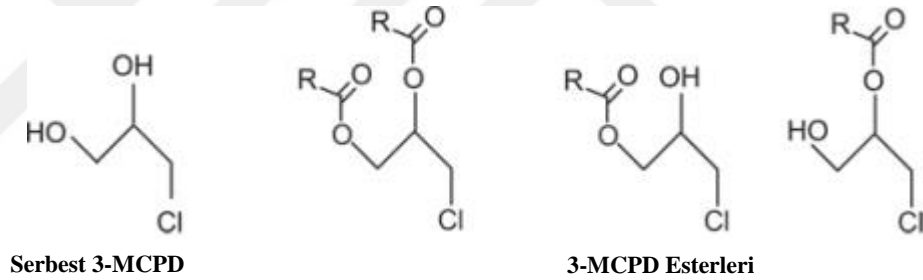
Bitkisel yağlar gıda sanayinde birçok amaçla kullanılan ve insan beslenmesinde önemli bir yer tutan ürün grubudur. Bitkisel ham yağların üretim ve rafinasyon kademeleri; yağların duyusal, fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerinde belirleyici olmaktadır. Ham yağların rafinasyonunda, kimyasal ve fiziksel rafinasyon yöntemleri kullanılmaktadır. Kimyasal rafinasyon; yapışkan maddelerin giderilmesi (degumming), asitlik giderme (nötralizasyon), renk açma, devaksing veya vinterizasyon ve koku giderme (deodorizasyon) kademelerini içermektedir. Fiziksel rafinasyonun birinci kademesini yapışkan maddelerin giderilmesi, ikinci kademesini renk açma işlemi oluşturmakta, bazı yağlarda devaksing veya vinterizasyon işlemi uygulandıktan sonra son kademede asitlik giderme ve deodorizasyon işlemleri aynı süreçte, su buharı distilasyonu ile gerçekleştirilmektedir. Fiziksel rafinasyon işleminin son kademesi olan su buharı distilasyonunda serbest yağ asitlerinin uzaklaştırılması da hedeflendiği için, kimyasal rafinasyonun deodorizasyon aşamasına kıyasla uygulanan sıcaklık daha yüksek, sürükleyici buhar miktarı daha fazla, basınç daha düşük olmaktadır (Shahidi, 2005).

Bu çalışmada; zeytinyağı ve pirina yağının su buharı distilasyonunda işlem parametrelerinin (sıcaklık, basınç ve sürükleyici buhar oluşturmak amacıyla kullanılan su miktarı), 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri oluşumuna etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Su buharı distilasyonu işlem parametreleri, en düşük 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri oluşumu hedef alınarak Cevap Yüzey Metodu ile her iki yağ için optimize edilmiştir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. 3-MCPD'nin Yapısı ve Oluşum Mekanizması

3-MCPD bileşeni ilk olarak, asitle hidrolize edilen sebze proteinlerinde tespit edilmiş, gliseritlerin ve gliserolün hidroklorik asitle reaksiyonu sonucunda oluşan karsinojenik maddeler olarak tanımlanmıştır (Velisek et al., 1980). Araştırma sonuçları, 3-MCPD bileşenin sadece asitle hidrolize edilmiş olan sebze proteinlerinde oluşmadığını, et, süt, yağ ve birçok tahıl ürünüde de gıdaların işlenmesi sırasında oluşabildiğini ortaya koymuştur (Zelinkova et al., 2006). 3-MCPD, gıda matriksi içerisinde serbest halde bulunabildiği gibi yağ asitleri ile esterleşmiş olarak da bulunabilmektedir. Serbest 3-MCPD'nin ve 3-MCPD esterlerinin yapısı Şekil 2.1'de görülmektedir.

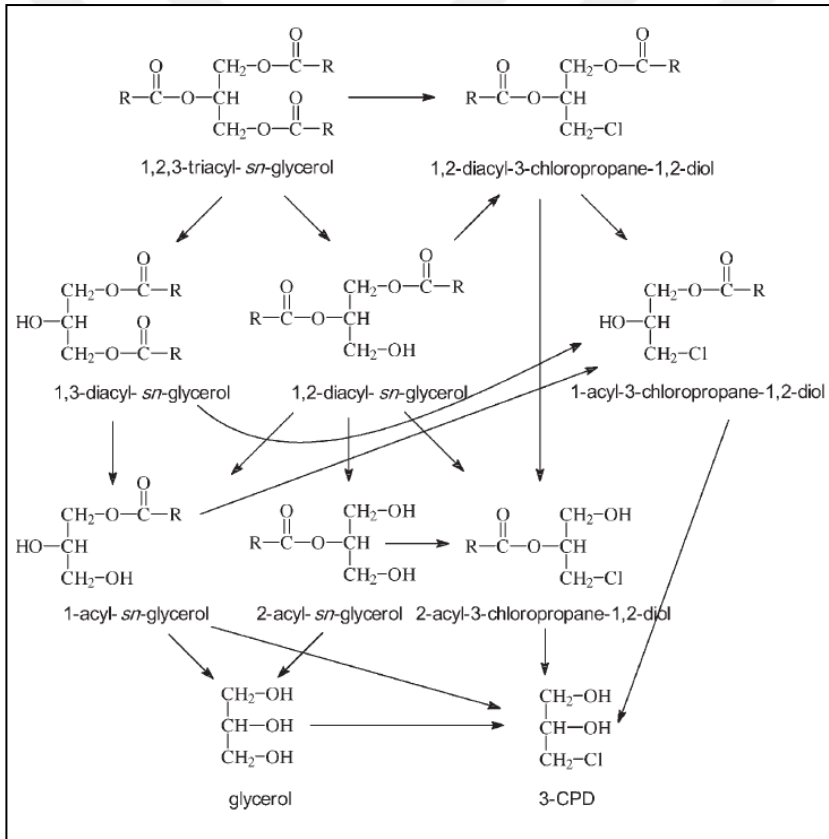


Şekil 2.1. Serbest ve yağ asitleri ile esterleşmiş 3-MCPD bileşenin yapısı

3-MCPD oluşum mekanizmasının incelendiği Zhang et al. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada; gliserol, monogliseritler, digliseritler ve trigliseritlerin, 3-MCPD oluşumuna katıldığı belirtilmektedir. Trigliseritlerden 3-MCPD oluşması için trigliseritlerin digliseritlere ve monogliseritlere parçalanması gerektiğini saptayan araştırmacılar, yağlarda monogliserit ve digliserit miktarının artmasının, 3-MCPD oluşumunu hızlandırdığını belirtmişlerdir.

Hamlet et al. (2011) tarafından gerçekleştirilen ve 3-MCPD oluşum mekanizmasının ayrıntılı olarak incelendiği bir çalışmada, yüksek sıcaklıklarda digliseritler ve monogliseritlerden açiloksonyum iyonlarının ve glisidil esterlerinin oluştuğu, ortamdaki klor iyonu ile 3-MCPD miktarının arttığı belirtilmektedir. 3-MCPD esterleri ve glisidil esterlerinin oluşumuna

neden oldukları için gliserol, monogliseritler ve digliseritler, 3-MCPD oluşumu için öncü maddeler olarak adlandırılmıştır. Öncü maddelerin nitel ve nicel olarak ortamda artmasının yağın hidrolizi ile gerçekleşebileceğini belirten araştırmacılar, özellikle palm yağı, pirina yağı ve zeytinyağı gibi yüksek asitli yağların yapısında öncü maddelerin yüksek oranda bulunabileceğini, bunların rafinasyon sırasında 3-MCPD oluşma ihtimalini artırabileceğini çalışmalarında vurgulamışlardır. 3-MCPD maddesinin bitkisel yağlarda oluşum mekanizması ile ilgili geliştirilmiş olan en ayrıntılı yaklaşım ve araştırmacıların çalışmalarında belirttiği 3-MCPD oluşum mekanizması Şekil 2.2’de görülmektedir.



Şekil 2.2. Trigliserit ve trigliserit türevi olan öncü maddelerden 3-MCPD esterlerinin oluşum mekanizması (Hamlet et al., 2011).

3-MCPD esterlerinin oluşum mekanizması ile ilgili olarak birçok çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalarda, 3-MCPD esterlerinin oluşum mekanizmasına göre gliserol, monogliseritler ve digliseritlerin öncü maddeler olduğu, bu bileşiklerin yüksek sıcaklıklarda toksik glisidil

esterlerine dönüştükleri ve klor iyonu ile 3-MCPD esterlerinin oluşumunun gerçekleştiği belirtilmektedir (Velisek et al., 1980; Zelinkova et al., 2006; Zelinkova et al., 2008 ; Franke et al., 2009; Hamlet et al., 2011; Zhang et al., 2013).

3-MCPD esterleri oluşumu, yüksek sıcaklıkta digliserit ve monogliseritlerden siklik açiloksonyum iyonlarının meydana gelmesi ile başlamaktadır. Kararlı yapıda olmayan bu iyonlar klor iyonları ile birleşerek 3-MCPD maddesine dönüşmektedir. Ortamda yeterli klor iyonunun bulunmaması veya reaksiyon sırasında klor açlığı gerçekleşmesi durumunda açiloksonyum iyonları, daha kararlı yapıdaki glisidil esterlerine dönüşmektedir. Glisidil esterleri de klor varlığında 3-MCPD esterlerini oluşturabilmektedir (Rahn and Yaylayan, 2011).

Rafinajlık zeytinyağı ve pirina yağı diğer ham bitkisel yağlara göre daha yüksek miktarda serbest yağ asidi, dolayısıyla daha yüksek oranda monogliserit ve digliserit içermektedir. Bu nedenle rafinajlık zeytinyağı ve pirina yağının rafinasyonunda özellikle deodorizasyon ve su buharı distilasyonu kademelerinin, 3-MCPD oluşumu açısından detaylı olarak incelenmesi gerekmektedir.

2.2. 3-MCPD'nin ve Glisidil Esterlerinin Sağlık Üzerine Etkileri

3-MCPD maddesi gıdalarda serbest ya da esterleşmiş formda bulunmaktadır. 3-MCPD'nin mono ve diesterlerinin sindirim sisteminde bulunan lipaz tarafından substrat olarak kullanıldığı, bu nedenle toksisite açısından serbest ve esterleşmiş formdaki 3-MCPD ile arasında farklılık olmadığı bilinmektedir (Hamlet and Sadd, 2009). Rafine bitkisel yağlarda 3-MCPD monoesterlerinin, diesterlerine göre çok daha az oranda bulunduğu saptanmıştır (Larsen, 2009).

Ulusal ve uluslararası mevzuatta 3-MCPD'nin günlük alım limiti 2µg/kg vücut ağırlığı olarak belirtilmiştir. F344 farelerinin farklı cinslerinin 3-MCPD içeren gıdalarla uzun süreli beslenmesi ile böbreklerde renal tümör oluşumu görüldüğü saptanmıştır (JECFA, 2002). 3-MCPD esterlerinin benzer olumsuz etkileri, farklı bir deney faresi cinsinde de gözlemlenmiştir (Cho et al, 2008). Abraham et al. (2013), 3-MCPD esterlerinin sindirim

sırasında serbest hale geçtiğini ve aynı karsinojenik etkiyi gösterdiğini ortaya koymuştur.

2.3. 3-MCPD ile İlgili Yasal Düzenlemeler

Avrupa Birliği komisyonlarının 3-MCPD ile ilgili yayınlamış olduğu birçok rapor bulunmaktadır. İlgili komisyonlar tarafından hazırlanan ilk değerlendirme raporu 1994 yılında yayınlanmıştır. Avrupa Birliği Gıda Bilimsel Komitesi tarafından güncellenerek 2001 yılında yayınlanan yeni raporda 3-MCPD'nin; soya sosları ve asitle hidrolize edilmiş sebze proteinlerinde iz miktarda, bazı gıda gruplarında ise çok daha yüksek düzeylerde bulunabilen genotoksik bir karsinojen olduğu vurgulanmaktadır. Ayrıca raporda 3-MCPD'nin genotoksitesisi ile ilgili yapılmakta olan *in vivo* çalışmalar vurgulanarak, 3-MCPD'nin günlük maksimum tüketim limitinin 2µg/kg vücut ağırlığı olması gerektiği belirtilmektedir.

Avrupa Birliği Sağlık ve Gıda Güvenliği Komisyonu tarafından 2004 yılında hazırlanan raporda ise 3-MCPD'nin yanı sıra bir izomer olan 2-monokloropropan 1,3 diol (2-MCPD) maddesinin de benzer karsinojen özelliklere sahip olabileceği belirtilmiştir. Soya sosları başta olmak üzere farklı gıda gruplarında ve gıda katkı maddelerinde bulunan 3-MCPD miktarlarının 10 farklı ülkenin katılımı ile ortaya konduğu bu rapor, bu konuda yayınlanmış en geniş rapor niteliğindedir. Bu raporda incelenen gıda ürünleri; soya sosları, hidrolize sebze proteinleri, süt ve süt ürünleri, bitkisel yağlar ve bitkisel yağlar kullanılarak üretilen emülsiyon ürünler, farklı sebze ve meyveler, çikolatalar ve kakao ürünleri, tahıllar, pastacılık ve fırıncılık ürünleri, işlenmemiş et veya işlem görmüş et ürünleri, balık ve diğer deniz ürünleri, şeker, tuz, baharatlar, alkollü ve alkolsüz içecekler, patates cipsleri ve benzeri hazır gıdalardır. En yüksek 3-MCPD miktarının soya soslarında (yaklaşık 15mg/kg) tespit edildiği belirtilmiştir. Bu raporda süt ürünlerinde, çikolata kaplamalarında, tahıl ve tahıl ürünlerinde, pastacılık ürünlerinde, balıklarda ve diğer deniz ürünlerinde, alkollü ve alkolsüz içeceklerde 3-MCPD miktarının 0,05mg/kg düzeyinin altında olduğu tespit edilmiştir. Ancak et ürünlerinde kullanılan yenilebilir kılıflarda 24mg/kg, emülsifiye özellikte olmayan soslarda 25mg/kg 3-MCPD bulunduğu vurgulanmaktadır. Ham yağlardaki 3-MCPD miktarının ise 1,5mg/kg düzeyini geçmediği belirtilmiştir (EFSA, 2004)

Avrupa Birliği Sağlık ve Gıda G¼venliđi Komisyonu, 2009 yılında Belçika’da düzenlenen çalıştay raporunda riskli gıda grupları için 3-MCPD düzeyleri g¼ncellenerek bu maddenin toksisitesi ile ilgili bilgilere yer verilmiştir (EFSA, 2009). Aynı komisyonun 2013 yılında yayınladığı raporda bitkisel yağların 3-MCPD ester içerikleri ile ilgili bir bilgi yer almamakta, gıdalarla 3-MCPD alımının en fazla 1,5µg/kg v¼c¼t ağırlığı olduğu, kişi başi alımın limit değerı aşmadığı (2µg/kg v¼c¼t ağırlığı) belirtilmektedir (EFSA, 2013).

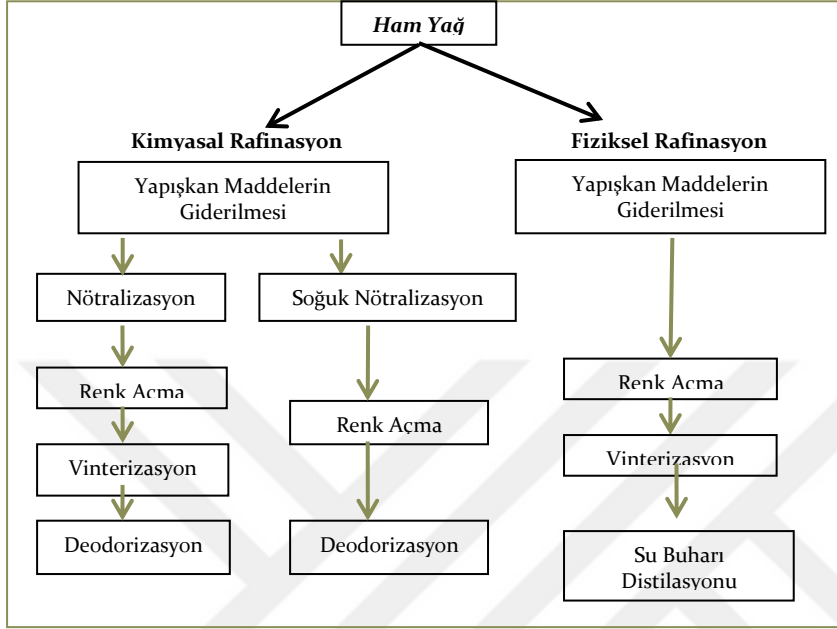
Avrupa Birliği Sağlık ve Gıda G¼venliđi Komisyonu tarafından 2014 yılında yayınlanan raporda ise 3-MCPD esterlerinin de sindirim sisteminde tamamen serbest hale geçtiği ve 3-MCPD ile aynı toksisiteye sahip olduğu vurgulanmıştır. Ayrıca, glisidil esterleri, toksikolojik etkileri üzerinde yeterli bilgi birikimi olmamasına rağmen, gıdalarda miktarı azaltılması gereken bir bileşen olarak belirtilmiştir. Bu raporda 2-MCPD bileşeninin de benzer bir mekanizma ile oluşabildiği ve toksikolojik etkilere sahip olabileceği açıklanmıştır (EFSA, 2014). Avrupa Birliği Sağlık ve Gıda G¼venliđi Komisyonu tarafından 2015 yılında yayınlanan son ve g¼ncel raporda ise farklı gıda grupları için 3-MCPD miktarının saptanmasında yararlanılabilecek analiz metotları değerlendirilmiş, en uygun metodun gaz kromatografisi/ k¼tle spektrometresi (GC/MS) ile yapılan dolaylı değerlendirme metodu olduğu belirtilmiştir (EFSA, 2015).

2.4. Ham Yağların Rafinasyonunda İşlem Kademelerinin ve Bazı Gıda İşleme Y¼ntemlerinin 3-MCPD Oluşumuna Etkisi

Bitkisel kaynaklı tohum ve meyvelerden elde edilen ham yağların yapısındaki istenmeyen bileşenlerin uzaklaştırılması ya da miktarlarının kabul edilebilir d¼zeye d¼ř¼r¼lebilmesi amacıyla kimyasal veya fiziksel rafinasyon y¼ntemleri uygulanmaktadır. Kimyasal ve fiziksel rafinasyon akış şemaları şekil 2.3’de g¼r¼lmektedir (G¼m¼řkesen ve Yemişçioğlu, 2010).

Ham yağın rafinasyonunda kullanılacak y¼ntem, rafine edilecek yağın serbest yağ asidi içeriğine g¼re belirlenmektedir. Y¼ksek asitli yağların kimyasal y¼ntemle asitliğinin giderilmesi, n¼tr yağ kaybının artmasına neden olmaktadır. De Greyt (2013), serbest yağ asidi içeriği %3,5’in ¼zerinde olan

yağlarda kimyasal rafinasyon yönteminin uygulanmasının, rafinasyon kayıpları ve işletme giderleri açısından ekonomik olmadığını belirtmektedir.



Şekil 2.3. Kimyasal ve Fiziksel Rafinasyon Akış Şeması

Kimyasal ve duysal kalite özellikleri açısından Türk Gıda Kodeksi, Zeytinyağı ve Pirina Tebliği'nde (TGK, 2010) belirtilen özellikleri taşımayan zeytinyağı, rafinajlık “ham zeytinyağı” olarak tanımlanmaktadır. Yüksek serbest yağ asidi içeren zeytinyağlarının rafinasyonunda fiziksel rafinasyon yöntemi tercih edilmektedir.

Fiziksel rafinasyonun son aşaması olan su buharı distilasyonunda yağın serbest yağ asidi içeriğinin düşürülmesi ve yağa kötü tat ve koku veren bileşiklerin uzaklaştırılması amaçlandığı için yağın sıcaklığı 230-260°C'ye yükseltilmektedir (Gümüskesen ve Yemişçioğlu, 2010). Su buharı distilasyonunda uygulanan işlem koşulları Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Su buharı distilasyonu işleminin koşulları (De Greyt, 2013)

İşlem Koşulları	
Sıcaklık (°C)	230 - 260
Basınç (mbar)	2 - 4
Buhar Miktarı (%)	0,5 - 2
Süre (dak)	20 - 90

Rafinasyon işlemi, ham yağın yapısındaki istenmeyen bileşenlerin uzaklaştırılması ya da miktarlarının kabul edilebilir düzeye düşürülebilmesi amacıyla uygulansa da, yağın yapısında bazı istenmeyen değişiklikler de meydana gelmektedir. Özellikle su buharı distilasyonu sırasında antioksidan özellik gösteren tokoferollerin, biyoaktif özelliği olan sterollerin ve skualenin yağdan uzaklaşması, yağda konjugasyon ve izomerizasyon reaksiyonlarının gerçekleşmesi bu olumsuzlukların başında gelmektedir (El Mallah et al., 2011). Ayrıca yağlara uygulanan rafinasyon işleminin bir proses bulaşanı olan 3-MCPD oluşumuna da neden olduğu, son yıllarda gerçekleştirilen çalışmalarla ortaya konmuştur. Özellikle serbest yağ asidi, monogliseritler ve digliseritler gibi 3-MCPD oluşumunda etkili olan öncü maddeleri yüksek miktarlarda içeren yağların rafinasyonu daha kritik hale gelmektedir (Hamlet et al., 2011).

Bitkisel yağlara uygulanan rafinasyon işleminin 3-MCPD oluşumuna etkisinin incelendiği çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

Franke et al. (2009), ham palm yağı, ön rafinasyon işlemi uygulanmış (yapışkan maddelerin giderilmesi, kimyasal asitlik giderme işlemi ve renk açma işlemi) palm yağı ve ham kolza yağını kimyasal yöntemle rafine etmiştir. Yağlara öncelikle su ve sitrik asit ile yapışkan maddelerin giderilmesi işlemi, stokiyometrik olarak hesaplanandan %70 fazla sodyum hidroksit çözeltisi kullanılarak asitlik giderme işlemi ve bentonit ile renk açma işlemi uygulanmıştır. Deodorizasyon işlemi; 180-270°C sıcaklıkta, 20-60dak süreyle, atmosferik basınç altında gerçekleştirilmiştir. Araştırma sonuçları, 3-MCPD oluşumu üzerinde en etkili olan rafinasyon kademesinin deodorizasyon olduğunu ortaya koymuştur. Ön rafinasyon işleminden geçirilmiş olan palm yağında 5mg/kg 3-MCPD saptanmıştır. Palm yağında renk açma işlemi 3-MCPD miktarını belirli oranda azaltmış, ancak deodorizasyon işlemi ile 3-MCPD miktarı tekrar yükselmiştir. Bu çalışma, bitkisel yağ rafinasyonu kademelerinde 3-MCPD oluşumunu inceleyen ilk çalışma niteliğindedir.

Palm yağı, hidroliz reaksiyonuna yatkın olması nedeniyle yüksek oranda monogliserit ve digliserit içermektedir. Bu nedenle rafinasyon kademelerinin 3-MCPD oluşumu üzerindeki etkilerinin incelendiği çalışmalarda genellikle palm yağı kullanılmıştır. Hrcirik and Dujin (2011),

palm yağının rafinasyonunda en yüksek sıcaklığın uygulandığı deodorizasyon kademesinin, 3-MCPD oluşumu üzerinde etkili olduğunu bulgulamışlardır. Palm yağı; 180-230°C sıcaklıkta, 5 saat süre ile, 4mbar basınçta, %1 oranında sürükleyici buhar kullanılarak deodorize edilmiştir. Deodorizasyon işleminin birinci saatinde 3-MCPD miktarının 3.5-4.7mg/kg seviyelerine çıktığı, işlem süresinin uzamasının 3-MCPD miktarını önemli düzeyde arttırmadığı, glisidil ester miktarında 5 saatlik işlem süresince sürekli artış gerçekleştiği saptanmıştır. Deodorizasyon işleminin 230°C sıcaklıkta 3 saat süreyle uygulanması ile palm yağının serbest yağ asidi içeriği %0,1 değerinin altına düşerken, 180°C sıcaklıkta gerçekleştirilen deodorizasyon işlemi ile serbest yağ asitliğinin en fazla %20 oranında azaltılabildiği bulgulanmıştır. Uygulanan deodorizasyon süresi, sanayide uygulanan süreden daha uzun olduğu için, deodorize palm yağında saptanan 3-MCPD düzeylerinin, piyasada satılan rafine yağlara göre çok daha yüksek olduğu belirtilmiştir.

Pudel et al. (2011), palm yağı örneklerine su ve asitle yapışkan maddelerin giderilmesi işlemi, sodyum hidroksit ve potasyum hidroksit ile asitlik giderme işlemi, bentonit bazlı Tonsil 4191FF ağartma toprağı kullanılarak 60°C ve 90°C sıcaklıkta renk açma işlemi ve 240°C sıcaklıktaki yağ banyosunda 2 saat süreyle bekletilerek deodorizasyon işlemleri uygulamışlardır. 3-MCPD oluşumu üzerinde su ve asitle gerçekleştirilen yapışkan maddelerin giderilmesi işleminin etkili olmadığı, kimyasal asitlik giderme ve renk açma işlemlerinin 3-MCPD miktarını azaltıcı yönde etki gösterdiği saptanmıştır. Palm yağı 240°C sıcaklıktaki yağ banyosunda 2 saat bekletilerek bu süreçte klorlu ve distile edilmiş sudan elde edilen buhar yağa verilmiş ve 3-MCPD esterleri miktarının 3mg/kg düzeyinden 8mg/kg'a yükseldiği belirlenmiştir. Klorlu veya distile su ile elde edilen buharın kullanılmasının ise 3-MCPD oluşumunda etkili olmadığı belirtilmektedir.

Zulkarnain et al. (2013) çalışmalarında, deodorizasyon öncesinde uygulanan yapışkan maddelerin giderilmesi ve renk açma kademelerindeki işlem parametrelerini, deodorizasyonda en düşük düzeyde 3-MCPD oluşacak şekilde optimize etmeyi amaçlamışlardır. Palm yağının yapışkan maddelerinin giderilmesinde su miktarının artırılması, renk açma kademesinde ağartma toprağı miktarının yükseltilmesi ile deodorizasyon kademesinde oluşan 3-MCPD esterleri miktarında azalma sağlanabildiği

tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra renk açma aşamasında belirli miktarda magnezyum silikat kullanımının, deodorizasyon aşamasında oluşan 3-MCPD ester miktarını azalttığı belirlenmiştir. Araştırmacılar, rafinasyon sırasında oluşan 3-MCPD ester miktarının işlem kademelerinin optimizasyonu ile minimize edilebileceğini belirtmişlerdir.

Zhou et al. (2014), palm yağı ile yapılan model kızartma işlemleri sırasında NaCl miktarı, su miktarı ve sıcaklık seviyesinin 3-MCPD esterleri oluşumu üzerine etkisini araştırılmışlardır. Bu çalışmada; 100°C-200°C sıcaklığa ısıtılan yağa, farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış NaCl çözeltisi eklenerek kızartma ortamı oluşturulmuştur. Kızartma sistemi, NaCl çözeltisinin eklenmesinden hemen sonra sıkıca kapatılmış ve buhar çıkışı engellenmiştir. Isıtma işlemi 4 saat süre ile devam etmiştir. Palm yağında ilk iki saat süresince 3-MCPD esterleri miktarının arttığı, daha sonra azalmaya başladığı saptanmıştır. Su miktarının %7'den %10'a çıkarılmasının 3-MCPD esterleri oluşumunu %130 artırdığı (1,26mg/kg düzeyinden 2,95mg/kg düzeyine) belirlenmiştir. Sıcaklık yükselmesi de benzer şekilde 3-MCPD esterleri oluşumunu artırmıştır.

Mogol et al. (2014), farklı sıcaklıklarda pişirilen bisküvilerde 3-MCPD oluşumunun, formülasyonda kullanılan tuz miktarı ve pişirme sıcaklığına göre değişimini incelemişlerdir. Pişirme işlemi;180°C, 200°C ve 220°C sıcaklıklarda uygulanmıştır. Yüksek pişirme sıcaklıklarında 2-MCPD ve 3-MCPD oluşumunun hızlandığı belirlenmiştir. Bisküvi formülasyonunda tuz konsantrasyonunun artışı da, 2-MCPD ve 3-MCPD oluşumunu hızlandırmıştır.

Ermacora and Hrniric (2014a; 2014b), 3-MCPD standardı ile model bir sistem oluşturarak, deodorizasyon sistemini simüle etmeye çalışmışlardır. Model sistemde palm yağı, atmosferik basınçta, su buharı enjekte edilerek, 180-260°C sıcaklık aralığında 24 saat süreyle ısıtılmıştır. Model sistemde bulunan 3-MCPD'nin, belirtilen koşullarda %60 oranında yıkıma uğradığı bulgulanmıştır. Deodorizasyon işleminin ilk iki saatinde 3-MCPD oluşumunun, yıkımından daha hızlı olduğu, iki saatlik deodorizasyon sonrasında 3-MCPD yıkılımının hızlandığı saptanmıştır. Rafinasyon işleminden önce yağlarda bulunan gliseritlerin silikajel kromatografisi ile

yağdan uzaklaştırılmasının, deodorizasyon sırasında oluşan 3-MCPD miktarını azaltabileceği bulgulanmıştır.

Li et al. (2016a), farklı pH (4-8) düzeylerine ayarlanan ham ve rafine bitkisel yağları, 70-250°C arasında değişen sıcaklıklarda, 0,5ml NaCl ilave ederek, 1 saat süreyle ısıl işleme tabi tutmuşlardır. Kavurma işlemi uygulanan yağlı tohumlardan elde edilen ham yağların yukarıda belirtilen koşullarda ısıl işleme tabi tutulmasının, daha fazla 3-MCPD oluşumuna neden olduğu gözlenmiştir. Yağa ilave edilen NaCl miktarının artırılmasının ısıl işlem uygulaması ile oluşan 3-MCPD ester miktarını yükselttiği, yağın pH düzeyinin yükselmesi ile daha az 3-MCPD oluşumunun gözlendiği, asidik ortamda 3-MCPD esterlerinin oluşumunun hızlandığı belirtilmektedir.

Li et al. (2016b), 3 farklı bölgeye ait yerkıstıklarından çözgen ekstraksiyonu ile elde ettikleri ham yağlar laboratuvar koşullarında uyguladıkları kimyasal rafınasyon kademelerinin, 3-MCPD oluşumu üzerindeki etkilerini incelemiştirlerdir. Rafınasyon işlemi sırasında yağa etanol-su karışımıyla yıkama uygulamasının, deodorizasyon işlemi öncesinde yağa belirli oranlarda diasetilen ilave edilmesinin 3-MCPD oluşumunu azaltıcı etkisi olduğu saptanmıştır. Renk açma işlemi ile yağdaki 3-MCPD miktarının azaldığı, deodorizasyon işlemi sırasında (2mbar basınç, 240°C sıcaklık, 1 saat süre) 6 kat arttığı bulgulanmıştır.

2.5. Yağlarda 3-MCPD Miktarının Belirlenmesinde Kullanılan Analiz Yöntemleri

Yağlarda 3-MCPD miktarının belirlenmesinde kullanılan analiz yöntemleri ile ilgili son yıllarda birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda 3-MCPD miktarının belirlenmesinde direkt veya indirekt analiz yöntemleri geliştirilmeye çalışılmıştır. Yağlarda 3-MCPD miktarının belirlenmesi konusunda geliştirilen analiz yöntemleri Çizelge 2.2'de görölmektedir.

Çizelge 2.2. Yağlarda 3-MCPD miktarının belirlenmesinde kullanılan analiz yöntemleri

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

Yağlarda bulunan 3-MCPD'nin nitel ve nicel tayini için birçok yöntem önerilmiş olsa da, araştırmaların önemli kısmında 3-MCPD'nin yağ asitleri ile oluşturduğu esterlerin ve 3-MCPD esterleri oluşum mekanizmasında bir ara ürün olan glisidil esterlerinin gaz kromatografisi (GC) ile belirlenebildiği, kütle spektrofotometresi (MS) ile de tanımlanabildiği belirtilmektedir. Bu yöntem; örnekteki esterlerin hidrolizi, serbest 3-MCPD'nin türevlendirilmesi ve 3-MCPD-D5 standardı kullanılarak GC-MS ile belirlenmesi kademelerini içermektedir. Analiz sırasında deesterifikasyon reaksiyonunun sonlandırılması sodyum bromür kullanımıyla gerçekleştiği için ortamdaki glisidil esterlerinin 3-MCPD'ye dönüşmesi engellenmekte ve bu nedenle sonuçlar serbest 3-MCPD olarak verilmektedir (Weißhaar, 2008). Bu yöntem Alman Yağ Bilimi Topluluğu (DGF) tarafından DGF C VI 18(10) metot numarası ile standardize edilmiştir (DGF, 2009).

2.6. Cevap Yüzey Metodu

Geleneksel optimizasyon yöntemlerinin temelini, sadece bir parametreyi zamanla değiştirirken diğerlerini sabit tutmak oluşturur. Bu yaklaşım, araştırmacıya hem maliyet hem de zaman açısından önemli dezavantajlar getirmektedir. Ayrıca, bu yaklaşımla çeşitli işlem parametreleri arasındaki interaksiyonların belirlenmesi ve prosesin tam anlamıyla tanımlanabilmesi için yeterli veri elde edilmesi oldukça zordur. Cevap Yüzey Metodu ise, sistemin yanıtını etkileyen çok sayıda değişkeni bir arada ve eşzamanlı olarak incelemektedir. Bu sayede, prosesin işlem parametrelerindeki değişime verdiği cevap en az sayıda deneme yapılarak en iyi şekilde tanımlanabilmektedir (Myers et al., 2001).

Cevap Yüzey Metodu (Response Surface Methodology - RSM), Box ve Wilson tarafından 1951 yılında kimya endüstrisinde üretim işlemlerinin geliştirilmesi amacıyla tasarlanmıştır. Yöntemin geliştirilmesindeki amaç, kimyasal reaksiyonların istenilen düzeyde optimize edilebilmesidir (Dean and Voss, 1999). Cevap Yüzey Metodunu; denemelerin dizayn edilmesi, model geliştirilmesi (regresyon analizi), varyans analizi (ANOVA) ve optimizasyon oluşturmaktadır (Demirdöven, 2009).

Cevap Yüzey Metodunun temel prensibi, başlangıç parametreleri ile ürün parametreleri arasındaki ilişkileri tanımlayan regresyon denklemleri yardımıyla ürün özellikleri ile proses değişkenleri arasındaki bağlantıyı belirlemeye dayanır. Cevap Yüzey Metodu dört basamaktan oluşmaktadır:

- Proses veya ürün için önemli olan kritik faktörlerin belirlenmesi
- Test edilecek faktörlerin seviye aralıklarının belirlenmesi
- Deney deseninin, spesifik test örneklerinin belirlenmesi, denemelerin yapılması
- Denemelerden elde edilen verilerin modellenerek cevap yüzeyleri ile incelenmesi, optimizasyon grafiklerinin çizilmesi

Cevap Yüzey Metodunda faktörlerin cevaplar üzerindeki etkilerinin incelenmesi amacıyla geliştirilen pek çok deneme deseni tasarımı olmasına karşın, genellikle Merkezci Kompozit Dizayn (Centered Composite Design) veya Box-Behnken Deseni kullanılmaktadır.

Genel olarak Cevap Yüzey Metodu çalışmalarında, bağımsız değişkenler ve cevaplar arasındaki ilişki önceden tahmin edilememektedir. Bu nedenle Cevap Yüzey Metodu, bağımsız değişkenler ile cevaplar arasındaki doğru fonksiyonel ilişki için bir yaklaşım geliştirmektedir. Eğer cevaplar bir lineer fonksiyon ile iyi modellenilebilirse o zaman yaklaşım fonksiyonu Eşitlik 2.1'de görüldüğü gibi birinci dereceden bir modeldir (Myers et al., 2001).

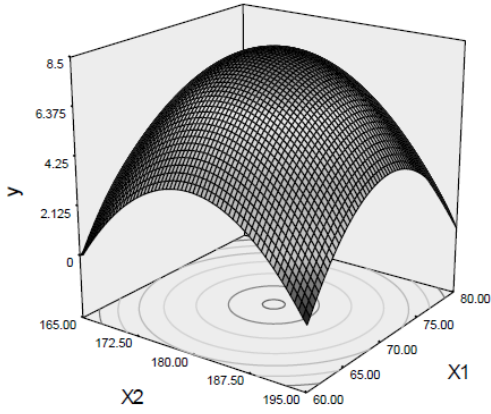
$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \dots + \beta_k x_k + \epsilon \quad (\text{Eşitlik 2.1})$$

Eğer sistemde bir eğrisellik söz konusu ise, ikinci dereceden polinomiyal model yani Eşitlik 2.2'de görüldüğü gibi daha yüksek dereceli bir model söz konusudur (Myers et al., 2011).

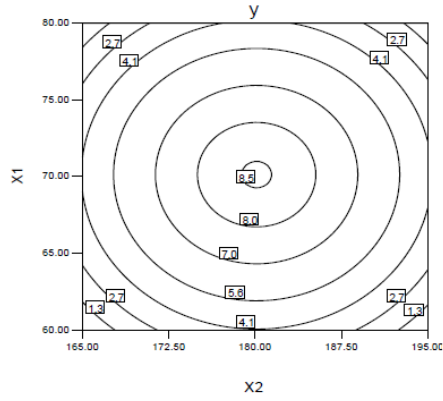
$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ij} x_i^2 + \sum_{i < j} \beta_{ij} x_i x_j + \epsilon \quad (\text{Eşitlik 2.2})$$

Tüm Cevap Yüzey Metodu problemlerinde bu iki model kullanılabilirliği gibi doğru fonksiyonel ilişki için polinomiyal model daha doğru bir yaklaşımdır (Dean and Voss, 1999 ; Myers et al., 2011).

Çok cevaplı optimizasyonların gerçekleştirilmesinde genel olarak kullanılan yöntem, modelleme sonucunda izohips eğrilerinin çizilerek üst üste yerleştirilmesidir. Her bir izohips eğrisi, bir bağımsız değişken merkezdeyken, diğer iki değişkenin sonsuz sayıdaki kombinasyonlarını vermektedir. Cevapların izohips eğrilerinin çizilerek üst üste yerleştirilmesi yaklaşımı, bağımlı ve bağımsız değişkenlerin az olduğu sistemlerde etkin bir yöntem olarak ifade edilmektedir (Şekil 2.4 ; Şekil 2.5). Ancak bu yaklaşım çok sayıda bağımlı ve bağımsız değişkenin (dört veya daha fazla) bir arada incelendiği durumlar için kullanılabilirliğini kaybetmektedir (Ertekin ve ark., 2008; Myers et al., 2011).

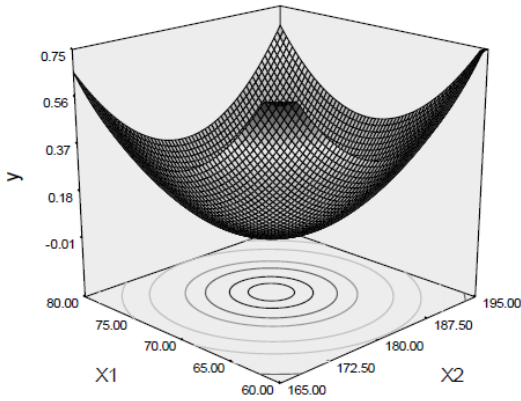


(a) Cevap Yüzeyi

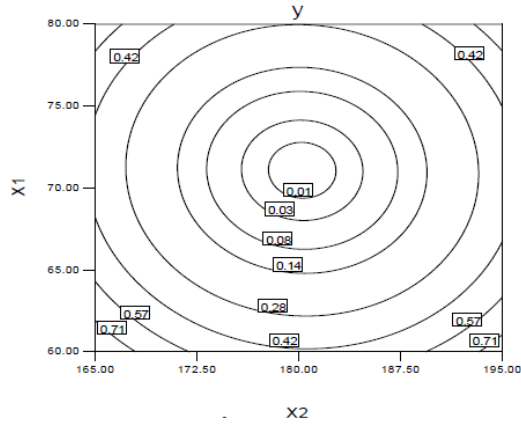


(b) İzohips eğrileri

Şekil 2.4. Maksimum nokta için (a) cevap yüzey grafiği ve (b) izohips eğrileri



(a) Cevap Yüzeyi



(b) İzohips eğrileri

Şekil 2.5. Minimum nokta için (a) cevap yüzey grafiği ve (b) izohips eğrileri

Cevap Yüzey Metodunda regresyon modeli, dizayn edilmiş denemelerden elde edilen verilere uygun olmalıdır. Elde edilen model, sadece bir yaklaşım olduğundan, tahminlenen değerler ile deneysel olarak elde edilen değerler arasındaki fark (kalıntı), sadece saf deneysel hatayı değil model formunun uygunsuzluğundan (lack of fit) kaynaklanan hatayı da içermektedir. F -değerinin model uygunsuzluğu için önemsiz ve regresyon modeli için önemli olması, modelin uygunluğunun test edilmesi için yeterli görülür (Eren, 2004). Ancak daha iyi bir tahminleme açısından modelin uygunluğu, “yeterli kesinlik (Adequate Precision)” istatistiği ile

yapılabilmektedir. Buna göre Adequate Precision değerinin en az “4” olması önerilmektedir (Eren, 2004; Koç, 2008; Koç, 2009; Myers et al., 2011).

Cevap Yüzey Metodunda pertürbasyon grafikleri, diğer faktörler referans noktasında sabit tutulurken, belirli bir faktördeki değişimin cevap üzerindeki etkisini görselleştirmektedir. Daha açık bir şekilde ifade etmek gerekirse, belirli bir faktörün pertürbasyon eğrisindeki eğimin yüksek olması, o faktörün ilgili cevap üzerindeki etkisinin yüksek olduğunu göstermektedir (Chen et al, 2014; Akdeniz, 2014).

Optimizasyon için seçilen kriterlere bağlı olarak “istenilirlik değeri” fonksiyonu yaklaşımı oluşturulmaktadır. “İstenilirlik” fonksiyonları 0-1 arasında değişiklik gösteren değerler vermektedir. Cevapların her biri için hesaplanan “istenilirlik faktörleri”, cevaplar hedeflenen değere yaklaştıkça 1’e, uzaklaştıkça 0’a yaklaşır. Bu şekilde her cevap için “istenilirlik” fonksiyonları tanımlanır ve hesaplanır, daha sonra bunların geometrik ortalamaları alınarak tüm cevaplar için toplu bir “istenilirlik faktörü” elde edilir. Lazic (2004)’e göre istenilirlik fonksiyonlarının standart tahminleme skalası Çizelge 2.3’deki gibidir (Koç, 2009).

Çizelge 2.3. İstenilirlik fonksiyonlarının standart tahminleme skalası (KOÇ, 2009)

Standart Tahminleme (İstenilirlik Faktörü)	İstenen
1	Mükemmel
1-0,8	Çok İyi
0,8-0,63	İyi
0,63-0,37	Yeterli
0,37-0,20	Kötü
0,2-0	Çok Kötü

Ertekin ve ark., (2008) tarafından da belirtildiği gibi Cevap Yüzey Metodunun avantajları aşağıda özetlenmiştir;

- Daha az deney yaparak, daha fazla bilgi sahibi olma imkânı vermektedir.
- Bağımsız değişkenlerin etkilerinin birlikte incelenmesini mümkün kılmaktadır.
- Sistemin matematiksel bir model ile tanımlanması, dolayısıyla bağımlı değişken ve bağımsız değişken arasındaki ilişkinin bu model ile ifade edilmesini sağlamaktadır

Cevap Yüzey Metodu ile ilgili olarak belirtilen tüm avantajlar değerlendirildiğinde bu istatistiksel değerlendirme yönteminin özellikle üç faktör ve her faktör için birden fazla seviye içeren deneme tasarımlarının oluşturulması, faktörlerin ayrı ayrı cevaplar üzerindeki etkisinin açıklanması ve sistemin genel olarak optimize edilmesi için kullanılacak etkin bir yöntem olduğu sonucuna varılarak çalışmada istatistiksel değerlendirmelerde bu yöntem kullanılmıştır.

Çalışmada, zeytinyağı ve prina yağına uygulanan su buharı distilasyonu işlem parametrelerinin (sıcaklık, basınç ve su miktarı) 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri oluşumu üzerindeki etkisinin varyans analizi ve çoklu karşılaştırma testleri ile incelenmesi ve bu etkilerin matematiksel olarak modellenerek işlem parametrelerinin Cevap Yüzey Metodu ile optimizasyonu gerçekleştirilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Su buharı distilasyonu koşullarının 3-MCPD oluşumu üzerindeki etkilerinin belirlenmesinde materyal olarak 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri oluşumu açısından riskli olan rafinajlık zeytinyağı ve pirina yağı kullanılmıştır.

Zeytinyağı, fiziksel rafinasyonun uygulandığı ve İzmir’de faaliyet gösteren bir yağ rafinasyon tesisinden temin edilmiştir. Zeytinyağına sadece renk açma işlemi uygulanmıştır.

Pirina yağı da aynı işletmeden ön kimyasal asitlik giderme ve renk açma işlemi uygulamasından sonra temin edilmiştir.

Materyal olarak seçilen yağ örneklerinin bazı kimyasal özellikleri Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Zeytinyağı ve pirina yağının bazı kimyasal özellikleri

	Serbest Yağ Asidi (% oleik asit)	Peroksit Sayısı (meq O ₂ /kg yağ)	Monogliserit (%)	Digliserit (%)	3-MCPD Esterleri (mg/kg)	Glisidil Esterleri (mg/kg)
Zeytinyağı	10,1 ± 0,3	10,6 ± 0,3	10,9 ± 1,6	8,5 ± 0,5	TED	TED
Pirina Yağı	0,8 ± 0,1	2,5 ± 0,3	7,4 ± 1,2	3,2 ± 0,5	4,1	0,3

Yağ örnekleri 500ml hacimli, amber renkli ve kapaklı cam şişelerde - 25°C’deki dondurucuda denemeler ve analizler yapılana kadar depolanmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Laboratuvar Ölçekli Su Buharı Distilasyonu İşlemi

Zeytinyağı ve pirina yağı örnekleri, Box-Behnken Deneme dizaynı ile belirlenen farklı sıcaklık, basınç ve su miktarı uygulanarak su buharı distilasyonu işlemine tabi tutulmuştur. Su buharı distilasyonu işlemi; sıcaklık, basınç ve su buharı üretiminde kullanılan su miktarının ayarlanabildiği laboratuvar ölçekli su buharı distilasyonu düzeneğinde gerçekleştirilmiştir. Yağın sıcaklığı, mantolu ısıtıcı ve bu mantolu ısıtıcıya bağlı bir elektronik termokupl sistemi ile ayarlanmıştır. Sistem basıncı elektronik vakum pompası kullanılarak sabit tutulmuştur. Yağa verilecek sürükleyici buharı elde etmek için gerekli olan su akışı medikal tip akış hızı sabitleyici tarafından ayarlanmıştır. Bu nedenle su buharı distilasyonu parametrelerinden sürükleyici buhar miktarı, bu buharı elde etmek için kullanılan suyun miktarı (ml su / dak) şeklinde ifade edilmiştir.

Su buharı distilasyonu işleminin sonlandırılması için serbest yağ asidi içeriğinin %0,5'in altına inmesi ve peroksit sayısının sıfıra ulaşması gerekmektedir (Shahidi, 2005; De Greyt, 2013). Bu nedenle farklı sıcaklıklarda gerçekleştirilen su buharı distilasyonu işleminde her işlem sıcaklığı için en uygun sürenin belirlenmesi amacıyla ön denemeler yapılmıştır. Ön denemelerde serbest yağ asidi içeriği yüksek olan zeytinyağı kullanılmış, 230°C, 245°C ve 260°C sıcaklıklarda, zeytinyağının serbest yağ asidi içeriğinin %0,5'in altına inmesi ve peroksit sayısının sıfır olması için uygulanması gereken su buharı distilasyonu süresi belirlenmiştir. Ön deneme sonuçları Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Zeytinyağına uygulanan su buharı distilasyonu ön deneme sonuçları

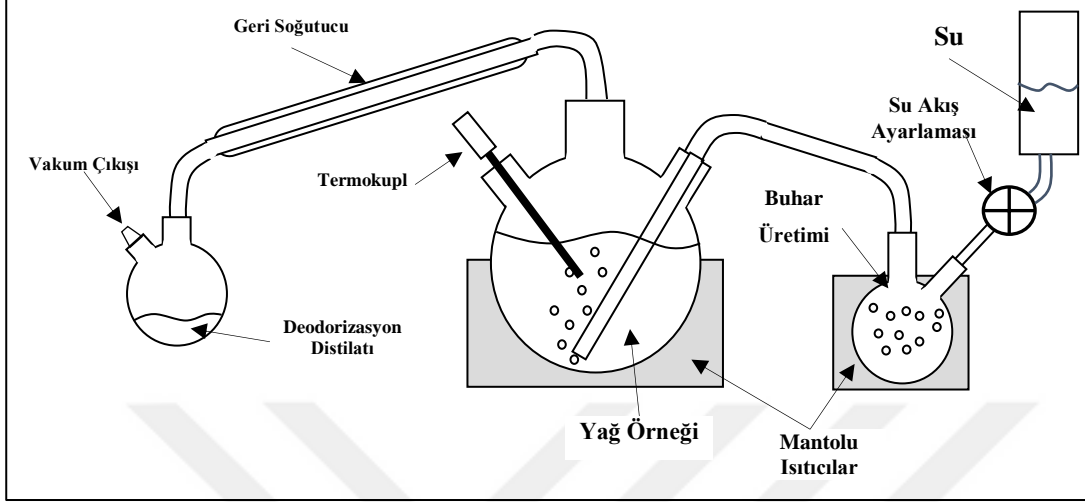
Deneme Kodu	Sıcaklık (°C)	Basınç (mbar)	Su miktarı (ml su/dak)	Süre (dak)	Serbest Yağ Asidi (% oleik asit)	Peroksit Sayısı (meq O ₂ /kg yağ)
Başlangıç					10,1 ± 0,3	10,6 ± 0,3
Z1	245	2	0,57	30	10,6 ± 0,9	7,1 ± 0,8
Z2	245	3	0,9	40	7,2 ± 0,1	2,2 ± 0
Z3	245	3	0,9	60	5,72 ± 0,05	0
Z4	245	3	1	40	4,6 ± 0,1	2,4 ± 0,2
Z5	245	3	1,5	60	2,2 ± 0	0
Z6	245	3	2	60	0,7 ± 0,1	0
Z7	260	3	1,5	60	0,4 ± 0	0
Z8	245	2	1	90	0,3 ± 0	0
Z9	245	4	2	90	0,3 ± 0,1	0
Z10	260	2	1,5	60	0,1 ± 0	0
Z11	260	4	1,5	60	0,15 ± 0	0
Z12	230	2	1,5	120	0,45 ± 0	0
Z13	230	4	1,5	120	0,5 ± 0	0

Çizelge 3.2’de verilen sonuçlar incelendiğinde, zeytinyağlarında serbest yağ asitliğinin %0,5’in altına ve peroksit değerinin sıfır değerine düşmesi için 260°C’de 60dak, 245°C’de 90dak, 230°C’de ise 120dak su buharı distilasyonu işleminin uygulanması gerektiği görülmektedir.

Pirina yağında serbest yağ asidi içeriğinin zeytinyağına göre daha düşük olması nedeniyle ön denemeler yapılmamış, pirina yağı için de aynı işlem süreleri uygulanmıştır.

Su buharı distilasyonu işleminde öncelikle 250ml yağ örneği, 1L hacimli, üç boyunlu cam balona aktarılmış ve cam balona su buharı enjeksiyonu için uç kısmı perfore kapiler cam boru, termokupl ve geri soğutucu bağlanmıştır. Sürükleyici su buharını elde etmek için 0,5L hacimli mantolu ısıtıcı kullanılarak, önceden ısıtılmış olan cam balona, medikal tüp sıvı akış vanası kullanılarak istenilen debide su beslenmiştir. Cam balonun sıcak yüzeyi üzerinde buharlaşan su yağa, uç kısmı perfore edilmiş kapiler cam bir boru ile beslenmiştir. Distilasyon balonundan uzaklaşan buhar-distilat, önce çeşme suyu ile soğutulan (20°C) bir geri soğutucudan geçirildikten sonra buz banyosu içerisindeki 500ml hacimli bir nuçe erleni içerisinde kristalize halde toplanmıştır.

Laboratuvar ölçekli su buharı distilasyon düzeneği Şekil 3.1’de şematik olarak görülmektedir.



Şekil 3.1. Laboratuvar ölçekli su buharı distilasyon düzeneğinin şematik gösterimi

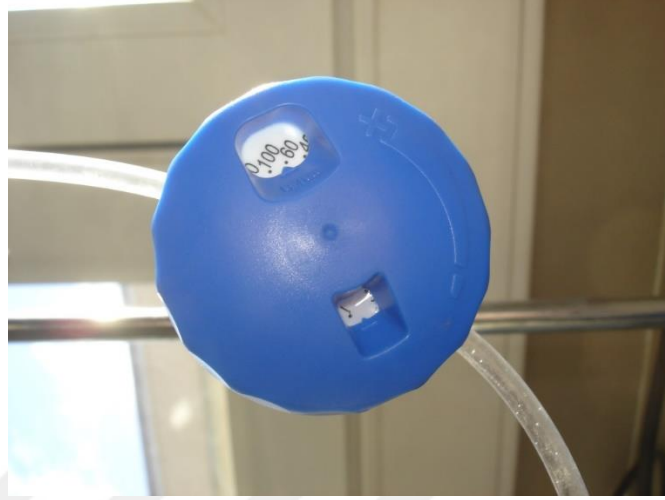
Su buharı distilasyonu denemelerinde istenilen sıcaklığın sağlanması ve deneme süresince bu sıcaklığın sabit kalması için yağın sıcaklığı, sıcaklık ayarının yapılabildiği elektronik bir kontrol sistemi tarafından sabitlenmiştir. Bu amaçla kullanılan termokupl ve dijital sistem Şekil 3.2’de görülmektedir.



Şekil 3.2. İşlem sıcaklığının ayarlanmasında ve sıcaklığın sabit tutulmasında kullanılan elektronik kontrollü termokupl

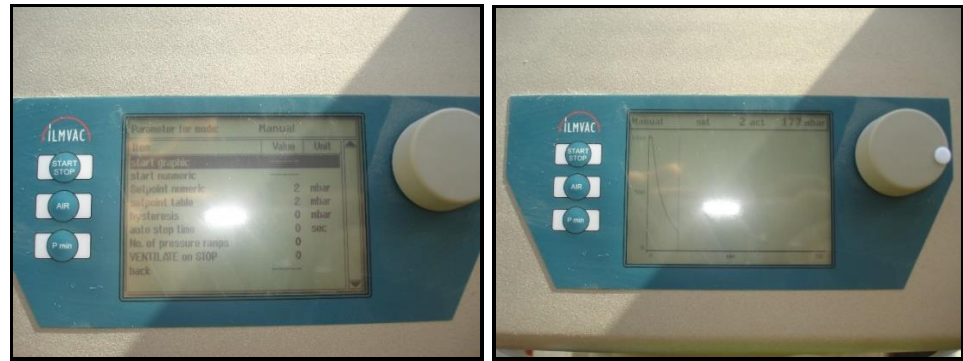
Su buharı distilasyonunda yağa enjekte edilen sürükleyici buharın üretilebilmesi için distile su, Şekil 3.3’de görülen medikal tip akış hızı

sabitleyici ile sıcak bir balon üzerine sabit debide akıtılmıştır. Sıcak cam balon içerisinde buharlaşan distile su, ucu perfore edilmiş olan cam boru vasıtasıyla önceden ısıtılmış olan yağın içerisine verilmiştir.



Şekil 3.3. Sürükleyici buhar üretiminde kullanılan medikal tip akış hızı sabitleyici

Su buharı distilasyonunda istenilen basınç düzeyine ulaşmak (2mbar, 3mbar, 4mbar) için Şekil 3.4’de görülen yüksek performanslı ILMVAC marka vakum pompası kullanılmıştır. Vakum pompası, dijital ekran üzerinde ayarlanan basınç değerine göre gerektiğinde otomatik olarak devreye girerek sistemdeki basıncın sabit kalmasını sağlamıştır.



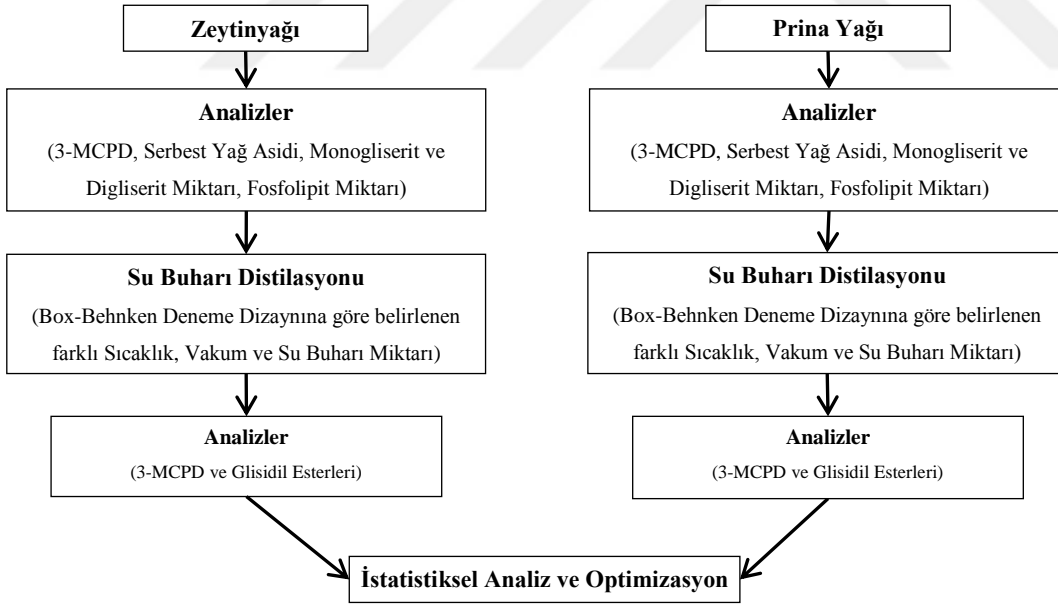
Şekil 3.4. Sistem basıncının ayarlandığı ILMVAC marka yüksek performanslı vakum pompası

Su buharı distilasyon düzeneğinin genel görünüşü Şekil 3.5’de yer almaktadır.



Şekil 3.5. Laboratuvar ölçekli su buharı distilasyon düzeneği

Deneme akışı Şekil 3.6’da görülmektedir.



Şekil 3.6. Deneme akışı

3.2.2. Analiz yöntemleri

3.2.2.1. Serbest Yağ Asidi Tayini

Örneklerin serbest yağ asidi içeriği IUPAC 2.201’de belirtilen yöntem kullanılarak saptanmıştır. Sonuçlar, % oleik asit cinsinden verilmiştir.

3.2.2.2. Monogliserit ve Digliserit Miktarı Tayini

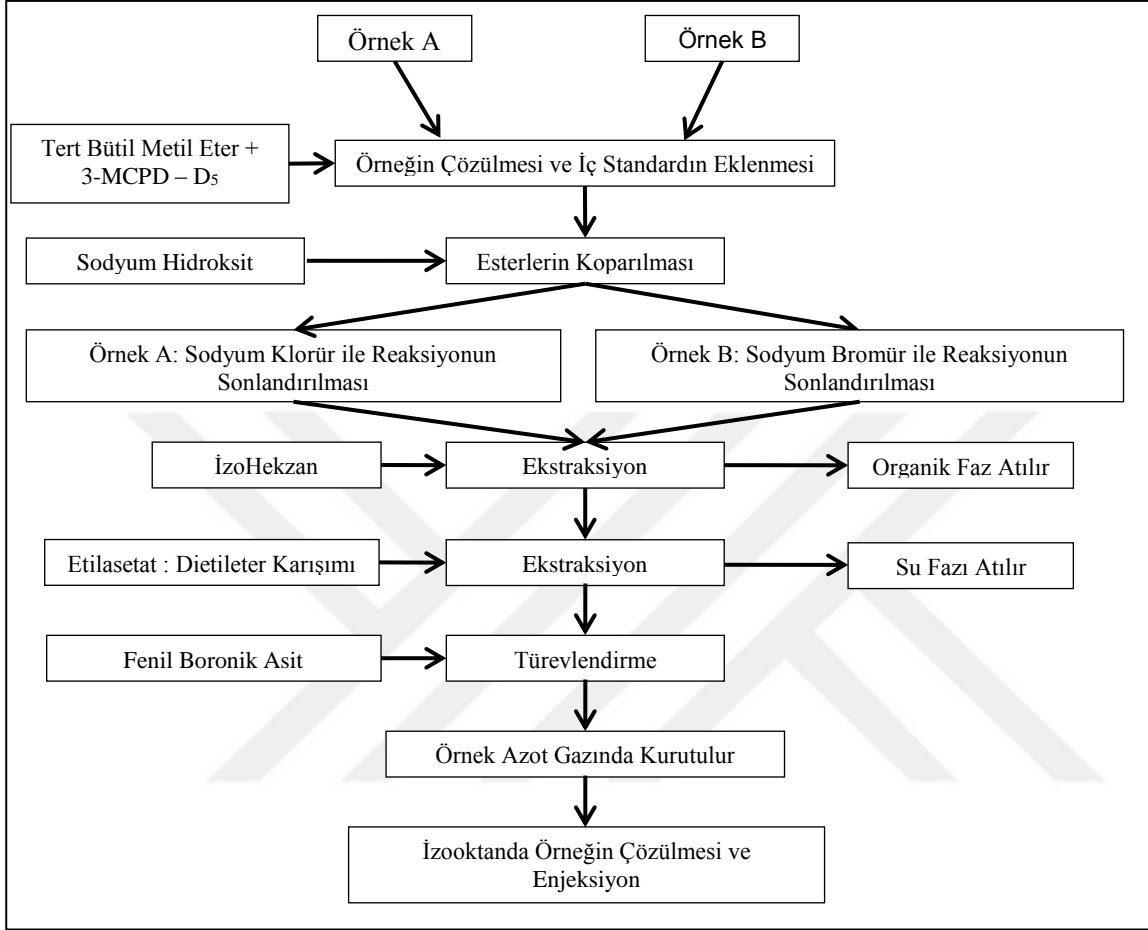
Örneklerin monogliserit ve digliserit içeriklerinin belirlenmesinde, AOCS Cd 11c-93(09)’de belirtilen kolon kromatografisi esasına dayanan yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemde silikajel ile doldurulan cam kolondaki 1 g yağ örneğinden sürekli olarak dietileter-petrol eteri (1:3) karışımı, ve saf dietil eter geçirilerek sırasıyla digliserit ve monogliseritler elde edilmiştir. Toplam monogliserit ve toplam digliserit miktarları kütlece yüzde (%) olarak verilmiştir.

3.2.2.3. 3-MCPD ve Glisidil Ester Miktarı Tayini

Serbest 3-MCPD miktarının belirlenmesinde DGF C VI 18(10) standart yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde iki ayrı vial (A ve B) tartılan yağ örneklerine 100µl 3-MCPD-D₅ (5mg/kg serbest 3-MCPD) iç standardı eklendikten sonra 200µl sodyum hidroksit kullanılarak tüm ester bağlarının parçalanması ve 3-MCPD esterlerinin serbest hale geçmesi sağlanmıştır. Daha sonra, ilk vial (A) 200µl asitlendirilmiş NaCl çözeltisi, ikinci vial (B) ise 200µl asitlendirilmiş NaBr çözeltisi eklenerek reaksiyonlar durdurulmuştur. Oluşan organik fazlar 600µl izoheksan ile 3 kez ekstrakte edilerek atılmıştır. Kalan fazlar 600µl etilasetat – dietileter karışımı ile ekstrakte edilerek yeni deney tüplerinde toplanmıştır. Yeni tüplerde toplanan fazlara 100µl türevlendirme ajanı (dietil eterde hazırlanan doymuş fenilboronik asit çözeltisi) eklendikten sonra örnekler kuru hava akımı altında kurutulmuştur. Katı haldeki kurutulmuş örnek 500µl isooktanda çözülüp, GC/MS cihazına enjekte edilmiştir.

Çalışma kapsamında gerçekleştirilen tüm analizler iki paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Analizin tespit limiti, 3-MCPD esterleri için 0,25 mg/kg glisidil esterleri için 0,1mg/kg olarak belirlenmiştir.

Yöntemin akış şeması Şekil 3.7’de verilmiştir.



Şekil 3.7. 3-MCPD Analiz yönteminin akış şeması

GS/MS cihazında uygulanan çalışma koşulları aşağıda yer almaktadır;

- Enjeksiyon hacmi: 2 µl;
- Taşıyıcı gaz: Helyum, sabit hızda 1 ml/dak ;
- GC fırın sıcaklık programı: 85°C, izotermal 0,5 dakika, 6°C/dak artışla 150°C, 12°C/dak artışla 180°C, 25°C/dak artışla 280°C, 7dak izotermal
- Kütle spektrometrik dedektör: Electron Impact (EI), Selected Ion Monitoring (SIM) modunda, iç standart (3-MCPD-d5): m/z= 201 veya 150; örnekteki 3-MCPD: m/z= 196 veya 147

GC/MS'den elde edilen kromatogramlardaki kütle/yük=147 olan kromatogram üzerinden örnekte bulunan 3-MCPD pik alanı, kütle/yük=150 olan kromatogram üzerinden ise iç standart ile ilgili pik alanı hesaplanmıştır. Analiz sonuçlarına bağlı olarak elde edilen GC/MS kromatogramlarındaki pik alanları kullanılarak örneklerde bulunan 3-MCPD miktarları Eşitlik 3.1 yardımıyla hesaplanmıştır.

$$3 - \text{MCPD} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) = \frac{\text{Alan}_{\left(\frac{m}{z}=147\right)} \times M_{3-\text{MCPD Std}}}{\text{Alan}_{\left(\frac{m}{z}=150\right)}} \quad (\text{Eşitlik 3.1})$$

Alan(m/z=147): Örneklerin GC/MS kromatogramının kütle/yük=147 için tespit edilen pik alanı

Alan(m/z=150): Örneklerin GC/MS kromatogramının kütle/yük=150 için tespit edilen pik alanı

$M_{3-\text{MCPD Std}}$: 3-MCPD iç standardının yoğunluğu (mg/kg)

3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri toplamının belirlenmesi için A örneğindeki pik alanlarından (3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri topla miktarı) B örneğindeki pik alanları (3-MCPD esterleri miktarı) çıkarılmıştır. Bu fark üzerinden örneklerdeki glisidil esterlerinin miktarı belirlenmiştir.

3.2.2.4. İstatistiksel Analiz ve Optimizasyon

Deneme dizaynının oluşturulması için gerekli olan sıcaklık, basınç ve su miktarı değişkenlerinin alt ve üst limitleri, gerçekleştirilen literatür taraması ve yapılan su buharı distilasyonu ön denemeleri ile belirlenerek sonuçlar Çizelge 3.3'de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Su buharı distilasyonu parametrelerinin alt ve üst limitleri

Faktörler	Bağımsız değişkenler	Değişken Seviyeleri		
		-1	0	+1
A	Sıcaklık (°C)	230	245	260
B	Su Miktarı (ml su/dak)	1	1,5	2
C	Basınç (mbar)	2	3	4

Zeytinyağı ve prina yağının su buharı distilasyonu denemelerinde Design Expert 7.0 yazılımı ile oluşturulan Box-Behnken deneme dizaynı kullanılmıştır (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4. Su buharı distilasyonu denemelerinde kullanılan Box-Behnken deneme dizaynı

Std	Run	Block	Sıcaklık (°C)	Su Miktarı (ml/dak)	Basınç (mbar)
9	1	Block 1	0	-1	-1
12	2	Block 1	0	1	1
17	3	Block 1	0	0	0
15	4	Block 1	0	0	0
6	5	Block 1	1	0	-1
8	6	Block 1	1	0	1
13	7	Block 1	0	0	0
5	8	Block 1	-1	0	-1
16	9	Block 1	0	0	0
10	10	Block 1	0	1	-1
2	11	Block 1	1	-1	0
7	12	Block 1	-1	0	1
3	13	Block 1	-1	1	0
14	14	Block 1	0	0	0
1	15	Block 1	-1	-1	0
11	16	Block 1	0	-1	1
4	17	Block 1	1	1	0

Su buharı distilasyonu işlemleri sonrasında elde edilen zeytinyağı ve pirina yağı örneklerinin 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri içerikleri belirlenmiştir. 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri miktarının su buharı distilasyon parametreleri ile olan ilişkisi Design Expert yazılımı ile polinomial denklikler oluşturularak modellenmiştir. Modelleme çalışmasında öncelikle polinomial terimlerin tümü ile modeller oluşturulmuş, geri eleme (back-substitution) yöntemi ile de modeller geliştirilmiştir. Bu aşamada sıcaklık (A), su miktarı (B) ve basınç (C) terimlerinin modelden çıkarılması durumunda bu terimler, çalışmanın hipotezlerinin dayandığı temel terimler olduğu için modele tekrar eklenmiş ve geliştirilen modellerin mantıksal çerçeveden uzaklaşması engellenmiştir (Myers et al., 2011).

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1 Zeytinyağı ve Pirina Yağının Genel Kimyasal Özellikleri

Su buharı distilasyonu işleminin uygulanacağı zeytinyağının serbest yağ asidi içeriğinin %10,1; monogliserit oranının %10,9; digliserit oranının %8,5 olduğu saptanmıştır. Zeytinyağında 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri tespit edilmemiştir (Çizelge 3.1).

Pirina yağının ise serbest yağ asidi içeriğinin %0,8; monogliserit oranının %7,4; digliserit oranının %3,2; 3-MCPD esterleri miktarının 4,1mg/kg ve glisidil esterleri miktarının ise 0,3mg/kg olduğu belirlenmiştir. Pirina yağına fiziksel rafinasyon öncesinde kimyasal nötralizasyon işleminin uygulanması nedeniyle monogliserit ve digliserit oranları ile serbest yağ asidi içeriğinin, zeytinyağına göre daha düşük olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3.1).

Kimyasal rafinasyonda asitlik giderme işlemi, serbest yağ asitlerinin bir alkali çözültisi ile sabunlaştırılması, oluşan sabunun yıkama işlemi ile nötr yağdan uzaklaştırılması olmak üzere iki aşamada tamamlanmaktadır. Sabunlaşma reaksiyonu aşamasında digliseritler ve monogliseritler de sabunlaşarak sabun fazıyla birlikte yağdan ayrılmaktadırlar. Bu nedenle; kimyasal asitlik giderme işlemi uygulanan pirina yağında digliserit ve monogliserit miktarı, zeytinyağına kıyasla istatistiksel olarak önemli düzeyde daha düşük bulunmuştur ($P < 0,05$).

Araştırmalar, 3-MCPD'nin öncü maddeleri olarak bilinen digliseritleri ve monogliseritleri yüksek miktarda içeren yağların, 3-MCPD esterlerinin oluşumu açısından daha riskli olduğunu göstermektedir. Digliseritler ve monogliseritler, trigliseritlerin hidrolizi sonucunda oluşan parçalanma ürünleridir. Özellikle zeytin, palm gibi yağlı meyvelerde, meyvenin yapısındaki yağ ve su temas halinde bulunduğu için özütleme öncesinde meyve yağlarında hidroliz reaksiyonunun gerçekleşme ihtimali, tohum yağlarına oranla daha yüksektir. Bu nedenle genel olarak meyvelerden elde edilen yağların monogliserit ve digliserit içeriği tohum yağlarına göre daha yüksek olmaktadır.

Oluşum mekanizması göz önünde bulundurulduğunda herhangi bir ısı işlem görmeden üretilen yağlarda 3-MCPD bulunması beklenmemektedir. Zeytinyağının 3-MCPD içermemesi bu nedenle beklenen bir durumdur. Pirina yağının üretiminde ise yüksek sıcaklıktaki hava ile kurutma söz konusudur. Kurutma sırasında yağlı pirinanın sıcaklığı 400-500°C seviyelerine ulaşabilmektedir. Ön asitlik giderme işlemi uygulanan pirina yağının 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri içermesi, yüksek sıcaklık uygulaması ile kurutulan pirinanın yağ üretiminde kullanılmasından kaynaklanmaktadır.

4.2. Su Buharı Distilasyonunda Sıcaklık ve Süre İlişkisinin Belirlenmesi

Su buharı distilasyonu işleminin amacı; yağdaki kötü tat ve koku oluşumuna neden olan bileşenlerin yağdan uzaklaştırılmasının yanı sıra serbest yağ asidi içeriğinin de düşürülmesidir. Bu nedenle su buharı distilasyonu işlemi, yağın serbest yağ asidi içeriği en yüksek %0,5 ve peroksit sayısı sıfır değerine ulaşana kadar devam etmektedir (Shahidi, 2005; De Greyt, 2013).

Su buharı distilasyonu aşamasında uygulanacak işlem süresi, sıcaklığa bağlı olarak değişen, işlem sonunda yağın serbest yağ asidi içeriği ve peroksit sayısının standart değerlere ulaşması için gerekli olan süre olarak tanımlanmıştır. Sürenin belirlenmesi amacıyla, serbest yağ asidi içeriği pirina yağına göre daha yüksek olan zeytinyağı örneği; 230°C, 245°C, 260°C sıcaklıklarda su buharı distilasyonu işlemine tabi tutularak serbest yağ asidi içeriğinin en yüksek %0,5; peroksit sayısının ise sıfır değerine düşmesi için gerekli olan işlem süreleri belirlenmiştir. En uygun işlem süreleri; 260°C'de 60dak, 245°C'de 90dak, 230°C'de ise 120dak olarak saptanmıştır (Çizelge 3.2).

Pirina yağına uygulanan su buharı distilasyonunda da zeytinyağı için belirlenmiş olan sıcaklık-süre kombinasyonları kullanılmıştır.

4.3. Zeytinyağında 3-MCPD Esterleri Oluşumuna Su Buharı Distilasyonu Koşullarının Etkisinin Modellenmesi

Deneme dizaynında yer alan işlem koşulları uygulanarak su buharı distilasyonuna tabi tutulan zeytinyağı örneklerindeki 3-MCPD esterlerinin miktarı Çizelge 4.1’de, 3-MCPD esterleri miktarının hesaplanması ile ilgili veriler Ek 1’de, GC/MS kromatogramları Ek 2’de, varyans analiz sonuçları Ek 3 ve Ek 4’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Farklı koşullarda su buharı distilasyonu işlemi uygulanan zeytinyağındaki 3-MCPD esterlerinin miktarı

Deneme No	Sıcaklık (°C)	Su Miktarı (ml su/dak)	Basınç (mbar)	Süre (dak)	3-MCPD Esterleri (mg/kg)
1	245	1	2	60	6,3
2	245	2	4	60	5,7
3	245	1,5	3	60	5,8
4	245	1,5	3	60	3,6
5	260	1,5	2	30	6,9
6	260	1,5	4	30	6,6
7	245	1,5	3	60	5,6
8	230	1,5	2	90	4,3
9	245	1,5	3	60	6
10	245	2	2	60	5,6
11	260	1	3	30	6,7
12	230	1,5	4	90	4,6
13	230	2	3	90	4,3
14	245	1,5	3	60	5,5
15	230	1	3	90	3,9
16	245	1	4	60	6
17	260	2	3	30	5,4

Çizelge 4.1’de görüldüğü gibi başlangıçta 3-MCPD esterleri içermeyen zeytinyağında, su buharı distilasyonu işlemi sonucu 3,6-6,9mg/kg arasında değişen miktarlarda 3-MCPD esterleri meydana gelmektedir.

Zeytinyağının 3-MCPD esterleri içeriğinin su buharı distilasyon koşullarına göre değişimini incelemek amacıyla, Dean and Voss (1999) ve Myers et al., (2011) tarafından da önerildiği gibi, işlem parametrelerini, interaksiyonları ve ikinci dereceden terimleri içeren, daha doğru bir yaklaşım olan polinomial model oluşturulmuştur. Oluşturulan bu modelin, model uyumsuzluğunun önem dereceleri varyans analizi ile incelenmiştir (Ek 3).

Zeytinyağında 3-MCPD esterlerinin oluşumu ile ilgili tüm polinomiyal terimlerin kullanılması ile oluşturulan modelin istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir ($P < 0,05$). Bu nedenle “geriye doğru eleme” yöntemi ile önem derecesi $\alpha=0,1$ 'den büyük olan terimler elenerek yeni bir model geliştirilmiştir. Modelden çıkarılan terimler ve bu terimler ile ilgili veriler Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Su buharı distilasyonu sırasında zeytinyağında oluşan 3-MCPD esterleri ile ilgili modelin geliştirilmesi için geriye doğru eleme yöntemi ile çıkarılan terimler

Çıkarılan Terim	R ²	Hata Kareler Ortalaması
C-Basınç	0,7565303	0,4790625
B²	0,7561541	0,4264912
BxC	0,753613	0,3878421
AxC	0,7478955	0,3607656
A²	0,7296898	0,3545833
B-Su Miktarı	0,701023	0,3620192
AxB	0,6551243	0,3877679

Terimlerin çıkarılmasını takiben “C-Basınç” terimi, “C²” teriminin modelde kalması nedeniyle model hiyerarşisini korumak amacıyla tekrar modele eklenmiştir. Ayrıca, “B-Su Miktarı” terimi de su buharı distilasyonunun temel değişkenlerinden biri olduğu için modele tekrar ilave edilmiştir. Geliştirilen modelin istatistiksel olarak önemli olduğu ($P < 0,05$), model uyumsuzluğunun da önemsiz olduğu ($P > 0,05$) Ek 4’de verilen varyans analiz tablosunda görülmektedir.

Geliştirilen model tarafından tahmin edilen değerlerin, deneysel olarak elde edilen verileri açıklayabilme derecesini belirlemek için regresyon katsayısı (R²), düzeltilmiş regresyon katsayısı (R²_{adj}) ve varyans sabiti (CV) belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Ayrıca modelin uygunluğu “Yeterli Kesinlik” değeri ile doğrulanmış ve bu değer “4” değerinden büyük olduğu saptanmıştır.

Su buharı distilasyonunda sıcaklığın 3-MCPD esterleri oluşumu üzerine olan etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu ($P < 0,05$) belirlenirken, su miktarının ve basıncın 3-MCPD esterleri oluşumu üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etkisi olmadığı ($P > 0,05$) saptanmıştır (Ek 4).

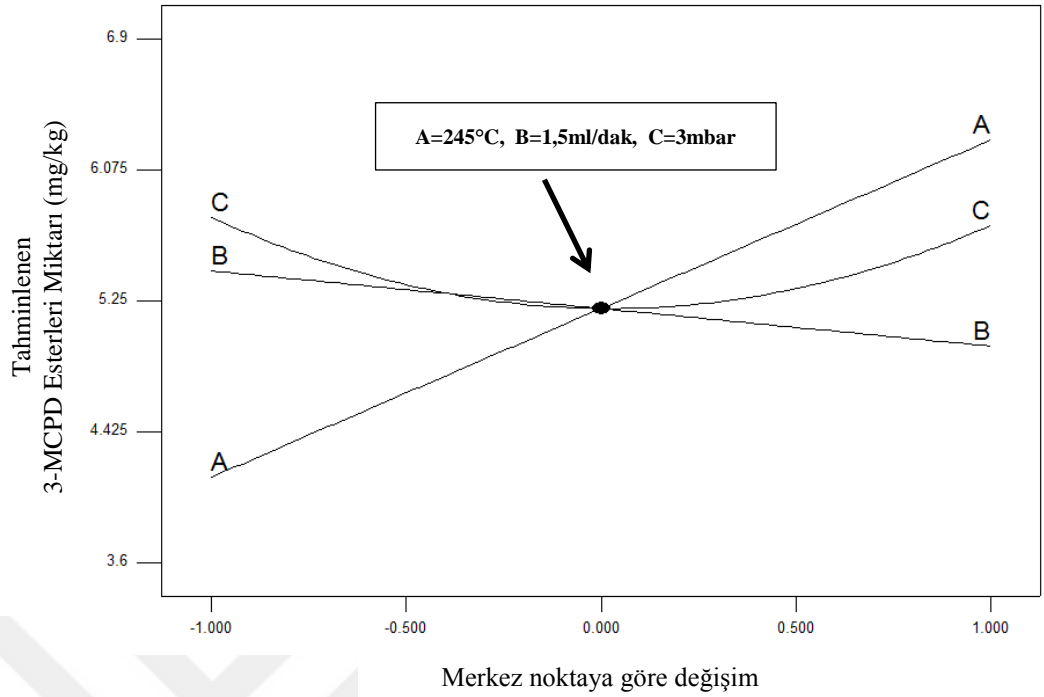
Çizelge 4.3. Su buharı distilasyonu sırasında zeytinyağında oluşan 3-MCPD esterleri miktarı üzerine işlem parametrelerinin etkisini gösteren matematiksel modelin uyumluluğu ile ilgili değerler

	Değer
Ortalama	5,46
Standart Sapma	0,64
C.V. %	11,79
PRESS	7,71
R²	0,68
R²_{adj}	0,57
Pred R²	0,51
Adequate Precision (Yeterli Kesinlik)	8,414

Su buharı distilasyonu sırasında zeytinyağında oluşan 3-MCPD esterleri miktarının işlem sıcaklığı, su miktarı ve basınca göre değişimi ile ilgili matematiksel model (Eşitlik 4.1) aşağıda verilmiştir.

$$3 - \text{MCPD Esterleri} \left(\frac{mg}{kg} \right) = -6,4 + 0,07 * \text{Sıcaklık}(\text{°C}) - 0,48 * \text{Su Miktarı} \left(ml \frac{su}{dk} \right) - 3,33 * \text{Basınç} (mbar) + 0,55 * \text{Basınç}^2 \quad (\text{Eşitlik 4.1})$$

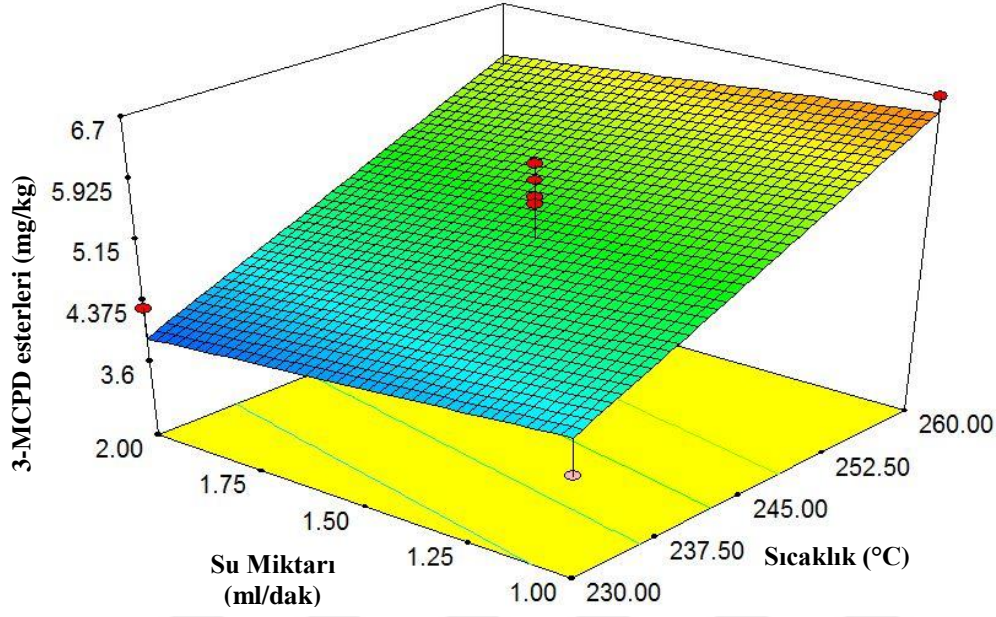
Su buharı distilasyonu sırasında zeytinyağında meydana gelen 3-MCPD esterlerinin oluşturulan matematiksel model ile tahminlenen miktarının, deneysel verilerle uyumu Şekil 4.1’de görülmektedir.



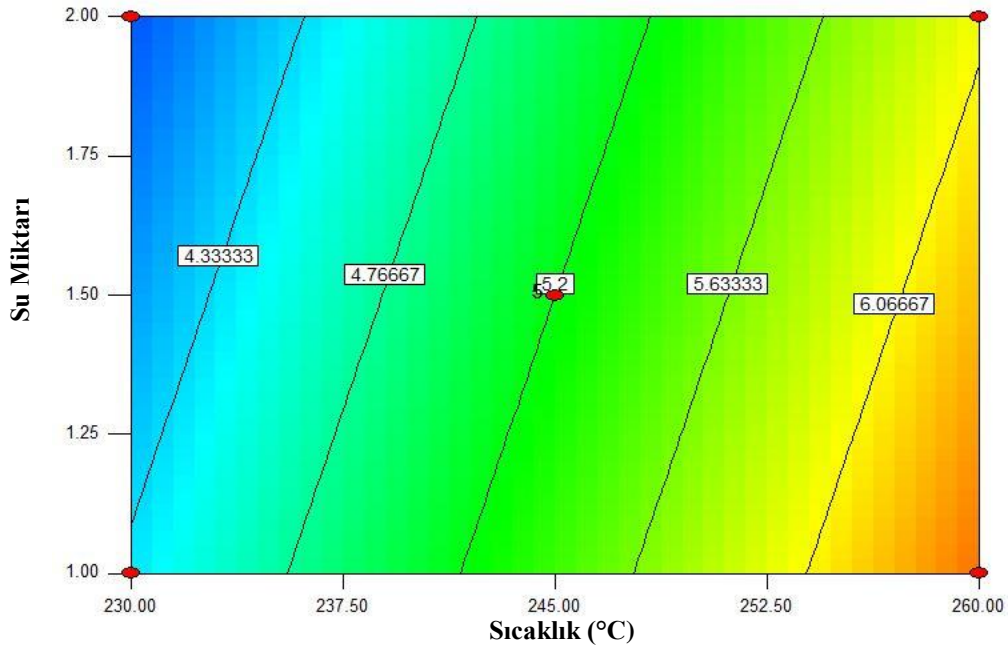
Şekil 4.2. Su buharı distilasyonu sırasında zeytinyağında 3-MCPD esterleri oluşumuna işlem parametrelerinin etkisini gösteren pertürbasyon eğrileri [A-Sıcaklık (°C), B-Su Miktarı (ml/dak), C-Basınç (mbar)]

Pertürbasyon eğrileri incelendiğinde, en yüksek eğime sahip olan faktörün işlem sıcaklığı olduğu görülmektedir. Bu nedenle tüm faktörler arasında sıcaklığın, zeytinyağının su buharı distilasyonu sırasında 3-MCPD esterlerinin oluşumu üzerinde en etkili faktör olduğu anlaşılmaktadır. 245°C sıcaklık ve 1,5ml/dak su miktarında basınçtaki değişimin (artma-azalma), oluşan 3-MCPD esterleri miktarını artırabileceği görülmektedir.

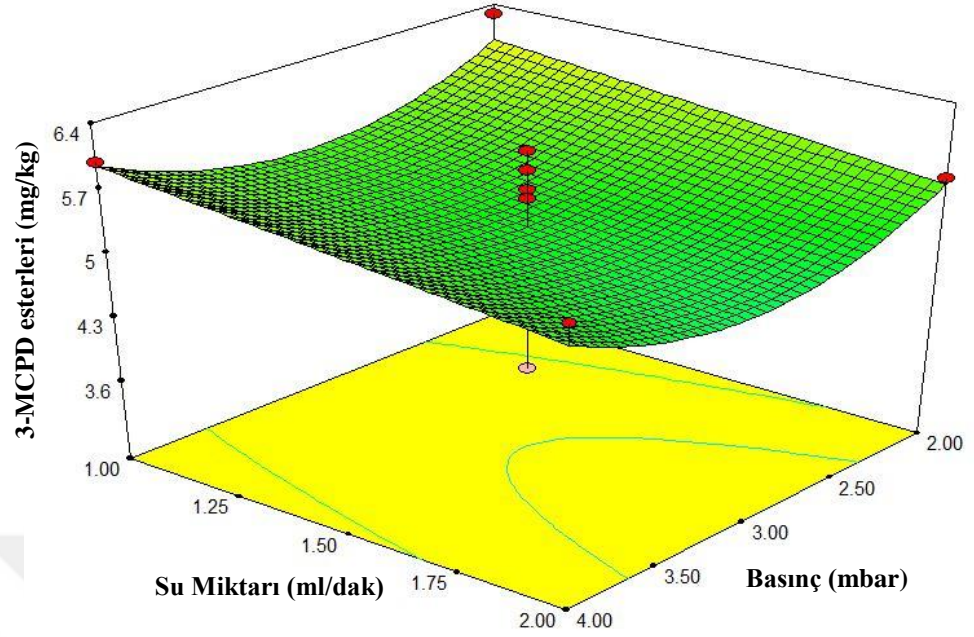
Geliştirilen matematiksel modele ait, su buharı distilasyonu sırasında zeytinyağında oluşan 3-MCPD esterleri miktarına; işlem sıcaklığının, su miktarının ve basıncın etkisi ile ilgili cevap yüzey grafikleri Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7 ve Şekil 4.8'de verilmiştir.



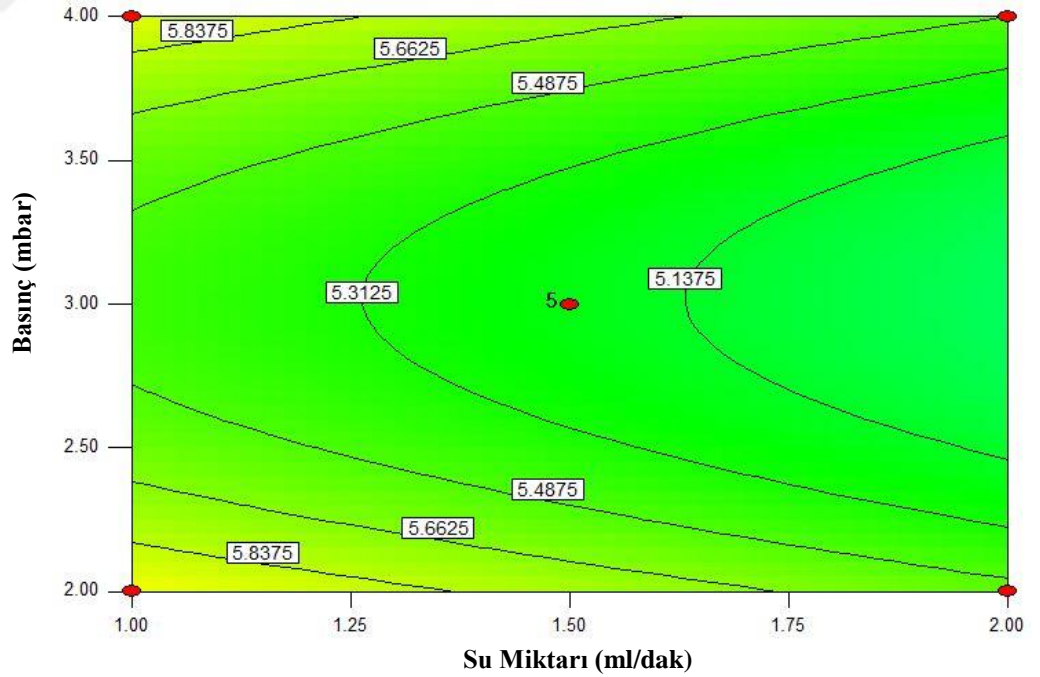
Şekil 4.3. Su buharı distilasyonu sırasında uygulanan sıcaklığın ve su miktarının zeytinyağında oluşan 3-MCPD esterleri miktarına etkisi (üç boyutlu grafik)



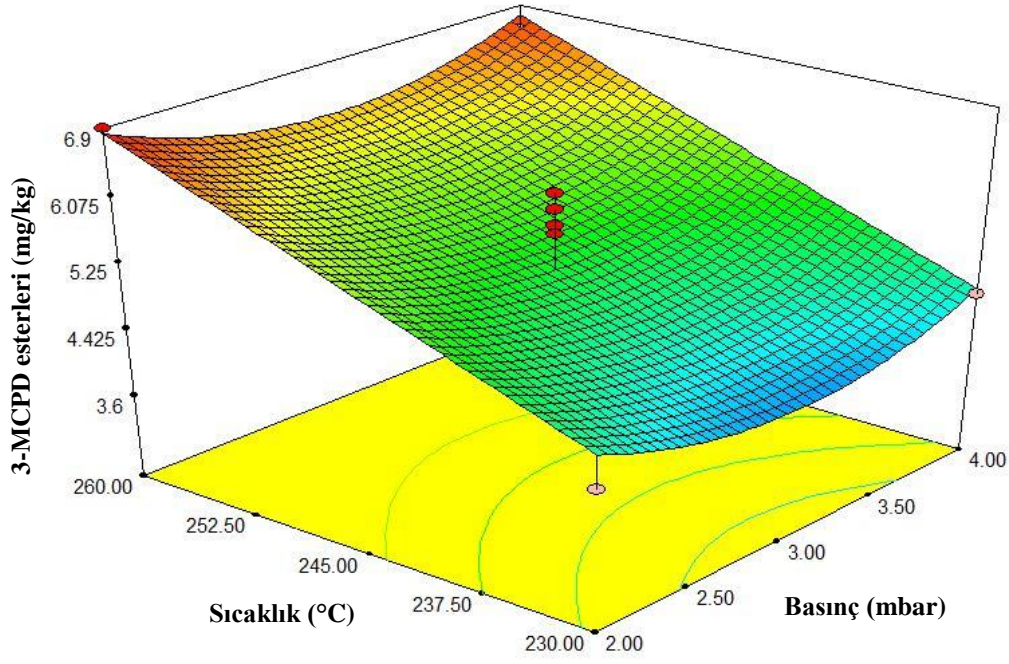
Şekil 4.4. Su buharı distilasyonu sırasında uygulanan sıcaklığın ve su miktarının zeytinyağında oluşan 3-MCPD esterleri miktarına etkisi (eşyükselti eğrisi)



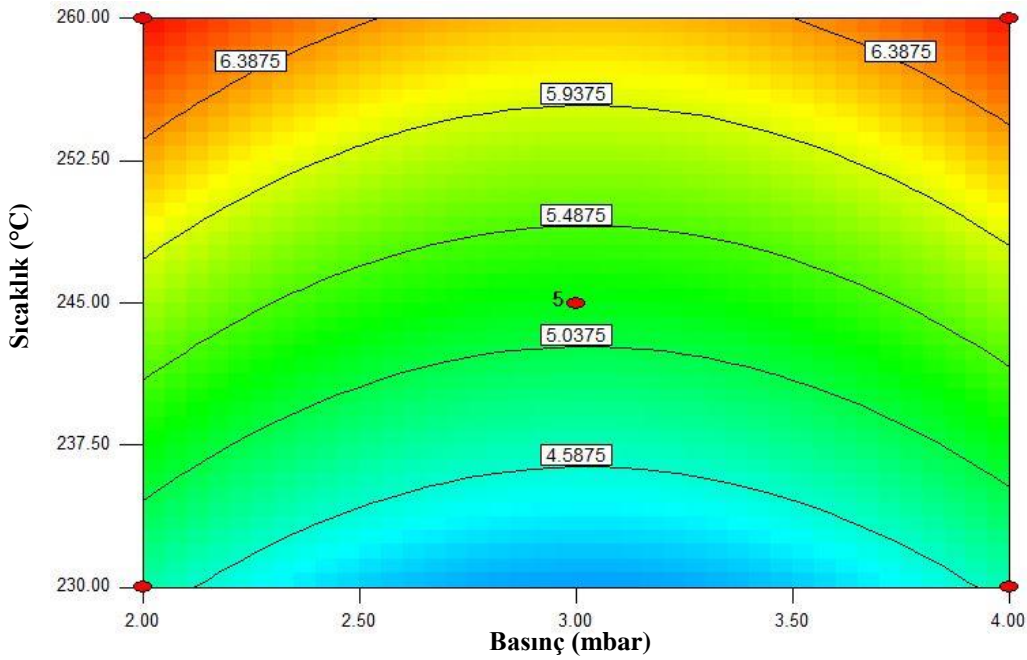
Şekil 4.5. Su buharı distilasyonu sırasında uygulanan basıncın ve su miktarının zeytinyağında oluşan 3-MCPD esterleri miktarına etkisi (üç boyutlu grafik)



Şekil 4.6. Su buharı distilasyonu sırasında uygulanan basıncın ve su miktarının zeytinyağında oluşan 3-MCPD esterleri miktarına etkisi (eşyükselti eğrisi)



Şekil 4.7. Su buharı distilasyonu sırasında uygulanan basıncın ve sıcaklığın zeytinyağında oluşan 3-MCPD esterleri miktarına etkisi (üç boyutlu grafik)



Şekil 4.8. Su buharı distilasyonu sırasında uygulanan basıncın ve sıcaklığın zeytinyağında oluşan 3-MCPD esterleri miktarına etkisi (eşyükselti eğrisi)

Cevap yüzey grafikleri değerlendirildiğinde, su buharı distilasyonu sırasında işlem sıcaklığının yükselmesinin, zeytinyağında oluşan 3-MCPD esterlerinin miktarını istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P<0,05$) artırdığı görülmektedir.

İşlem basıncının 3 mbar'dan daha düşük veya daha yüksek olmasının 3-MCPD esterleri oluşumunu artırdığı belirlenmiş, ancak basıncın etkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). Su buharı distilasyonunda su miktarının değişmesinin de 3-MCPD esterlerinin oluşumuna etkisinin önemsiz olduğu tespit edilmiştir ($P>0,05$) (Ek 4).

Elde edilen sonuçlar, bu konuda daha önceden yapılmış olan çalışmaların sonuçlarıyla uyum göstermektedir (Pudel et al., 2011; Zelinkova et al., 2006; Shimizu et al., 2012; Macmahon et al., 2013).

4.4. Zeytinyağında Glisidil Esterleri Oluşumuna Su Buharı Distilasyonu Koşullarının Etkisinin Modellenmesi

Deneme dizaynında yer alan işlem koşulları uygulanarak su buharı distilasyonu işlemine tabi tutulan zeytinyağı örneklerindeki glisidil esterleri miktarı Çizelge 4.4'de verilmiştir. Glisidil esterleri miktarının hesaplanması ile ilgili veriler Ek 1'de, GC/MS kromatogramları Ek 2'de, varyans analiz sonuçları Ek 5 ve Ek 6'da yer almaktadır.

Çizelge 4.4. Su buharı distilasyonu işleminde zeytinyağında oluşan glisidil esterleri miktarı

Deneme No	Sıcaklık (°C)	Su Miktarı (ml su/dak)	Basınç (mbar)	Süre (dak)	Glisidil Esterleri (mg/kg)
1	245	1	2	60	0,1
2	245	2	4	60	0,1
3	245	1,5	3	60	0,2
4	245	1,5	3	60	0,3
5	260	1,5	2	30	0,4
6	260	1,5	4	30	0,3
7	245	1,5	3	60	0,3
8	230	1,5	2	90	0,1
9	245	1,5	3	60	0,1
10	245	2	2	60	0,2
11	260	1	3	30	0,3
12	230	1,5	4	90	0,1
13	230	2	3	90	0,3
14	245	1,5	3	60	0,2
15	230	1	3	90	0
16	245	1	4	60	0,1
17	260	2	3	30	0,2

Çizelge 4.4’de görüldüğü gibi başlangıçta glisidil esterleri içermeyen zeytinyağında, su buharı distilasyonu işlemi sırasında 0,1-0,4mg/kg arasında değişen miktarlarda glisidil esterlerinin meydana geldiği saptanmıştır.

Zeytinyağının glisidil esterleri içeriğinin su buharı distilasyon koşullarına göre değişimini incelemek amacıyla işlem parametrelerini, interaksiyonları ve ikinci dereceden terimleri içeren polinomial bir model oluşturulmuştur. Oluşturulan bu modelin, model uyumsuzluğunun önem dereceleri varyans analizi ile incelenmiştir (Ek 5).

Zeytinyağında glisidil esterleri oluşumu ile ilgili tüm polinomial terimlerin kullanılması ile oluşturulan modelin istatistiksel olarak önemsiz olduğu ($P>0,05$) belirlenmiştir. Bu nedenle “geriye doğru eleme” yöntemi ile önem derecesi $\alpha=0,1$ ’den büyük olan terimler elenerek model geliştirilmiştir. Modelden çıkarılan terimler ve bu terimler ile ilgili veriler Çizelge 4.5’de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Su buharı distilasyonu sırasında zeytinyağında glisidil esterleri oluşumu ile ilgili modelin geliştirilmesi için geriye doğru eleme yöntemi ile çıkarılan terimler

Çıkarılan Terim	R ²	Hata Kareler Ortalaması
AxC	0,772981	0,005375
BxC	0,759783	0,005056
C-Basınç	0,733385	0,00505
C ²	0,706154	0,00506
A ²	0,673697	0,00515
B-Su Miktarı	0,614303	0,00562
B ²	0,53455	0,006297

Terimlerin çıkarılmasını takiben “C-Basınç” ve “B-Su Miktarı” terimleri, “C²” ve “B²” terimlerinin modelde kalması nedeniyle model hiyerarşisini korumak amacıyla tekrar modele eklenmiştir. Geliştirilen modelin istatistiksel olarak önemli olduğu ($P < 0,05$), model uyumsuzluğunun da önemsiz olduğu ($P > 0,05$), Ek 6’da verilen varyans analiz tablosunda görülmektedir.

Geliştirilen model tarafından tahmin edilen değerlerin, deneysel olarak elde edilen verileri açıklayabilme derecesini belirlemek için regresyon katsayısı (R²), düzeltilmiş regresyon katsayısı (R²_{adj}) ve varyans sabiti (CV) belirlenmiştir (Çizelge 4.6). Ayrıca modelin uygunluğu “Yeterli Kesinlik” değeri ile doğrulanmış ve bu değer “4” değerinden büyük olduğu saptanmıştır.

Su buharı distilasyonunda sıcaklığın glisidil esterleri oluşumu üzerine olan etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenirken ($P < 0,05$), su miktarının ve basıncın 3-MCPD esterleri oluşumu üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etkisi olmadığı ($P > 0,05$) saptanmıştır (Ek 6).

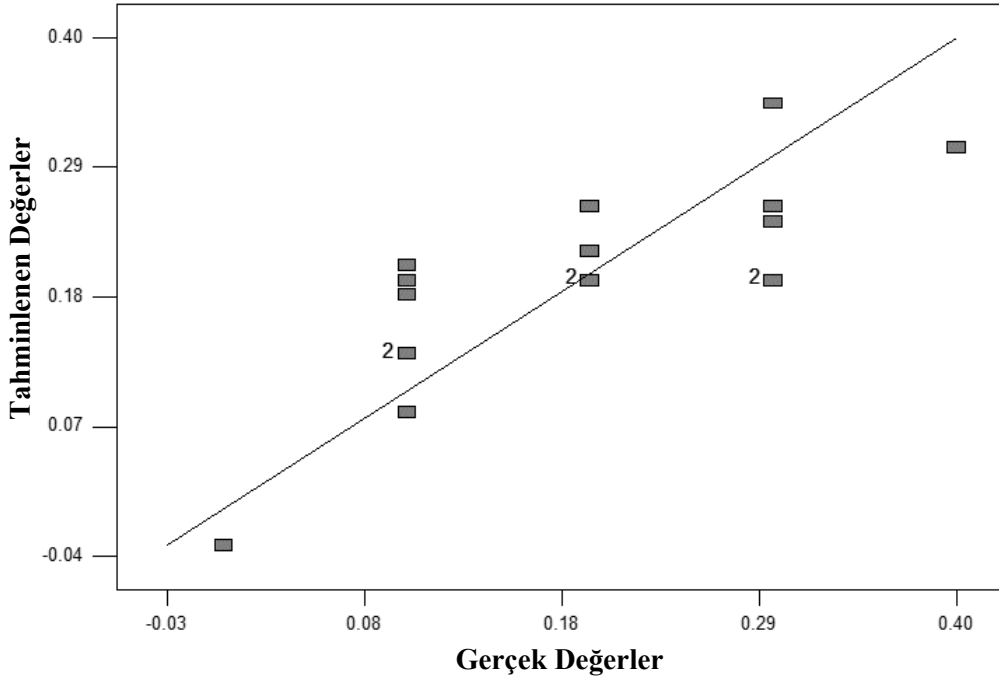
Çizelge 4.6. Su buharı distilasyonu sırasında zeytinyağında oluşan glisidil esterleri miktarı üzerine işlem parametrelerinin etkisini gösteren matematiksel modelin uyumluluğu ile ilgili değerler

	Değer
Ortalama	0,19
Standart Sapma	0,08
C.V. %	39,88
PRESS	0,14
R ²	0,62
R ² _{adj}	0,49
Pred R ²	0,26
Adequate Precision (Yeterli Kesinlik)	8,932

Su buharı distilasyonu sırasında zeytinyağında oluşan glisidil esterleri miktarının işlem sıcaklığı, su buharı miktarı ve basınca göre değişimini veren matematiksel model (Eşitlik 4.2) aşağıda verilmiştir.

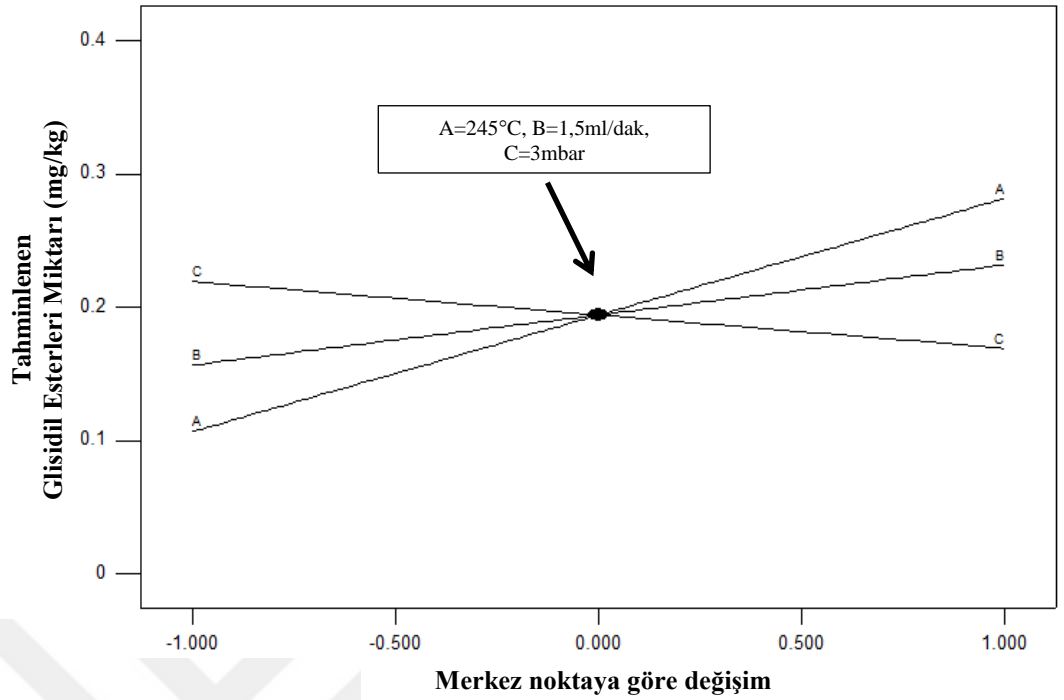
$$\text{Glisidil Esterleri} \left(\frac{mg}{kg} \right) = -6,17 + 0,025 * \text{Sıcaklık} (^{\circ}C) + 3,34 * \text{Su Miktarı} \left(ml \frac{su}{dk} \right) - 0,025 * \text{Basınç} (mbar) + 0,013 * \text{Sıcaklık} \times \text{Su Miktarı} \quad (\text{Eşitlik 4.2})$$

Su buharı distilasyonu sırasında zeytinyağında oluşan glisidil esterlerinin oluşturulan matematiksel model ile tahminlenen miktarının, deneysel verilerle uyumu Şekil 4.9'da görülmektedir



Şekil 4.9. Su buharı distilasyonu sırasında zeytinyağında glisidil esterleri oluşumu için model tarafından hesaplanan değerlere karşılık deneysel olarak elde edilen sonuçların dağılımı

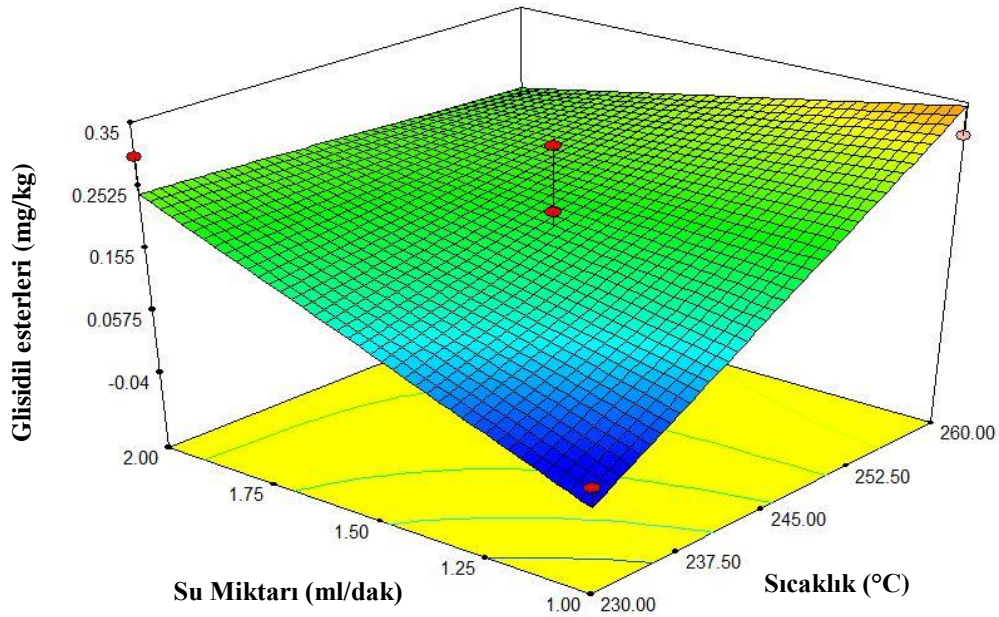
Zeytinyağında su buharı distilasyonu sırasında glisidil esterleri oluşumuna işlem parametrelerinin etkisi ile ilgili pertürbasyon eğrileri Şekil 4.10'da görülmektedir.



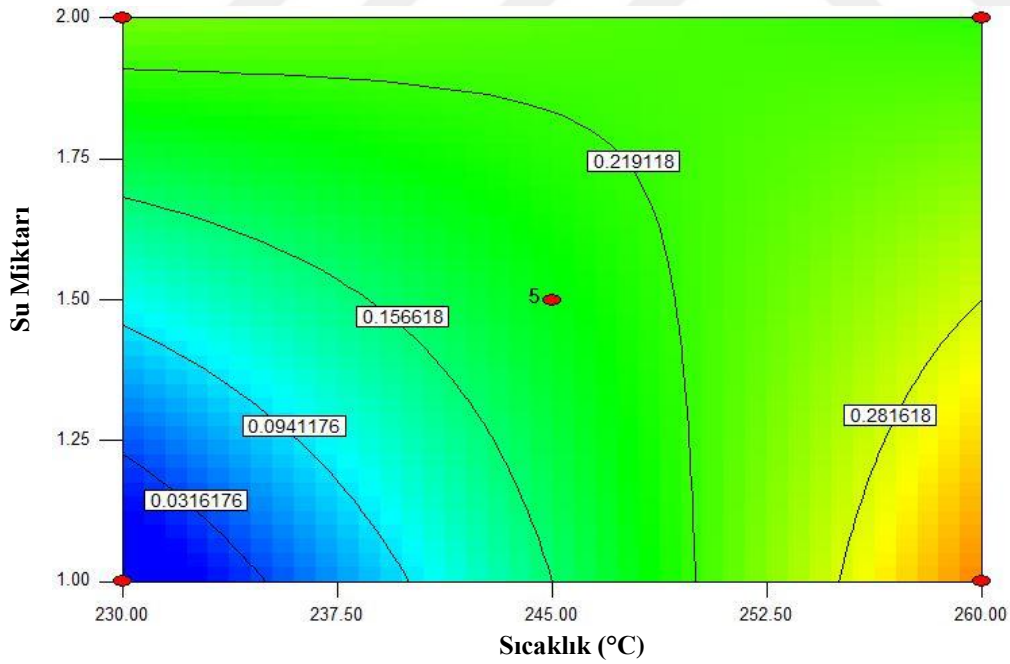
Şekil 4.10. Su buharı distilasyonu sırasında zeytinyağında oluşan glisidil esterlerine işlem parametrelerinin etkisini gösteren pertürbasyon eğrileri [A-Sıcaklık (°C), B-Su Miktarı (ml/dak), C-Basınç (mbar)]

Şekil 4.10'daki pertürbasyon eğrileri incelendiğinde, en yüksek eğime sahip olan faktörün işlem sıcaklığı olduğu, su miktarı ve basınç faktörlerinin pertürbasyon grafiği üzerindeki eğimlerinin ise daha az olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle tüm faktörler arasında sıcaklığın, zeytinyağlarının su buharı distilasyonu sırasında glisidil esterlerinin oluşumu üzerinde en etkili faktör olduğu anlaşılmaktadır.

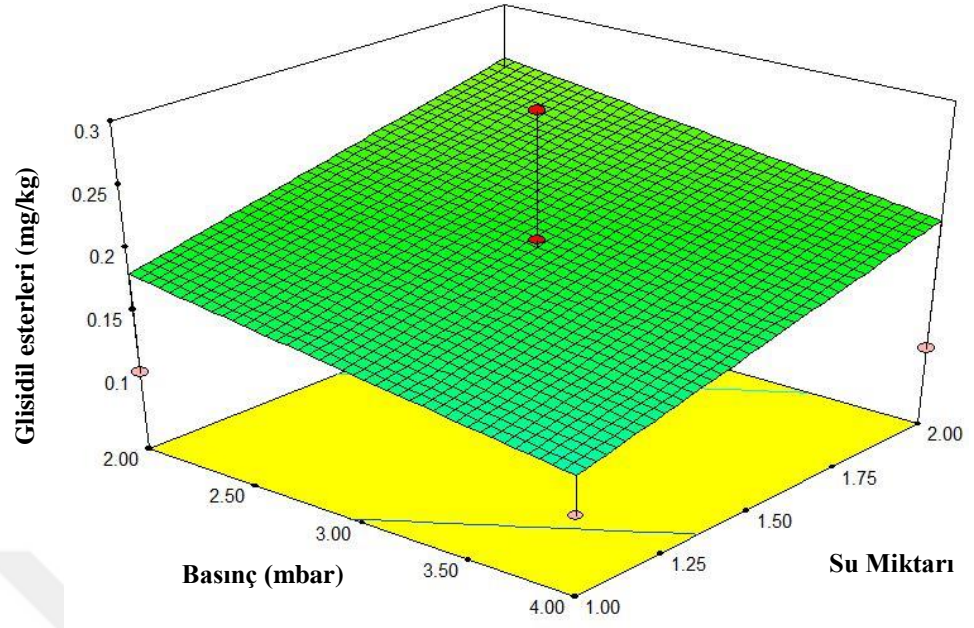
Geliştirilen matematiksel modele ait, su buharı distilasyonu sırasında zeytinyağında oluşan glisidil esterleri miktarına; işlem sıcaklığının, su miktarının ve basıncın etkisi ile ilgili cevap yüzey grafikleri Şekil 4.11, Şekil 4.12, Şekil 4.13, Şekil 4.14, Şekil 4.15 ve Şekil 4.16'da verilmiştir.



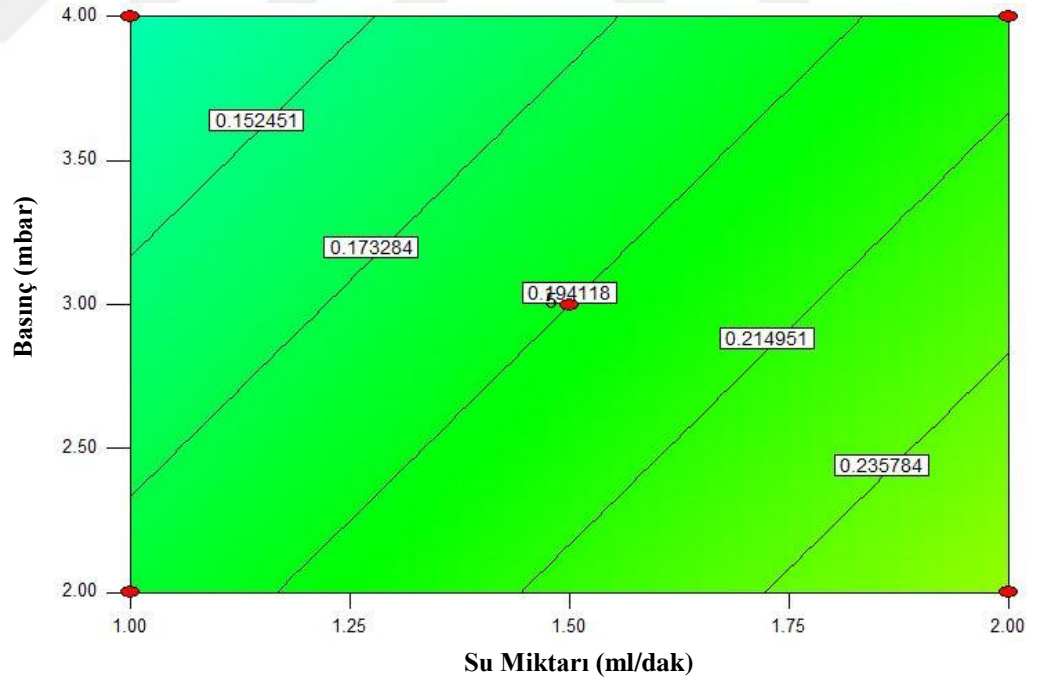
Şekil 4.11. Zeytinyağının su buharı distilasyonu sırasında uygulanan sıcaklığın ve su miktarının oluşan glisidil esterleri miktarına etkisi (üç boyutlu grafik)



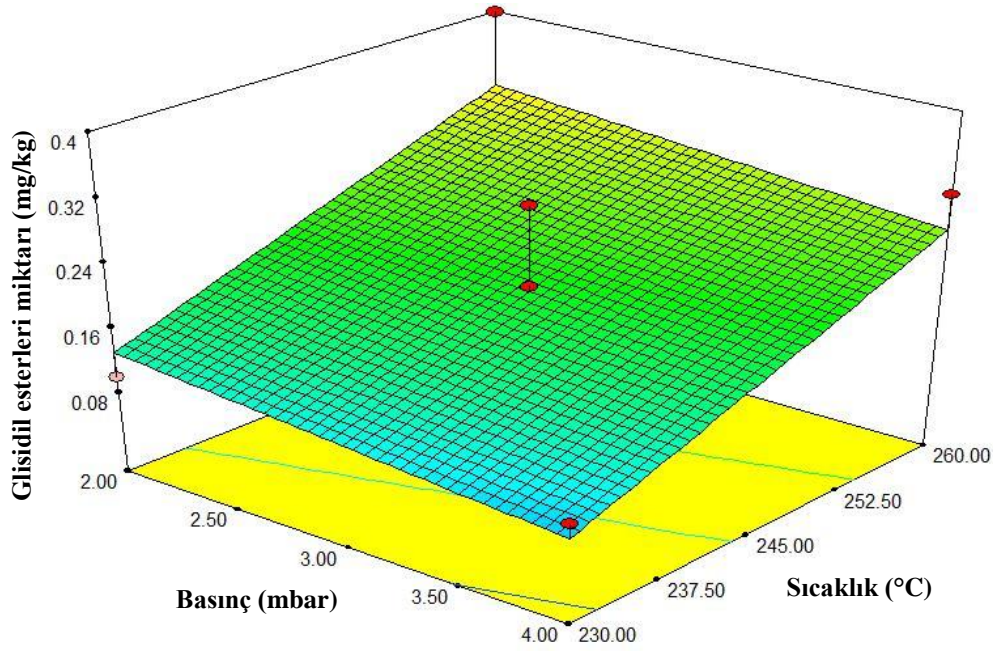
Şekil 4.12. Zeytinyağının su buharı distilasyonu sırasında uygulanan sıcaklığın ve su miktarının oluşan glisidil esterleri miktarına etkisi (eşyükselti eğrisi)



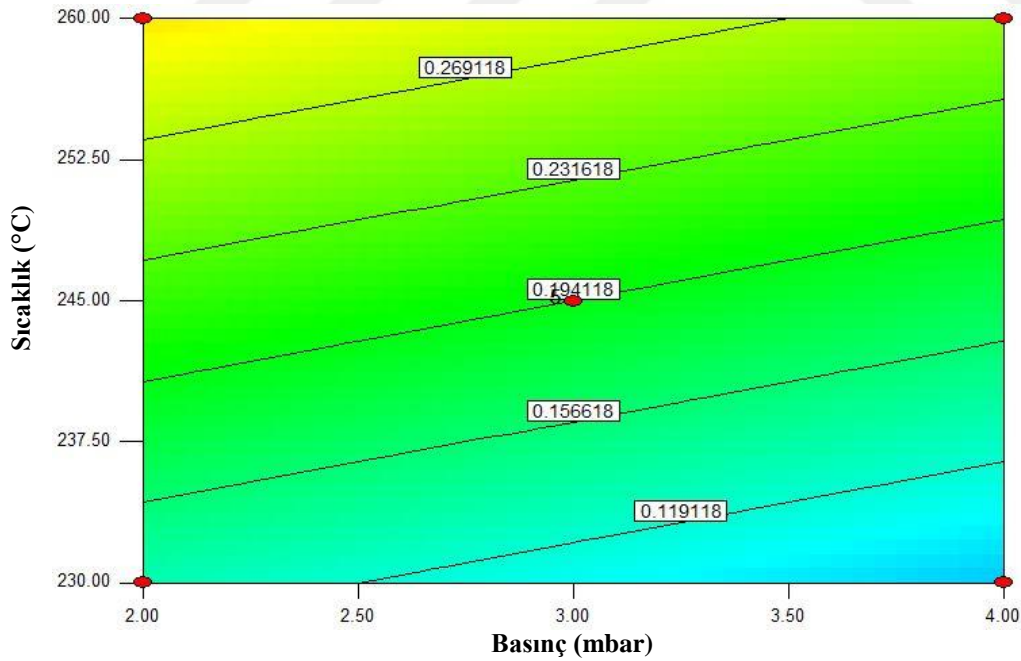
Şekil 4.13. Zeytinyağının su buharı distilasyonu sırasında uygulanan basıncın ve su miktarının oluşan glisidil esterleri miktarına etkisi (üç boyutlu grafik)



Şekil 4.14. Zeytinyağının su buharı distilasyonu sırasında uygulanan basıncın ve su miktarının oluşan glisidil esterleri miktarına etkisi (eşyüksekti eğrisi)



Şekil 4.15. Zeytinyağının su buharı distilasyonu sırasında uygulanan basıncın ve sıcaklığın oluşan glisidil esterleri miktarına etkisi (üç boyutlu grafik)



Şekil 4.16. Zeytinyağının su buharı distilasyonu sırasında uygulanan basıncın ve sıcaklığın oluşan glisidil esterleri miktarına etkisi (eşyükselti eğrisi)

Cevap yüzey grafikleri değerlendirildiğinde, su buharı distilasyonunda sıcaklığın yükselmesinin, zeytinyağında oluşan glisidil esterleri miktarını

istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P<0,05$) artırdığı görülmektedir. Ayrıca su buharı distilasyonunda basıncın 3 mbar'dan daha az veya daha yüksek olmasının da glisidil esterleri oluşumunu artırdığı bulgulanmıştır. Ancak, varyans analizi sonuçlarına göre bu etki istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). Ayrıca, glisidil esteri oluşumunda sıcaklık ve su miktarı arasındaki interaksiyonun istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P<0,05$).

4.5. Pirina Yağında 3-MCPD Esterleri Oluşumuna Su Buharı Distilasyonu Koşullarının Etkisinin Modellenmesi

Deneme dizaynında yer alan işlem koşulları uygulanarak su buharı distilasyonu işlemine tabi tutulan pirina yağı örneklerindeki 3-MCPD esterleri miktarı Şekil 4.7'de, 3-MCPD esterleri miktarının hesaplanması ile ilgili veriler Ek 7'de, GC/MS kromatogramları Ek 8'de, varyans analiz sonuçları Ek 9 ve Ek 10'da verilmiştir.

Çizelge 4.7. Su buharı distilasyonu işlemi sırasında pirina yağında oluşan 3-MCPD esterleri miktarı

Deneme No	Sıcaklık (°C)	Su Miktarı (ml su/dak)	Basınc (mbar)	Süre (dak)	Örneklerdeki 3-MCPD Esterleri (mg/kg)	Oluşan 3-MCPD Esterleri (mg/kg)
Başlangıç	-	-	-	-	4,1	-
1	245	1	2	60	5,7	1,6
2	245	2	4	60	7,1	3,0
3	245	1,5	3	60	8,7	4,6
4	245	1,5	3	60	6,4	2,3
5	260	1,5	2	30	8,6	4,5
6	260	1,5	4	30	10,9	6,8
7	245	1,5	3	60	8,5	4,4
8	230	1,5	2	90	7,1	3,0
9	245	1,5	3	60	6,3	2,2
10	245	2	2	60	9,1	5,0
11	260	1	3	30	9,1	5,0
12	230	1,5	4	90	6,9	2,8
13	230	2	3	90	6,0	1,9
14	245	1,5	3	60	9,4	5,3
15	230	1	3	90	6,5	2,4
16	245	1	4	60	7,7	3,6
17	260	2	3	30	9,3	5,2

Çizelge 4.7’de verilen değerler incelendiğinde farklı işlem koşullarında su buharı distilasyonu işlemi uygulanan pirina yağında oluşan 3-MCPD esterleri miktarının 5,7-10,9mg/kg arasında değiştiği görülmektedir. Pirina yağının başlangıçta 4,1mg/kg 3-MCPD esterleri içerdiği göz önünde bulundurularak, su buharı distilasyonu işlemi sırasında oluşan 3-MCPD esterleri miktarının 1,6-6,8mg/kg arasında değiştiği hesaplanmıştır.

Pirina yağının 3-MCPD esterleri içeriğinin su buharı distilasyon koşullarına göre değişimini incelemek amacıyla; işlem parametrelerini, interaksiyonları ve ikinci dereceden terimleri içeren polinomial bir model oluşturulmuştur. Oluşturulan bu modelin, model uyumsuzluğunun önem dereceleri varyans analizi ile incelenmiştir (Ek 9).

Pirina yağında 3-MCPD esterleri oluşumu ile ilgili tüm polinomial terimlerin kullanılması ile oluşturulan modelin istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir ($P>0,05$). Bu nedenle “geriye doğru eleme” yöntemi ile önem derecesi $\alpha=0,1$ ’den büyük olan terimler elenerek model geliştirilmiştir. Modelden çıkarılan terimler ve bu terimler ile ilgili veriler Çizelge 4.8’de yer almaktadır.

Çizelge 4.8. Su buharı distilasyonu sırasında pirina yağında 3-MCPD esterleri oluşumu ile ilgili modelin geliştirilmesi için geriye doğru eleme yöntemi ile çıkarılan terimler

Çıkarılan Terim	R ²	Hata Kareler Ortalaması
C ²	0,729116	1,209178
AxB	0,725686	1,088436
C-Basınç	0,714345	1,020092
A ²	0,696771	0,984407
B-Su Miktarı	0,674894	0,967477
B ²	0,646062	0,972257
AxC	0,591176	1,04281

Terimlerin çıkarılmasını takiben “C-Basınç” terimi ve “B-Su Miktarı” terimleri, “BxC” teriminin modelde kalması nedeniyle model hiyerarşisinin korumak adına tekrar modele eklenmiştir. Geliştirilen modelin istatistiksel olarak önemli olduğu ($P<0,05$), model uyumsuzluğunun da önemsiz olduğu ($P>0,05$), Ek 10’da verilen varyans analiz tablosunda görülmektedir.

Geliştirilen model tarafından tahmin edilen değerlerin, deneysel olarak elde edilen verileri açıklayabilme derecesini belirlemek için regresyon katsayısı (R^2), düzeltilmiş regresyon katsayısı (R^2_{adj}) ve varyans sabiti (CV) belirlenmiştir (Çizelge 4.9). Ayrıca modelin uygunluğu “Yeterli Kesinlik” değeri ile doğrulanmış ve bu değer “4” değerinden büyük olduğu saptanmıştır.

Su buharı distilasyonunda sıcaklığın 3-MCPD esterleri oluşumu üzerine olan etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenirken ($P < 0,05$), su miktarının ve basıncın 3-MCPD oluşumu üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etkisi olmadığı saptanmıştır (Ek 10).

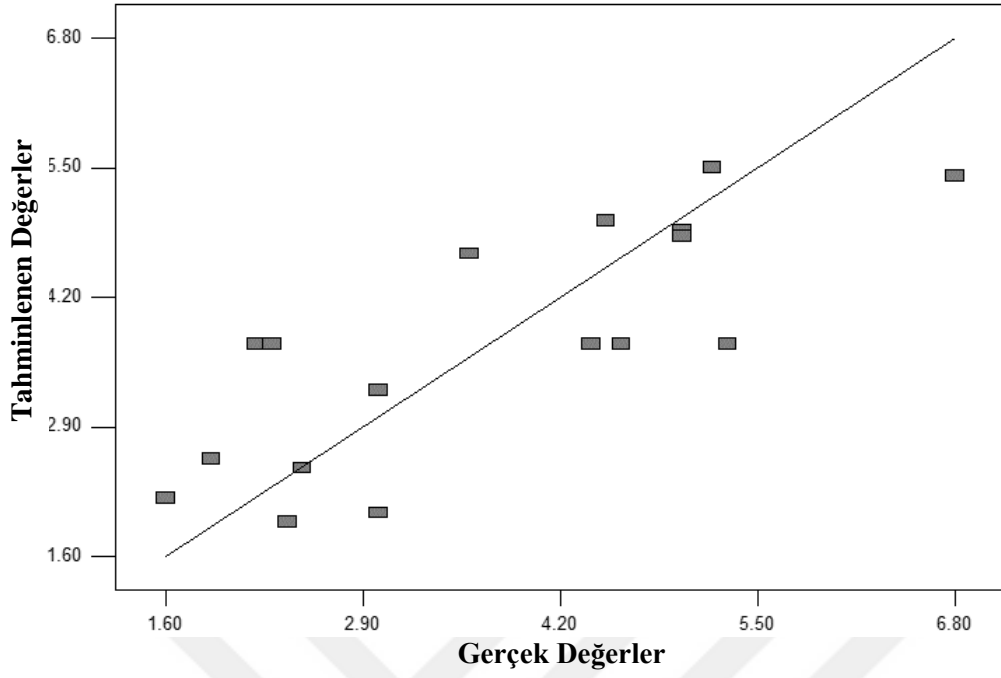
Çizelge 4.9. Su buharı distilasyonu sırasında pirina yağında oluşan 3-MCPD esterleri miktarı üzerine işlem parametrelerinin etkisini gösteren matematiksel modelin uyumluluğu ile ilgili değerler

	Değer
Ortalama	3,723529
Standart Sapma	1,05724
C.V. %	28,3935
PRESS	24,93527
R^2	0,624395
R^2_{adj}	0,499193
Pred R^2	0,30174
Adequate Precision (Yeterli Kesinlik)	6,191474

Su buharı distilasyonu sırasında pirina yağında oluşan 3-MCPD esterleri miktarının işlem sıcaklığı, su buharı miktarı ve basınca göre değişimini veren matematiksel model (Eşitlik 4.3) aşağıda yer almaktadır.

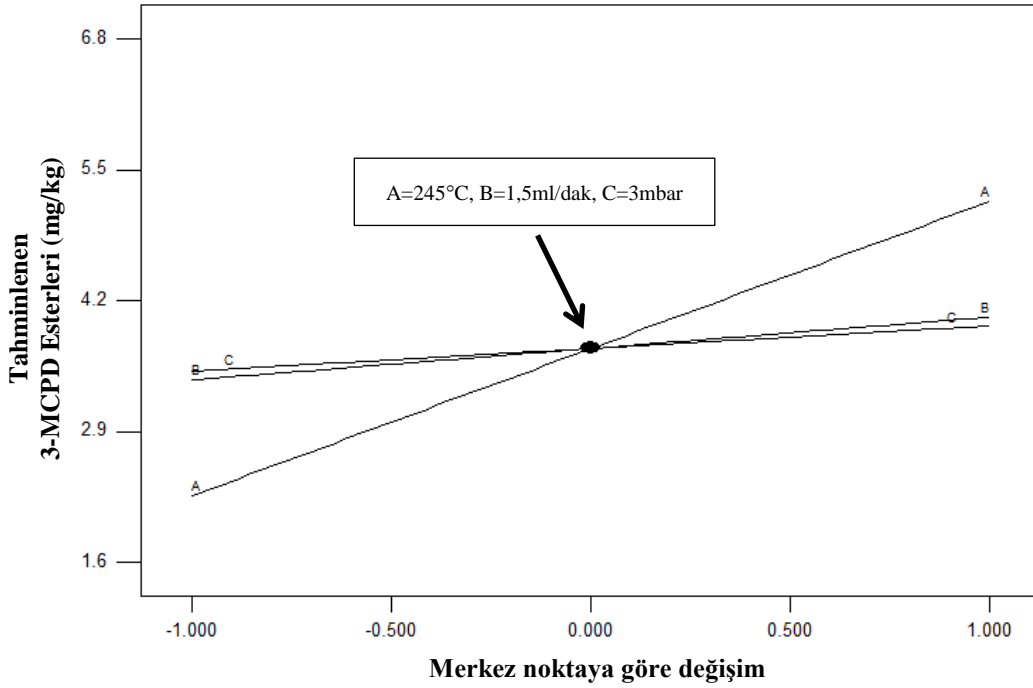
$$3 - MCPD Esterleri \left(\frac{mg}{kg} \right) = -30,77 + 0,097 * Sıcaklık(^{\circ}C) + 6,63 * Su Miktarı \left(ml \frac{su}{dk} \right) + 3,23 * Basınç (mbar) - 2 * Su Miktarı x Basınç \text{ (Eşitlik 4.3)}$$

Su buharı distilasyonu sırasında pirina yağında oluşan 3-MCPD esterlerinin oluşturulan matematiksel model ile tahminlenen miktarının, deneysel verilerle uyumu Şekil 4.17’de görülmektedir.



Şekil 4.17. Pirina yağında su buharı distilasyonu sırasında 3-MCPD esterleri oluşumu için model tarafından hesaplanan değerlere karşılık deneysel olarak elde edilen sonuçların dağılımı.

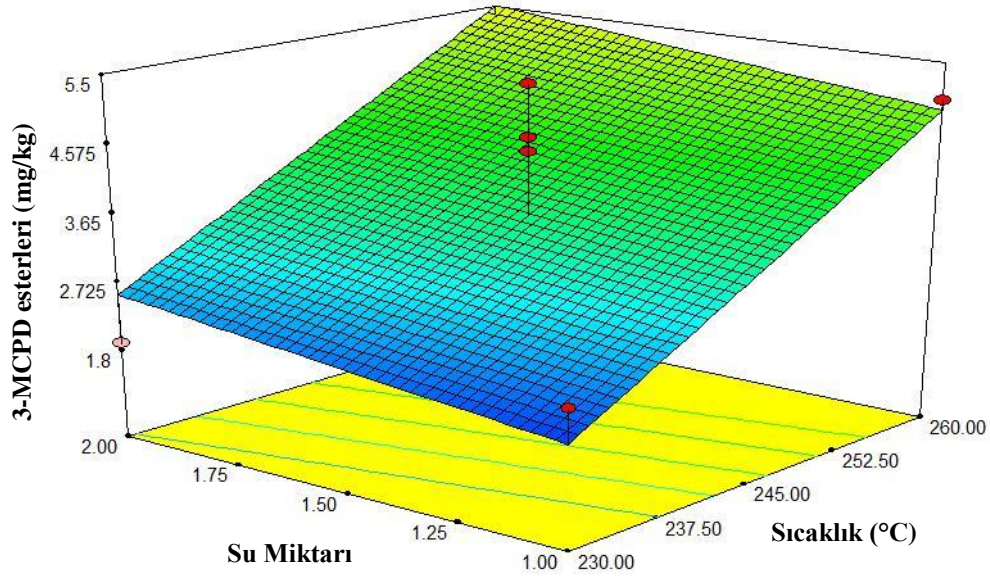
Pirina yağında su buharı distilasyonu sırasında 3-MCPD esterleri oluşumuna işlem parametrelerinin etkisi ile ilgili perturbasyon eğrileri Şekil 4.18’de görülmektedir.



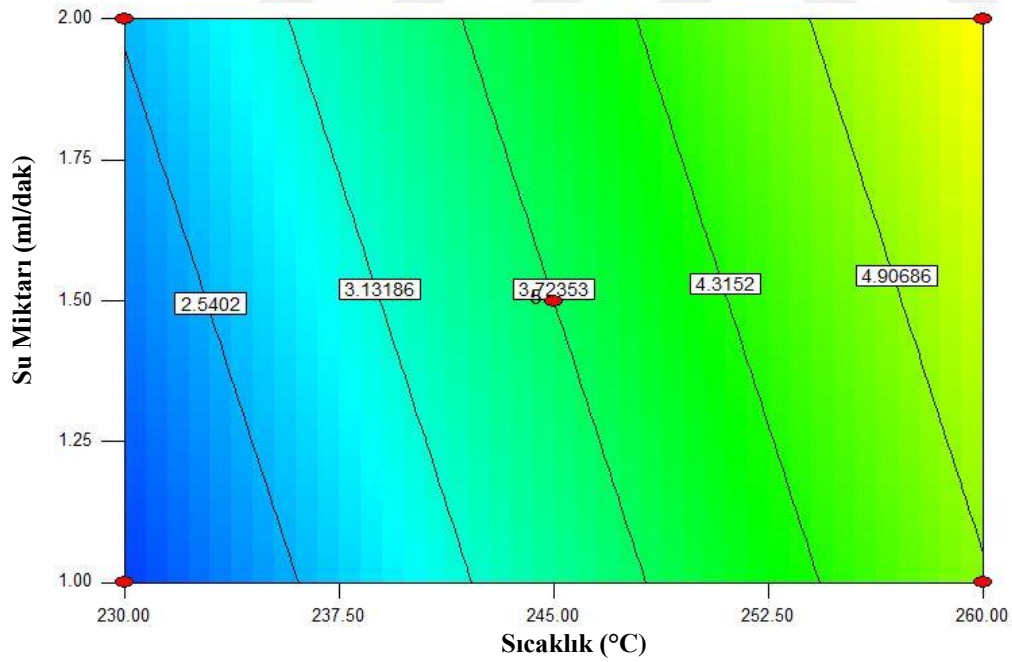
Şekil 4.18. Su buharı distilasyonu sırasında pirina yağında oluşan 3-MCPD esterlerine işlem parametrelerinin etkisini gösteren perturbasyon eğrileri [A-Sıcaklık (°C), B-Su Miktarı (ml/dak), C-Basınç (mbar)]

Şekil 4.18'deki pertürbasyon eğrileri incelendiğinde, en yüksek eğime sahip olan faktörün işlem sıcaklığı olduğu, su miktarı ve basınç faktörlerinin pertürbasyon grafiği üzerindeki eğimlerinin ise daha az olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle tüm faktörler arasında sıcaklığın, pirina yağının su buharı distilasyonu sırasında 3-MCPD esterlerinin oluşumu üzerinde en etkili faktör olduğu anlaşılmaktadır.

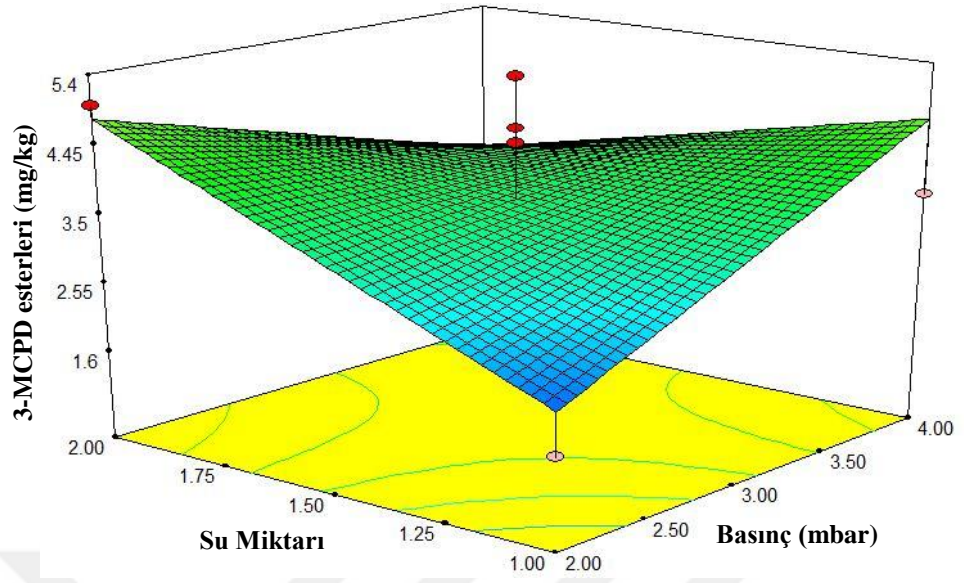
Geliştirilen matematiksel modele ait, su buharı distilasyonu sırasında pirina yağında oluşan 3-MCPD esterleri miktarına; işlem sıcaklığının, su miktarının ve basıncın etkisi ile ilgili cevap yüzey grafikleri Şekil 4.19, Şekil 4.20, Şekil 4.21, Şekil 4.22, Şekil 4.23 ve Şekil 4.24'de verilmiştir.



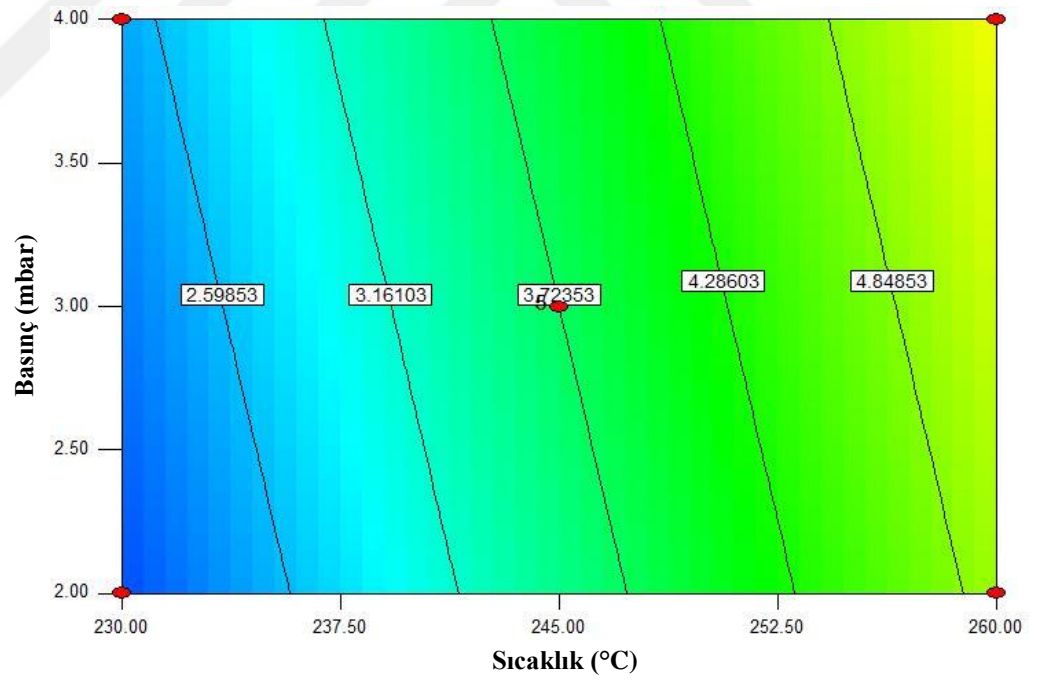
Şekil 4.19. Pirina yağının su buharı distilasyonu sırasında uygulanan sıcaklığın ve su miktarının oluşan 3-MCPD esterleri miktarına etkisi (üç boyutlu grafik)



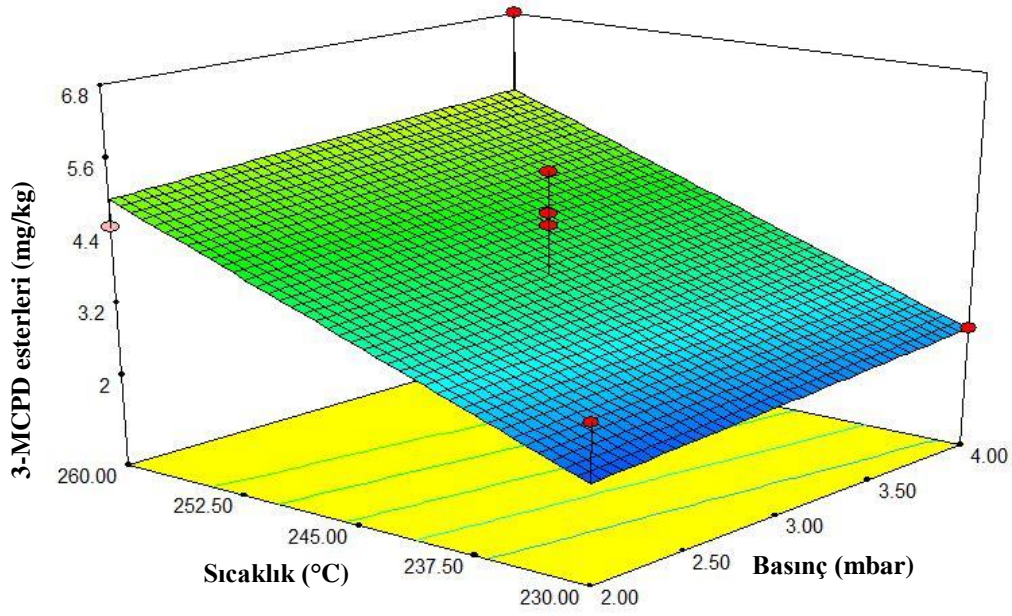
Şekil 4.20. Pirina yağının su buharı distilasyonu sırasında uygulanan sıcaklığın ve su miktarının oluşan 3-MCPD esterleri miktarına etkisi (eşyükselti eğrisi)



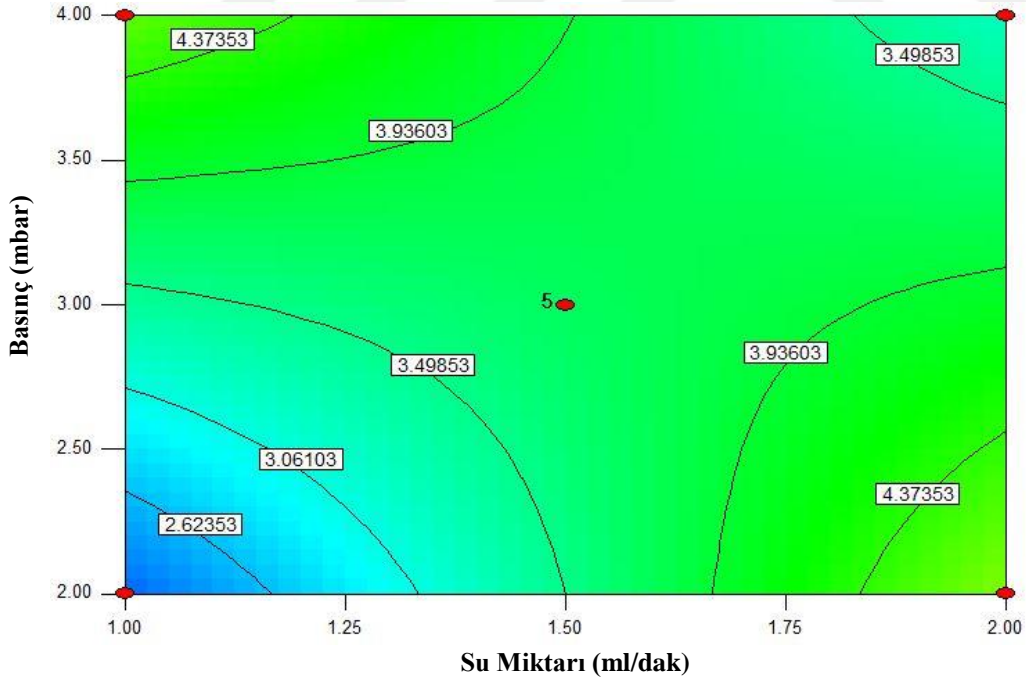
Şekil 4.21. Pirina yağının su buharı distilasyonu sırasında uygulanan basıncın ve su miktarının oluşan 3-MCPD esterleri miktarına etkisi (üç boyutlu grafik)



Şekil 4.22. Pirina yağının su buharı distilasyonu sırasında uygulanan basıncın ve sıcaklığın oluşan 3-MCPD esterleri miktarına etkisi (eşyükselti eğrisi)



Şekil 4.23. Pirina yağının su buharı distilasyonu sırasında uygulanan basıncın ve sıcaklığın oluşan 3-MCPD esterleri miktarına etkisi (üç boyutlu grafik)



Şekil 4.24. Pirina yağının su buharı distilasyonu sırasında uygulanan basıncın ve su miktarının oluşan 3-MCPD esterleri miktarına etkisi (eşyükseleti eğrisi)

Varyans analizi sonuçları incelendiğinde pirina yağına uygulanan su buharı distilasyonunda işlem sıcaklığının yükselmesinin, oluşan 3-MCPD

esterleri miktarını istatistiksel açıdan önemli düzeyde arttırdığı belirlenmiştir ($P<0,05$). Ayrıca düşük basınç değerlerinde su miktarının artması ile 3-MCPD esterleri oluşumunun hızlandığı tespit edilmiştir. Pirina yağında su buharı distilasyonu sırasında glisidil esterleri oluşumu üzerinde su miktarı ve basınç interaksiyonunun etkisi olduğu saptanmakla beraber, Ek 10'da verilen varyans analizi tablosu incelendiğinde bu etkinin istatistiksel olarak önemsiz olduğu görülmektedir ($P>0,05$).

4.6. Pirina Yağında Glisidil Esterleri Oluşumuna Su Buharı Distilasyonu Koşullarının Etkisinin Modellenmesi

Farklı koşullarda uygulanan su buharı distilasyonu sırasında pirina yağında oluşan glisidil esterleri miktarları Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.10. Su buharı distilasyonu sırasında pirina yağında oluşan glisidil esterleri miktarı

Deneme No	Sıcaklık (°C)	Su Miktarı (ml su/dak)	Basınç (mbar)	Süre (dak)	Örneklerdeki Glisidil Esterleri (mg/kg)	Oluşan Glisidil Esterleri (mg/kg)
Başlangıç	-	-	-	-	0,3	-
1	245	1	2	60	0,3	TED
2	245	2	4	60	0,3	TED
3	245	1,5	3	60	0,3	TED
4	245	1,5	3	60	0,3	TED
5	260	1,5	2	30	0,4	0,1
6	260	1,5	4	30	0,4	0,1
7	245	1,5	3	60	0,3	TED
8	230	1,5	2	90	0,3	TED
9	245	1,5	3	60	0,4	0,1
10	245	2	2	60	0,3	TED
11	260	1	3	30	0,4	0,1
12	230	1,5	4	90	0,3	TED
13	230	2	3	90	0,3	TED
14	245	1,5	3	60	0,3	TED
15	230	1	3	90	0,3	TED
16	245	1	4	60	0,3	TED
17	260	2	3	30	0,3	TED

Çizelge 4.10'da da görüldüğü gibi, pirina yağının farklı işlem koşullarında su buharı distilasyonu işlemine tabi tutulması, önemli düzeyde glisidil esterleri oluşumuna neden olmamıştır.

4.7. Zeytinyağı ve Pirina Yağına Uygulanan Su Buharı Distilasyonu İşlem Parametrelerinin Optimizasyonu

Su buharı distilasyonu işlem parametrelerinin optimizasyonu, zeytinyağı ve pirina yağında en düşük miktarda 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri oluşumu hedeflenerek yapılmıştır.

Zeytinyağının ve su buharı distilasyonu sırasında 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri oluşumunun minimum olduğu işlem koşulları (sıcaklık, su miktarı ve basınç) Çizelge 4.11’de verilmiştir.

Çizelge 4.11. Zeytinyağının su buharı distilasyonu için optimum işlem koşulları

No	Sıcaklık (°C)	Su Miktarı (ml su / dak)	Basınç (mbar)	3-MCPD Esterleri (mg/kg)	Glisidil Esterleri (mg/kg)	İstenilirlik Faktörü
1	230,00	1,20	4,00	4,5	0	0,850614
2	230,00	1,20	3,94	4,5	0	0,849925
3	230,01	1,18	4,00	4,5	0	0,848638
4	230,40	1,19	4,00	4,5	0	0,844256
5	230,00	1,15	3,39	4,6	0	0,843132

Pirina yağının su buharı distilasyonu sırasında 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri oluşumunun minimum olduğu işlem koşulları (sıcaklık, su miktarı ve basınç) Çizelge 4.12’de verilmiştir. Pirina yağına uygulanan su buharı distilasyonu sırasında oluşan glisidil esterleri miktarı, istatistiksel bir değerlendirme yapmaya ve matematiksel bir model ile açıklanmaya yetecek düzeyde olmadığı için işlem koşullarının optimizasyonunda sadece 3-MCPD esterleri miktarının minimize edilmesi hedeflenmiştir.

Çizelge 4.12. Pirina yağının su buharı distilasyonu için optimum işlem koşulları

No	Sıcaklık (°C)	Su Miktarı (ml su / dak)	Basınç (mbar)	3-MCPD Esterleri (mg/kg)	İstenilirlik Faktörü
1	230,00	1,00	2,00	1,72	0,976241
2	230,00	1,01	2,00	1,73	0,974591
3	230,00	1,00	2,05	1,74	0,973959
4	230,21	1,00	2,01	1,75	0,971899
5	230,00	1,00	2,11	1,75	0,971285

Çizelge 4.11 ve Çizelge 4.12 incelendiğinde, elde edilen optimum noktaların istenilirlik faktörü değerlerinin, Standart Tahminleme skalasında belirtilen (Lazic, 2004) 0,7 değerinden yüksek olduğu görülmektedir.

Zeytinyağı için su buharı distilasyonunda optimum sıcaklık 230°C, sürükleyici su miktarı 1,2 mlsu / dak, basınç ise 4 mbar olarak belirlenmiştir.

Pirina yağı için su buharı distilasyonunda optimum sıcaklık 230°C, su miktarı 1 ml su / dak, basınç ise 2 mbar olarak belirlenmiştir.

Optimum su buharı distilasyonu işlem koşullarında oluşabilecek 3-MCPD esterlerinin miktarının zeytinyağında 4,5mg/kg, pirina yağında ise 1,72mg/kg olabileceği tahminlenmiştir.

Zeytinyağı ve pirina yağı için istenilirlik faktörü en yüksek olan ilk beş nokta birlikte değerlendirildiğinde, su buharı distilasyonunun en düşük sıcaklık seviyesi olan 230°C’de gerçekleştirilmesiyle en düşük 3-MCPD esterleri oluşacağı, glisidil esterleri oluşumunun ise gerçekleşmeyeceği sonucuna varılmıştır.

Optimum işlem koşullarda uygulanan su buharı distilasyonu sırasında oluşan 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri miktarları ile optimizasyon sonucunda tahminlenen 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri miktarları karşılaştırılarak optimizasyon doğrulanmıştır. Doğrulama denemeleri ikişer kez tekrarlanarak sonuçlar Çizelge 4.13’de verilmiştir.

Çizelge 4.13. Zeytinyağı ve pirina yağı için optimum işlem parametrelerinde gerçekleştirilen doğrulama denemelerinde oluşan 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri miktarları

Yağ	Sıcaklık (°C)	Su Miktarı (ml su / dak)	Basınç (mbar)	3-MCPD Esterleri (mg/kg)	Glisidil Esterleri (mg/kg)
Zeytinyağı	230	1,2	4	5,0	0
	230	1,2	4	5,2	0
			Ortalama	5,1 ± 0,1	0
Pirina Yağı	230	1	2	1,7	0,4
	230	1	2	2,1	0,3
			Ortalama	1,9 ± 0,3	0,4 ± 0,1

Zeytinyağında optimum işlem koşullarında uygulanan su buharı distilasyonu işlemi sonucunda ortalama $5,1\pm 0,1$ mg/kg 3-MCPD esterleri oluşurken glisidil esterleri oluşumu tespit edilmemiştir. Pirina yağında gerçekleştirilen doğrulama denemesi sonrasında ortalama $1,9\pm 0,3$ mg/kg 3-MCPD esterleri ve ortalama $0,4\pm 0,1$ mg/kg glisidil esterleri oluşmuştur.

Zeytinyağında 3-MCPD esterleri oluşumu için cevap yüzey metodu ile gerçekleştirilen optimizasyon sonrasında tahminlenen 3-MCPD ester miktarı (4,5mg/kg) ile doğrulama denemeleri sonrasında bulunan değer (5,1mg/kg) karşılaştırıldığında farkın %11 düzeyinde olduğu görülmektedir.

Pirina yağında 3-MCPD esterleri oluşumu için cevap yüzey metodu ile gerçekleştirilen optimizasyon sonrasında tahminlenen 3-MCPD ester miktarı (1,72mg/kg) ile doğrulama denemeleri sonrasında bulunan değer (1,9mg/kg) karşılaştırıldığında farkın %9,5 düzeyinde olduğu görülmektedir.

Myers et al., (2001), cevap yüzey metodu ile tahminlenen değerler ile doğrulama denemelerinde elde edilen değerler arasındaki farkın %15 düzeyinin altında olması durumunda geliştirilen optimizasyon modelinin güvenilir ve tekrarlanabilir bir optimizasyon sağladığını belirtmiştir. Bu nedenle geliştirilen optimizasyon modelinin zeytinyağında 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri oluşumunu, pirina yağında 3-MCPD esterleri oluşumunu tahminlemede yeterli olduğu görülmektedir.

5. SONUÇ

Bitkisel yağların rafinasyonu sırasında oluşan 3-MCPD esterleri, bu toksik maddenin oluşum mekanizması ve meydana gelen glisidil esterleri özellikle son on yıldır bilimsel çevrelerin ve özel sektörün dikkatini çekerek önemli bir konu haline gelmiştir. İlk olarak soya soslarında ve protein hidrolizatlarında tespit edilen 3-MCPD esterlerinin ve glisidil esterlerinin oluşum mekanizması, rafine bitkisel yağların yanı sıra ısıl işlem gören ve yağ içeren tüm gıdalarda bir risk unsuru haline gelebilme potansiyelini arttırmıştır. Bu nedenle gıda sektörü için 3-MCPD esterleri ve glisidil esterlerinin önemi özellikle gıda güvenliği başlığı altında incelenmektedir.

3-MCPD'nin insan sağlığı ile ilgili bilimsel olarak kanıtlanmış tüm olumsuz etkileri de göz önünde bulundurulduğunda, bu konu üzerinde önümüzdeki yıllarda da birçok bilimsel çalışmanın yapılması beklenmektedir. Özellikle bu konu ile ilgili olarak Avrupa Birliği çatısı altında görev yapan Avrupa Gıda Güvenliği Ajansı (EFSA) belirli periyotlarla raporlamalar yaparak bu toksik madde ile ilgili genel bilgi birikimini özetlemekte ve durumu güncellemektedir. Yine aynı kuruluşun liderliğinde yürütülmekte olan çalıştayda ise başta Avrupa olmak üzere tüm dünyada 3-MCPD ile ilgili yürütülmekte olan bilimsel çalışmalar derlenmekte ve bu bilgi birikimi farklı başlıklar altında gruplanmaktadır.

Son yıllarda yapılan çalışmalar 3-MCPD'nin yanı sıra 2-MCPD'nin de benzer toksik özellikler gösterdiğini ortaya koymaktadır. Ayrıca 3-MCPD esterlerinin oluşum mekanizmasında bir ara ürün olan glisidil esterleri de "gıdalarda miktarı azaltılması gereken" bir madde olarak tanımlanmaktadır. Bu tanımlamalar sonucunda 3-MCPD esterleri oluşumu açısından riskli ürün gruplarından en önemlisi olan "işlem görmüş bitkisel yağlarda" yüksek sıcaklıklarda gerçekleşen deodorizasyon/su buharı distilasyonu işlemi sırasında uygulanan işlem parametrelerinin 3-MCPD esterleri ve glisidil esterlerinin oluşumu üzerindeki etkilerinin araştırılması, dikkate değer bir araştırma konusu haline gelmiştir.

Gerçekleştirilen çalışmada; zeytinyağı ve pirina yağlarının fiziksel yöntemle rafinasyonunda su buharı distilasyonu kademesinde uygulanan sıcaklık, basınç ve su miktarının, oluşan 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri

miktarı üzerine etkilerini belirlemek, bu etkiyi modellemek ve işlem parametrelerini en düşük 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri oluşumuna neden olacak şekilde optimizasyonu amaçlanmıştır. Bu çalışma, TÜBİTAK 1002 Hızlı Destek Programı (Proje no: 113 O 483) ve Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi (Proje no: 13 MÜH 018) çerçevesinde desteklenmiştir.

Çalışmada elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde özetlenmiştir.

- 1- Su buharı distilasyon işlemine tabi tutulacak rengi açılmış zeytinyağının serbest yağ asidi içeriği $10,1 \pm 0,3$, monogliserit miktarı $10,9 \pm 1,6$ ve digliserit miktarı $8,5 \pm 0,5$ olarak tespit edilmiştir. Pirina yağının ise serbest yağ asidi içeriği $0,8 \pm 0,1$, monogliserit miktarı $7,4 \pm 1,2$, digliserit miktarı $3,2 \pm 0,5$, 3-MCPD esterleri miktarı 4,1mg/kg ve glisidil esterleri miktarı 0,3mg/kg olarak belirlenmiştir.
- 2- Sıcaklık-süre ilişkisinin belirlenmesi amacıyla yapılan ön denemeler sonucunda su buharı distilasyonunun; 230°C sıcaklıkta 90dak, 245°C sıcaklıkta 60dak ve 260°C sıcaklıkta 30dak sürdürülmesi gerektiği belirlenmiştir.
- 3- Zeytinyağında, su buharı distilasyonu işlemi sonucu 3,6mg/kg-6,9mg/kg arasında değişen miktarlarda 3-MCPD esterleri meydana geldiği saptanmıştır. Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda zeytinyağında 3-MCPD esterlerinin oluşumu için en önemli faktörün sıcaklık olduğu, sıcaklığın yükselmesi ile oluşan 3-MCPD miktarının arttığı belirlenmiştir.
- 4- Zeytinyağında su buharı distilasyonu işlemi sonucu 0,1mg/kg-0,4mg/kg arasında değişen miktarlarda glisidil esterleri meydana geldiği saptanmıştır. Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda zeytinyağına uygulanan su buharı distilasyonunda işlem sıcaklığının arttırılmasının, oluşan glisidil esterleri miktarını önemli düzeyde yükselttiği belirlenmiştir. Ayrıca sıcaklık ve su miktarı interaksyonunun da istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P < 0,05$).
- 5- Ön kimyasal asitlik giderme ve renk açma işlemi uygulanan pirina yağında, su buharı distilasyonu öncesinde 4,1mg/kg 3-MCPD esterleri bulunduğu tespit edilmiştir. Su buharı distilasyonu işlemi sonucunda tespit edilen 3-MCPD esterleri değerlerinin ise 5,7mg/kg ile 10,9mg/kg arasında değiştiği saptanmıştır. Pirina yağında su buharı distilasyonu

işlemi sırasında oluşan 3-MCPD esterleri miktarının 1,6mg/kg ile 6,8mg/kg arasında değiştiği bulgulanmıştır.

- 6- Pirina yağında, su buharı distilasyonu öncesinde 0,3mg/kg glisidil esterleri olduğu saptanmıştır. Su buharı distilasyonu sırasında ise glisidil esterleri miktarında önemli bir artış gözlenmemiştir.
- 7- Zeytinyağında su buharı distilasyonu sırasında 3-MCPD esterlerinin ve glisidil esterlerinin oluşumunu minimize edecek şekilde işlem parametrelerinin optimize edilmesi sonucunda optimum sıcaklık 230°C, sürükleyici su miktarı 1,2 mlsu / dak, basınç ise 4 mbar olarak belirlenmiştir. Bu koşullar gerçekleştirilen su buharı distilasyonu sırasında zeytinyağında 4,5mg/kg 3-MCPD esterleri oluşabileceği tahminlenmiştir. Optimum koşullarda gerçekleştirilen doğrulama denemesi sonucunda zeytinyağında su buharı distilasyonu sırasında 5,1mg/kg 3-MCPD esterlerinin oluştuğu ve tahmin edilen değer ile gerçek değer arasındaki farkın %11 olduğu belirlenmiştir.
- 8- Pirina yağında su buharı distilasyonu sırasında 3-MCPD esterlerinin oluşumunu minimize edecek şekilde işlem parametrelerinin optimize edilmesi sonucunda optimum sıcaklık 230°C, su miktarı 1 ml su / dak, basınç ise 2 mbar olarak belirlenmiştir. Bu koşullar uygulanan su buharı distilasyonu sırasında pirina yağında 1,72mg/kg 3-MCPD esterleri oluşabileceği tahminlenmiştir. Optimum koşullarda gerçekleştirilen doğrulama denemesi sonucunda pirina yağında su buharı distilasyonu sırasında 1,9mg/kg 3-MCPD esterlerinin oluştuğu ve tahmin edilen değer ile gerçek değer arasındaki farkın %9,5 olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak, zeytinyağı ve pirina yağının, trigliseritlerin parçalanma ürünü olan monogliserit ve digliseritleri belirli oranda içermesi ve bu yağların fiziksel yöntemle rafinasyonunda yüksek sıcaklık uygulanması nedeniyle 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri meydana gelmektedir. Çalışma kapsamında; su buharı distilasyonu işleminde oluşan 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri ile ilgili elde edilen verilerin, modelleme ve optimizasyon yaklaşımıyla değerlendirilmesinin; konu ile ilgili planlanacak ölçek büyütme çalışmalarını destekleyeceği ve bilimsel bilgi birikimine katkıda bulunacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Abraham K., Appel K., Berger-Preiss E., Apel E., Gerling S., Mielke H., Creutzenberg O. and Lampen A., 2013, Relative oral bioavailability of 3-MCPD from 3-MCPD fatty acid esters in rats, *Archives of Toxicology*, 87(4),649–659.

Akdeniz B., 2012, Use of factorial experimental design for analyzing the effect of storage conditions on color quality of sun-dried tomatoes. *Sci Res Essays* 7:477–489.

Chen Q., Bi J., Zhou Y., Xuan L., Xinye W., Ruijuan C., 2014, Multi-objective Optimization of Spray Drying of Jujube (*Zizyphus jujuba* Miller) Powder Using Response Surface Methodology, *Food Bioprocess Technol*, 7:1807–1818.

Cho W., Han B., Nam K., Park K., Choi M., Kim Sh., Jeong J. and Jang D., 2008, Carcinogenicity study of 3-monochloropropane-1,2-diol in Sprague-Dawley rats, *Food and Chemical Toxicology*, 46, 3172–3177.

De Greyt W F J., 2013, Edible oil refining: Current and future technologies, *Edible Oil Processing*, John Wiley & Sons, Inc., Chichester, 127–151.

Dean A. and Voss D., 1999, *Design and Analysis of Experiments*, Springer-Verlag, New York Inc.

Demirdöven A., 2009, Portakal suyu üretiminde bazı elektriksel yöntemlerin verim ve kalite üzerine etkileri, Ege Üniveristesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, 259s.

DGF, 2009, German Standard Methods for the Analysis of Fats and other Lipids: C-III 18 (09), Ester-bound 3-chloropropane- 1,2-diol (3-MCPD-Esters) and glycidol (glycidyl esters) – Determination in fats and oils by GC-MS, WVG.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

EFSA, 2004, Collection and collation of data on levels of 3-monochloropropanediol (3-MCPD) and related substances in foodstuffs, European Food Security Agency, Directorate-General Health and Consumer Protection, 1-56.

EFSA, 2009, 3-MCPD Esters in Food Products, European Food Security Agency, Summary Report of a Workshop held in February 2009 in Brussels, Belgium 1-36.

EFSA, 2013, Analysis of occurrence of 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) in food in Europe in the years 2009-2011 and preliminary exposure assessment 1, *EFSA Journal*, 11(9):3381-3426.

EFSA, 2014, Commission Recommendation of 10 September 2014 on the monitoring of the presence of 2 and 3-monochloropropane-1,2-diol (2 and 3-MCPD), 2- and 3-MCPD fatty acid esters and glycidyl fatty acid esters in food, *Official Journal of the European Union*, L 271/93, 1-3.

EFSA, 2015, Opinion of The Scientific Committee On Food on 3 monochloropropan 1,2 Diol (3-MCPD), European Food Security Agency, Scientific Committee on Food, 1-5.

El-Mallah H., El-Shami S., Hassanien M., Abdel-Razek A.G., 2011, Effect of chemical refining steps on the minor and major components of cottonseed oil, *Agric. Biol. J. N. Am.*, 2(2): 341-349.

Eren İ., 2011, Yağlarda membran teknolojisiyle degumming ve asitlik giderme işlemlerinin optimizasyonu, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, 167s.

Ermacora, A. and Hrcirik, K., 2014a, Influence of oil composition on the formation of fatty acid esters of 2-chloropropane-1,3-diol (2-MCPD) and 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) under conditions simulating oil refining, *Food Chemistry*, 161383–389.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

Ermacora, A. and Hrcirik, K., 2014b, Study on the thermal degradation of 3-MCPD esters in model systems simulating deodorization of vegetable oils, *Food Chemistry*, 150158–163.

Ertekin F., Balkır P., Sakin M., ve Koç B., 2008, Püskürtmeli kurutma işlem koşullarının yoğurt tozunun fonksiyonelliği ve kalitesi üzerine etkisinin belirlenmesi ve yoğurt tozunun depolama stabilitesinin araştırılması, TÜBİTAK Araştırma Projesi, Proje no: 107O090, 220s.

Franke K., Strijowski U., Fleck G., Pudel F., 2009, Influence of chemical refining process and oil type on bound 3-chloro-1,2-propanediol contents in palm oil and rapeseed oil, *Food Science and Technology*, 42, 1751–1754.

Gümüskesen A.S., Yemişçioğlu F., 2010, Bitkisel Sıvı ve Yağ Üretim Teknolojisi, Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir, S:215.

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, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 113, 279–303.

Hori K., Matsubara A., Uchikata T., Tsumura K., Fukusaki E. and Bamba T., 2012, 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.

Hrcirik, K. and 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.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

JECFA, 2002. 3-Chloro-1,2-propanediol. Safety evaluation of certain food additives and contaminants. Prepared by the fifty-seventh meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), Geneva WHO Food Additives Series, 48.

Karasek L., Wenzl T., Ulberth F., 2011, Determination of 3-MCPD esters in edible oil – methods of analysis and comparability of results, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 113, 1433–1442.

Koç B., 2008, Püskürtmeli kurutma yöntemi ile yoğurt tozu üretim koşullarının optimizasyonu, Ege Üniveristesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans tezi, 237s.

Koç M., 2009, Pastörize sıvı yumurtanın püskürtmeli kurutma yöntemi ile optimum kurutma koşullarının belirlenmesi ve mikroenkapsülasyonu, Ege Üniveristesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans tezi, 237s.

Larsen J.C., 2009, 3-MCPD esters in food products. ILSI Europe, Brussels, Belgium.

Lazic Z. R., 2004, Design of Experiments in Chemical Engineering: A Practical Guide, *John Wiley & Sons, Inc.*, 620p.

Leon N., Yusà V., Pardo O and Pastor A. 2008, Determination of 3-MCPD by GC-MS/MS with PTVLV injector used for a survey of Spanish foodstuffs. *Talanta*, v. 75, n. 3, p. 824-831.

Li C., Jia H., Wang Y., Shen M., Nie S. and Xie M., 2016a, Determination of 3-Monochloropropane-1,2-Diol Esters in Edible Oil—Method Validation and Estimation of Measurement Uncertainty, *Food Anal. Methods*, 9, 845–855.

Li C., Li LY., Jia HB., Wang YT., Shen MY. and Nie SP., Xie MY., 2016b, Formation and reduction of 3-monochloropropane-1,2-diol esters in peanut oil during physical refining, *Food Chemistry*, 199, 605-611.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

Macmahon S., Begley T.H., and Diachenko G.W., 2013, Occurrence of 3-MCPD and glycidyl esters in edible oils in the United States, *Food Additives & Contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment*, 30 (12): 2081–92.

Mogol B.A., Pye C., Anderson W., Crews C., and Gökmen V., 2014, Formation of Monochloropropane-1,2-diol and Its Esters in Biscuits during Baking, *Agric. Food Chem.*, 62 (29), 7297–7301.

Myers R. H., Montgomery D. C., and Anderson-Cook, C. M., 2011, Response Surface Methodology : Process and Product Optimization Using Designed Experiments, 3th Editio. Ed., *John Wiley & Sons, Inc.*, 1247p.

Pudel F., Benecke P., Fehling P., Freudenstein A., Matthaus B. and Schwaf A., 2011, On the necessity of edible oil refining and possible sources of 3-MCPD and glycidyl esters, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 113, 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 Lipid Science And Technology*, 113 (3): 323–329.

Razak R.A., Kuntoma A., Siew W.L., Ibrahim N.A., Ramli M.R., Hussein R. and Nesaretnam K., 2012, Detection and monitoring of 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) esters in cooking oils. *Food Control*, 25, 355-360.

Shahidi, F., 2005, *Bailey's Industrial Oil And Fat Products*, John Wiley & Sons, Inc. 3616p.

Shimizu M., Vosmann K., and Matthäus B., 2012, Generation of 3-monochloro-1,2-propanediol and related materials from tri-, di-, and monoolein at deodorization temperature, *European Journal Of Lipid Science And Technology*, 114 (11): 1268–1273.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

TGK, 2010, Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliği, Türk Gıda Kodeksi, T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tebliğ No: 2010/35.

Velisek, J., Davidek, J., Kubelka, V., Janicek, G., Svobodova, Z. & Simicova, Z., 1980, New Chlorine-Containing Organic Compounds in Protein Hydrolysates. *J. Agric. Food Chem.* 28, 1142-1144.

Weißhaar R., 2008, Determination of total 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) in edible oils by cleavage of MCPD esters with sodium methoxide, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 110, 183–186.

Zelinkova Z., Novotny O., Schurek J., Velišek J., Haslova J. and Dolezal M., 2008, Occurrence of 3-MCPD Fatty Acid Esters in Human Breast Milk. *Food Additives and Contaminants: Part A* 25:669–679.

Zelinkova Z., Svejkovska B., Velisek J., and Dolezal M., 2006, Fatty acid esters of 3-chloropropane-1,2-diol in edible oils. *Food Addit. Contam.* 23, 1290–1298.

Zhang X., Gao B., Qin F., Shi H., Jiang Y., Xu X. and Yu L., 2013, A Free Radical Mediated Formation of 3-Monochloropropanediol (3-MCPD) Fatty Acid Diesters, *J. Agric. Food Chem.*, 61:2548–2555.

Zhao Q, Wei F., Xiao N., Yu Q., Yuan B., Feng Y., 2012, Dispersive microextraction based on water-coated Fe₃O₄ followed by gas chromatography–mass spectrometry for determination of 3-monochloropropane-1,2-diol in edible oils, *Journal of Chromatography A*, 1240, 45– 51.

Zhou H., Jin Q., Wang X., and Xu X., 2014, Effects of temperature and water content on the formation of 3-chloropropane-1,2-diol fatty acid esters in palm oil under conditions simulating deep fat frying, *European Food Research and Technology*, 238 (3): 495–501.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

Zulkarnain M., Lai OM., Tan SC., Abdul Latip R., and Tan C. P., 2013, "Optimization of palm oil physical refining process for reduction of 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) ester formation", *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 61 (13): 3341–3349.



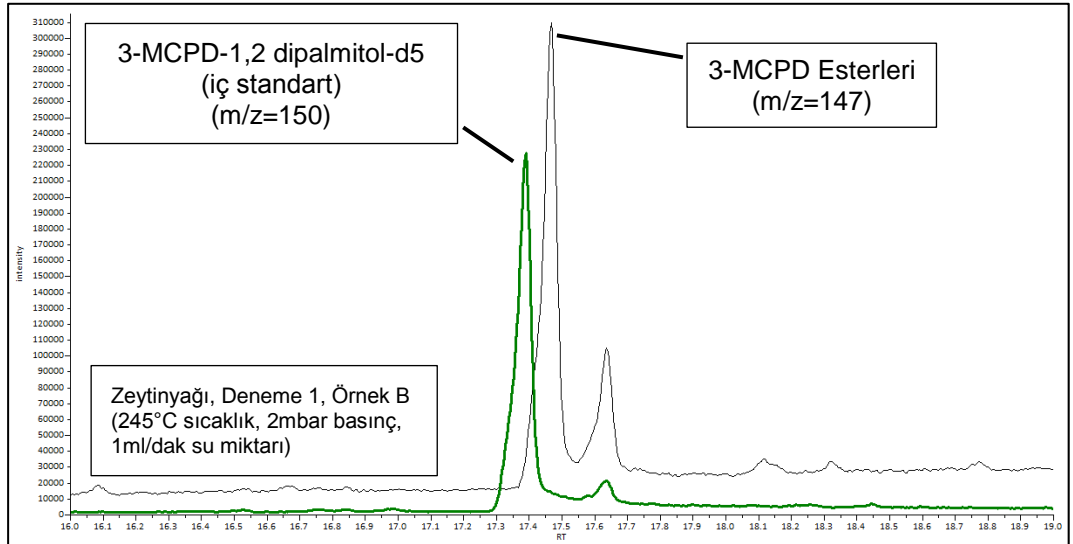
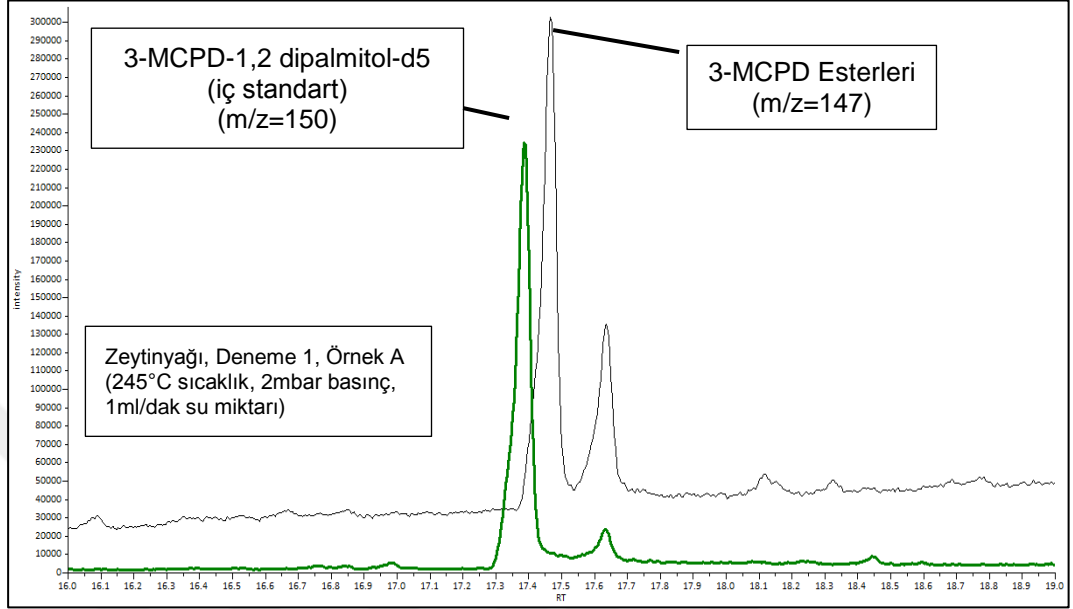
EKLER

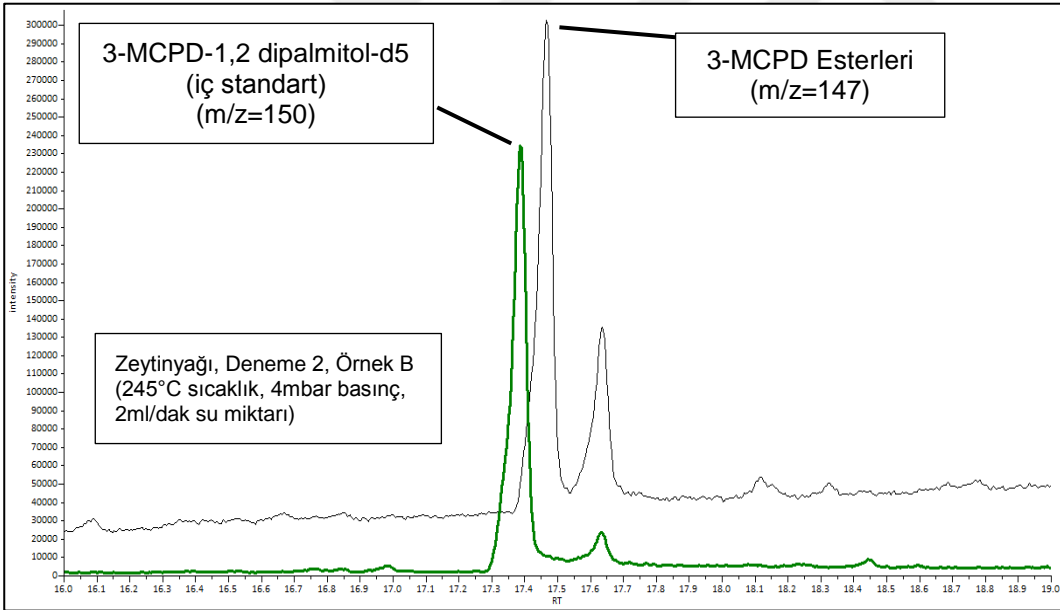
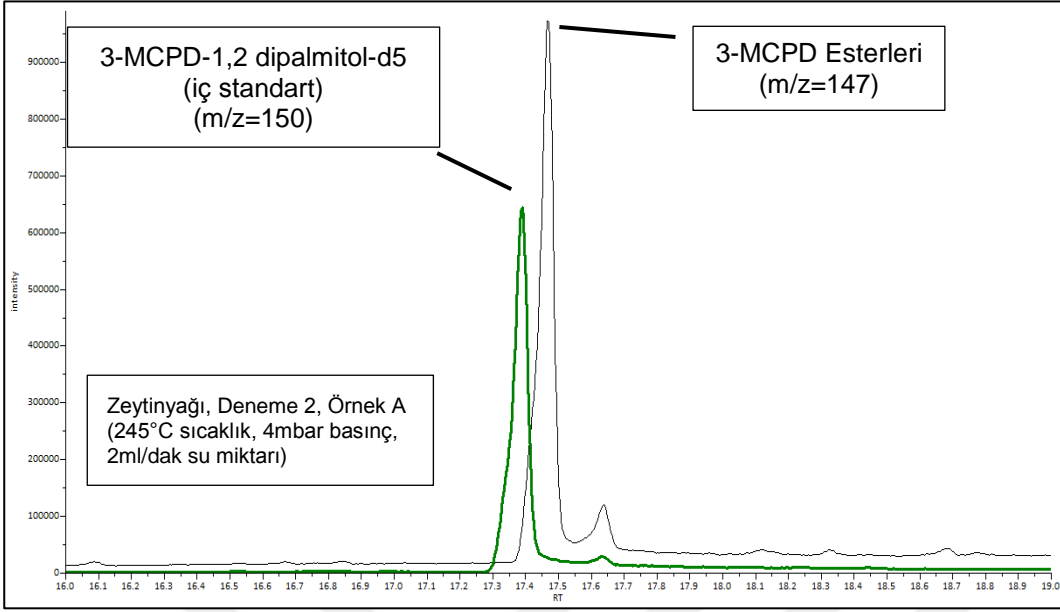
- Ek 1. Zeytinyağına uygulanan su buharı distilasyonu denemelerinin sonrasında elde edilen yağlardaki 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri miktarlarının hesaplanması..... 70
- Ek 2. Zeytinyağına uygulanan su buharı distilasyonu denemelerinin sonrasında elde edilen yağlarda yapılan 3-MCPD tayini sonucunda elde edilen kromatogramlar..... 71
- Ek 3. Zeytinyağının su buharı distilasyonu sırasında 3-MCPD esterleri oluşumu için oluşturulan polinomiyal modelin tüm terimlerini içeren varyans analizi sonuçları..... 89
- Ek 4. Zeytinyağının su buharı distilasyonu sırasında oluşan 3-MCPD esterleri üzerine işlem parametrelerin etkilerini gösteren matematiksel modelin varyans analizi sonuçları..... 89
- Ek 5. Zeytinyağının su buharı distilasyonu sırasında glisidil esterleri oluşumu için oluşturulan polinomiyal modelin tüm terimlerini içeren varyans analizi sonuçları..... 90
- Ek 6. Zeytinyağının su buharı distilasyonu sırasında oluşan glisidil esterleri üzerine işlem parametrelerin etkilerini gösteren matematiksel modelin varyans analizi sonuçları..... 90
- Ek 7. Pirina yağında uygulanan su buharı distilasyonu denemelerinin sonrasında elde edilen yağlardaki 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri miktarlarının hesaplanması..... 91
- Ek 8. Pirina yağına uygulanan su buharı distilasyonu denemelerinin sonrasında elde edilen yağlarda yapılan 3-MCPD tayini sonucunda elde edilen kromatogramlar..... 92
- Ek 9. Pirina yağının su buharı distilasyonu sırasında 3-MCPD esterleri oluşumu için oluşturulan polinomiyal modelin tüm terimlerini içeren varyans analizi sonuçları..... 110
- Ek 10. Pirina yağının su buharı distilasyonu sırasında oluşan 3-MCPD esterleri üzerine işlem parametrelerin etkilerini gösteren matematiksel modelin varyans analizi sonuçları..... 110

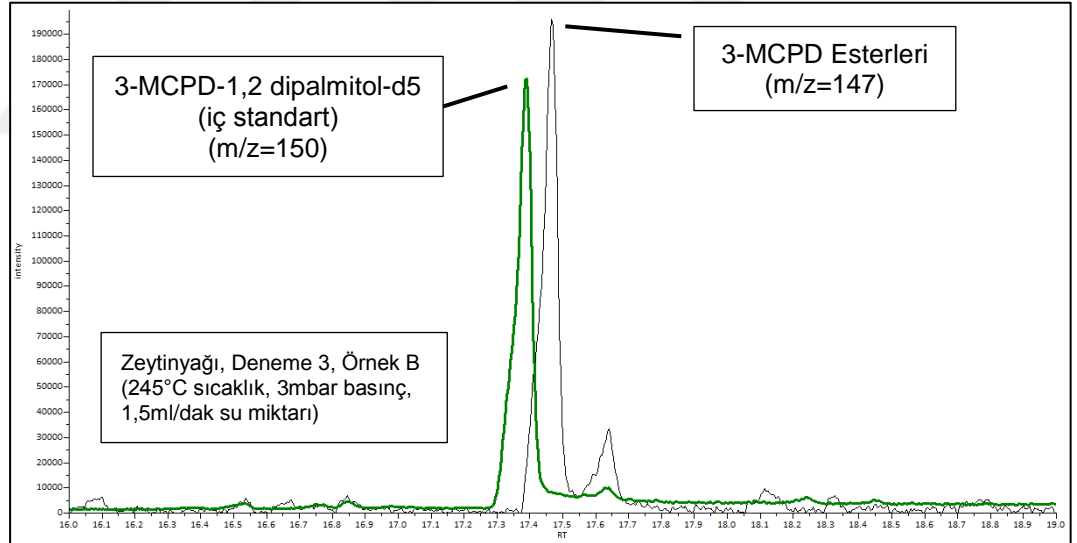
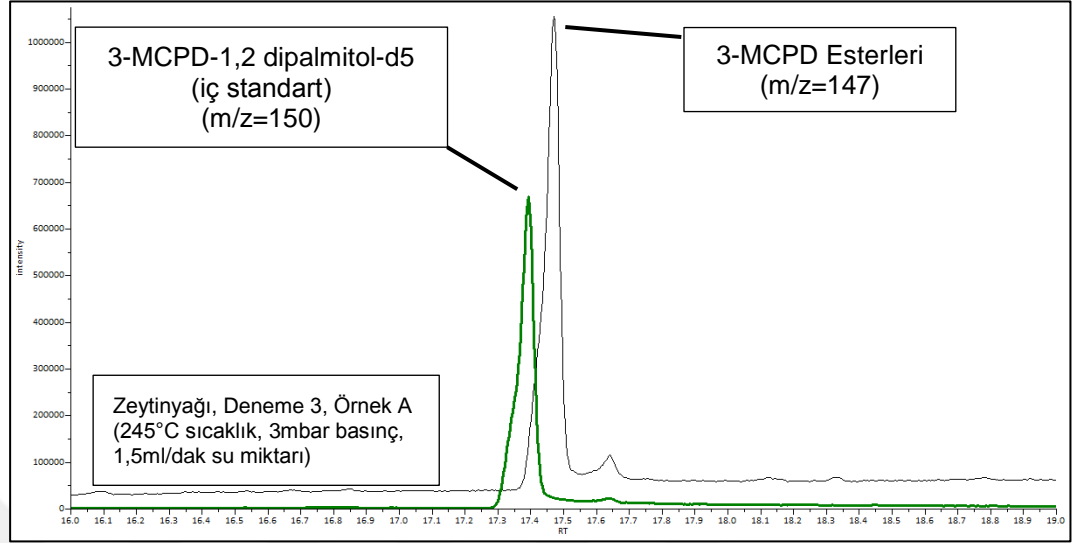
Ek 1. Zeytinyağına uygulanan su buharı distilasyonu denemelerinin sonrasında elde edilen yağlardaki 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri miktarlarının hesaplanması

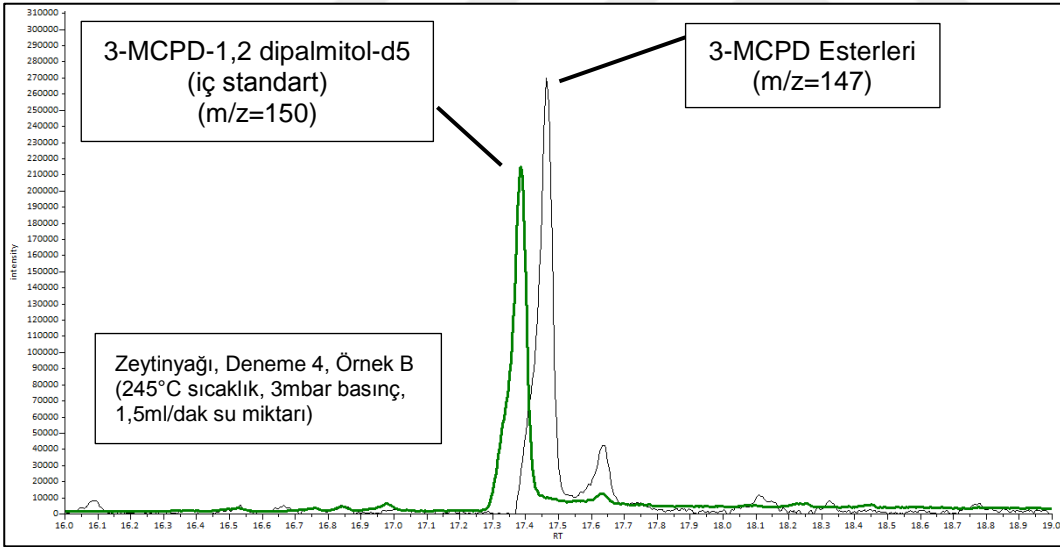
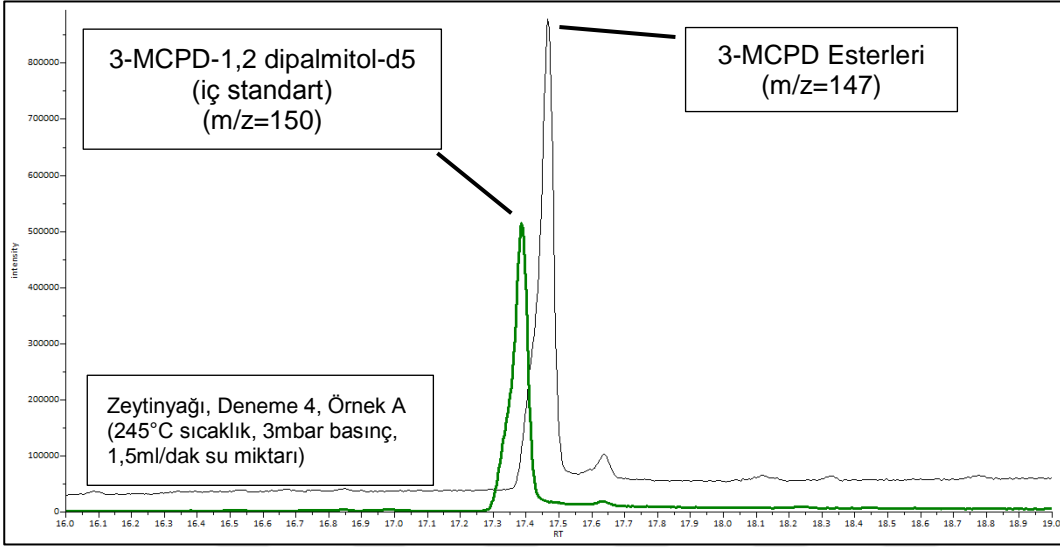
Deneme No	Vial	Örnek Miktarı (mg)	Örnek Pik Alanı (Kütle / yük = 147)	Standart Pik Alanı (Kütle / Yük =150)	Tartılan Miktardaki 3-MCPD Esterleri (mg/kg)	Örnekteki 3-MCPD Esterleri (mg/kg)	Örnekteki Glisidil Esterleri (mg/kg)
1	A	140	55230	30645	9,0	6,4	0,1
	B	108,8	13226	9598	6,9	6,3	
2	A	129	49009	32686	7,5	5,8	0,1
	B	112	12848	10104	6,4	5,7	
3	A	133	54003	33739	8,0	6,0	0,2
	B	105,3	10384	8479	6,1	5,8	
4	A	119	44591	28765	4,7	3,9	0,3
	B	108,7	13564	17120	4,0	3,6	
5	A	156	101234	44354	11,4	7,3	0,4
	B	102	21305	15066	7,1	6,9	
6	A	151	64963	31275	10,4	6,9	0,3
	B	115,8	17302	11378	7,6	6,6	
7	A	164	42799	22260	9,6	5,9	0,3
	B	108,2	14135	11690	6,0	5,6	
8	A	143	41772	32889	6,4	4,4	0,1
	B	106,7	9618	10401	4,6	4,3	
9	A	127	30569	19875	7,7	6,1	0,1
	B	101,9	12124	9907	6,1	6,0	
10	A	140	41621	25750	8,1	5,8	0,2
	B	101	12382	10936	5,7	5,6	
11	A	186	78539	29945	13,1	7,1	0,3
	B	106	10023	7012	7,1	6,7	
12	A	129	35297	28799	6,1	4,8	0,1
	B	102,6	10771	11376	4,7	4,6	
13	A	187	32911	19025	8,6	4,6	0,3
	B	100	10226	11884	4,3	4,3	
14	A	142	48162	29757	8,1	5,7	0,2
	B	106,1	11279	9730	5,8	5,5	
15	A	100	46253	61025	3,8	3,8	0,0
	B	107,1	5632	10115	4,2	3,9	
16	A	126	89495	58189	7,7	6,1	0,1
	B	100	8773	7293	6,0	6,0	
17	A	96	61859	57580	5,4	5,6	0,2
	B	103,3	7649	10288	5,6	5,4	

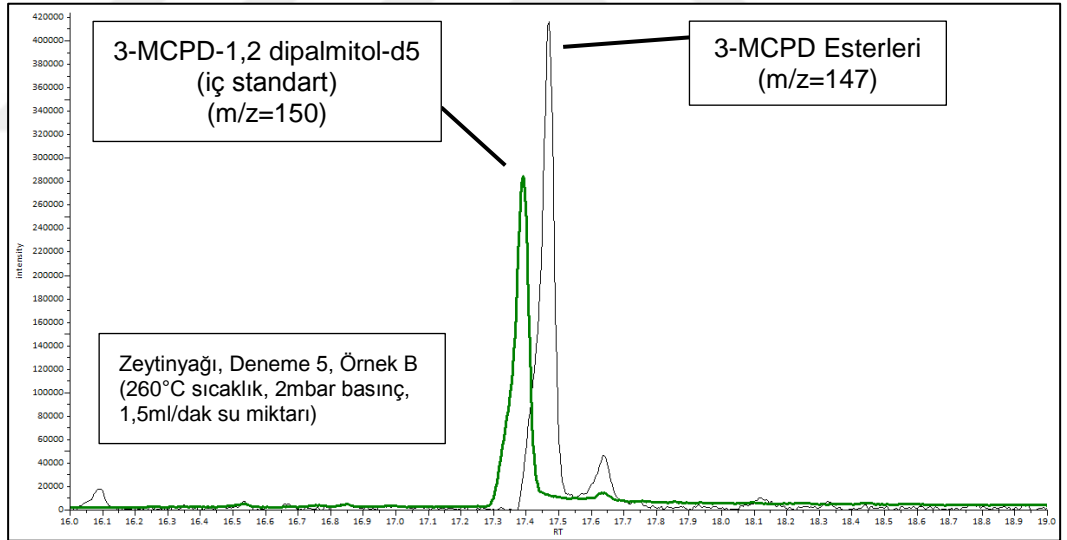
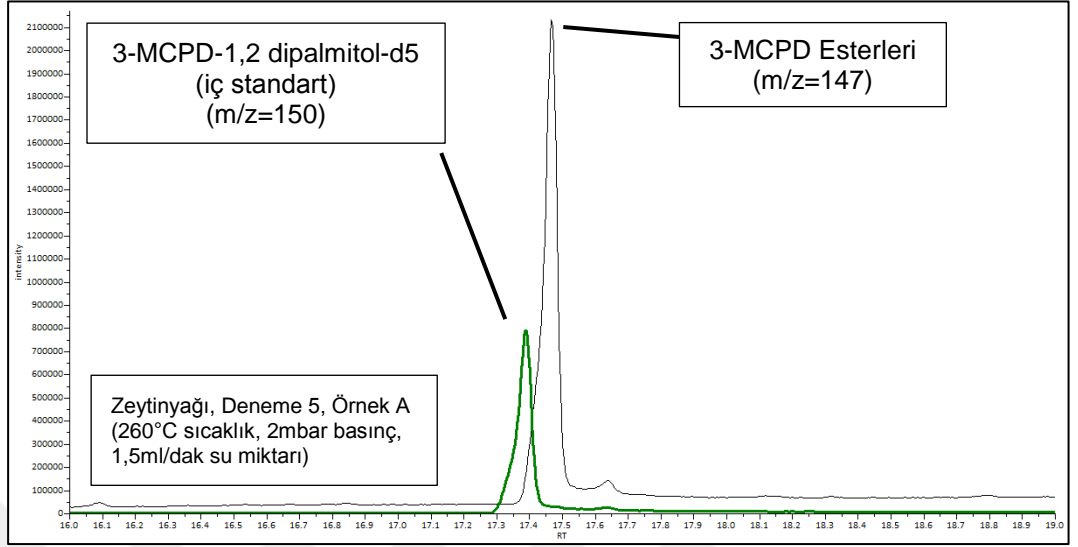
Ek 2. Zeytinyağına uygulanan su buharı distilasyonu denemelerinin sonrasında elde edilen yağlarda yapılan 3-MCPD tayini sonucunda elde edilen kromatogramlar

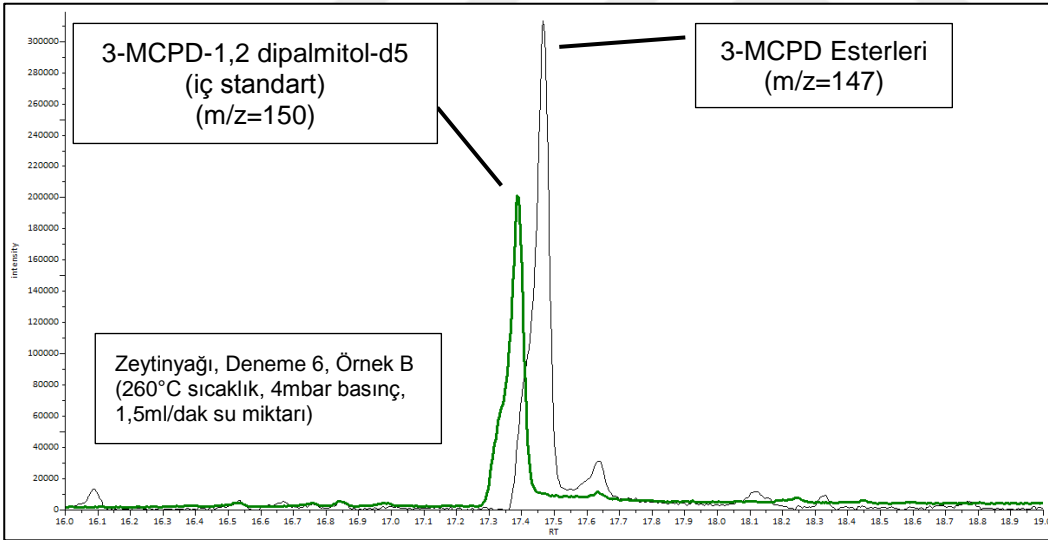
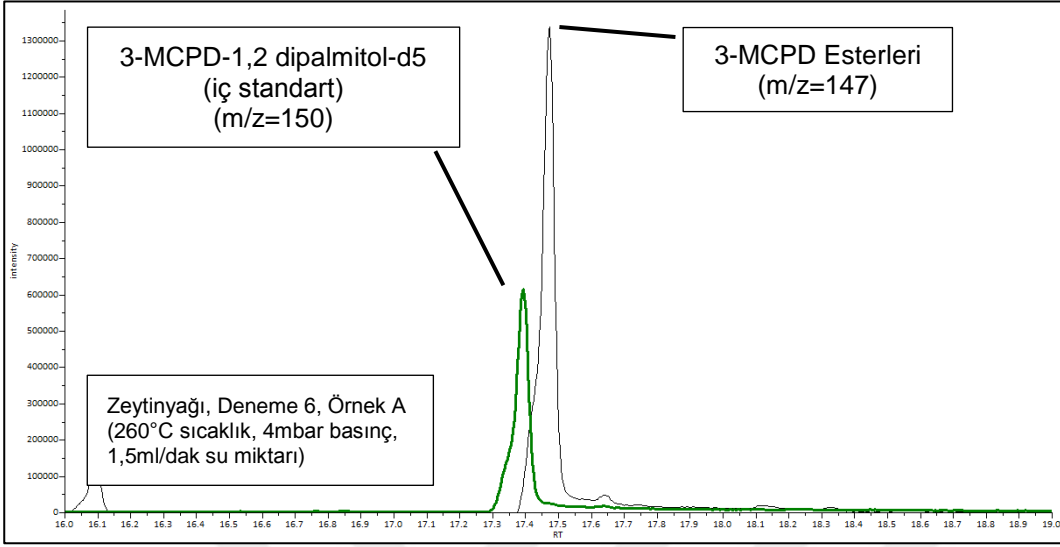


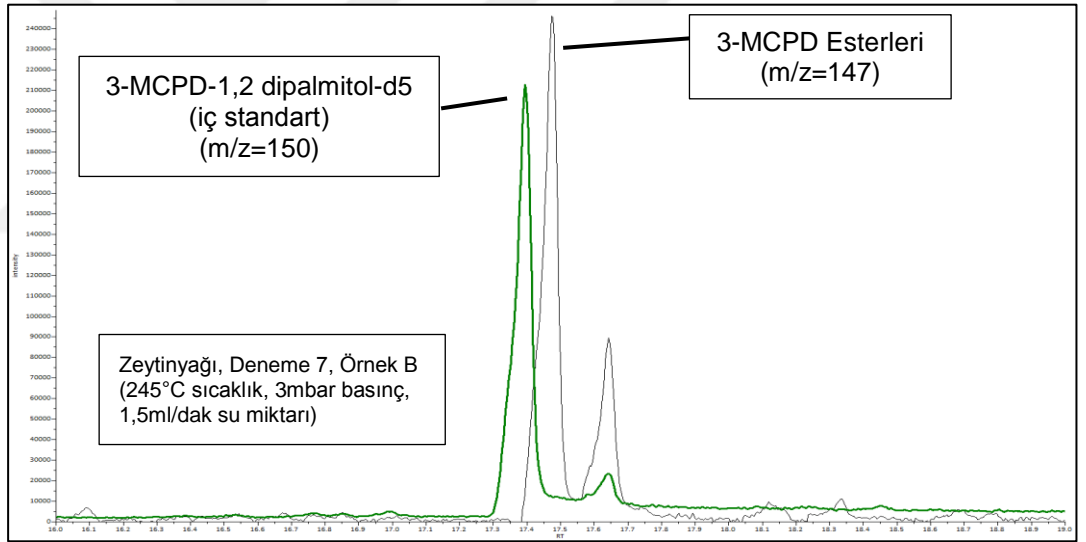
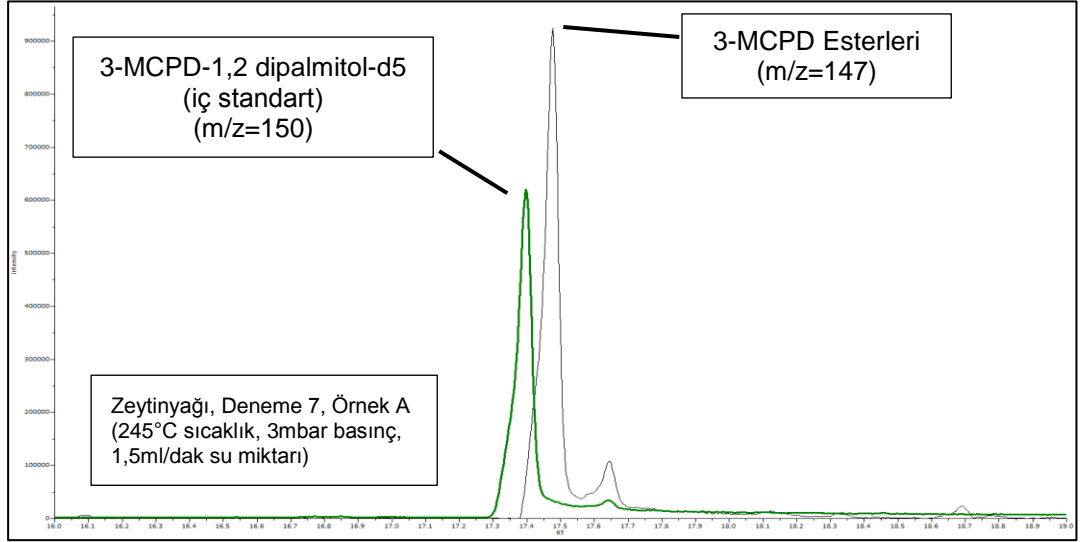


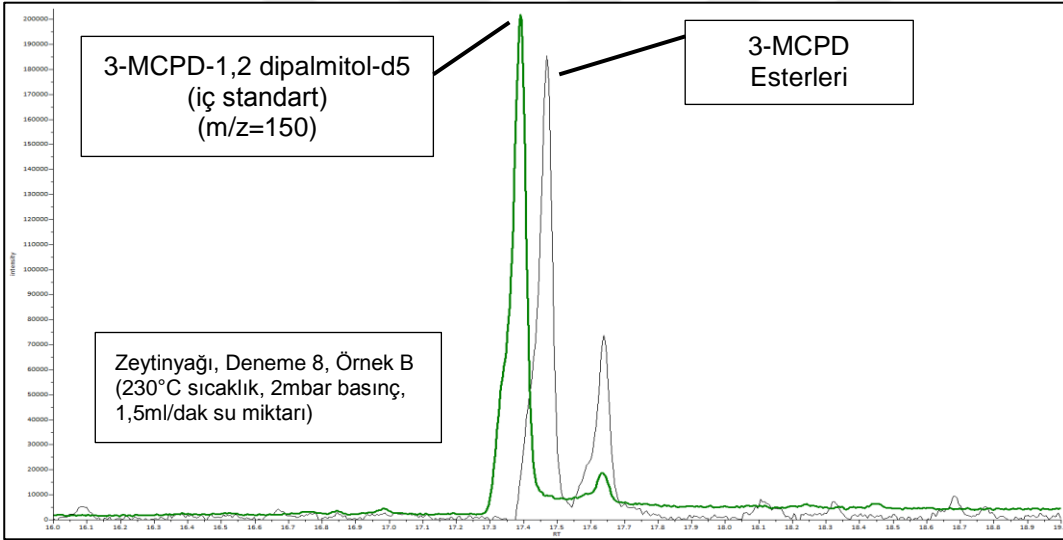
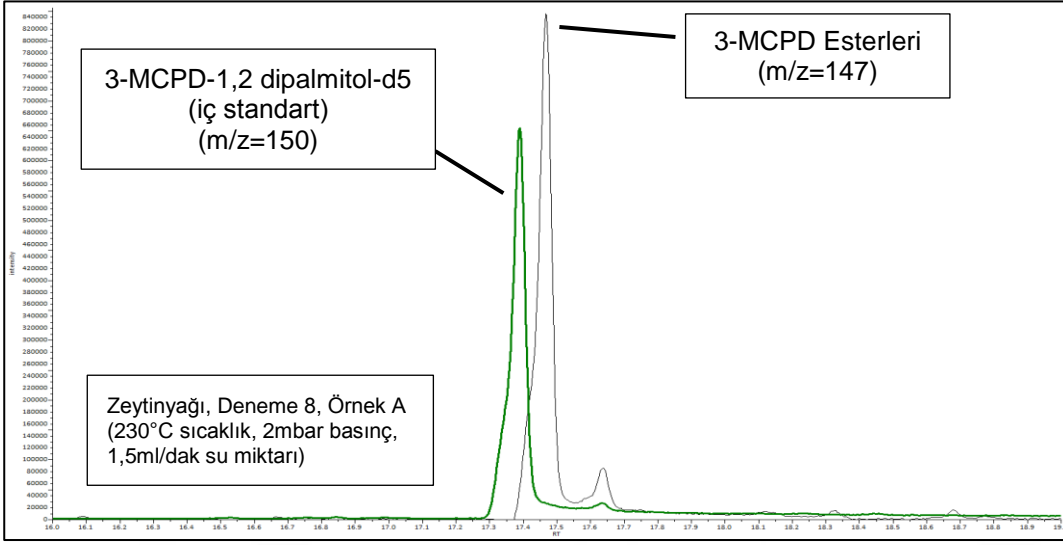


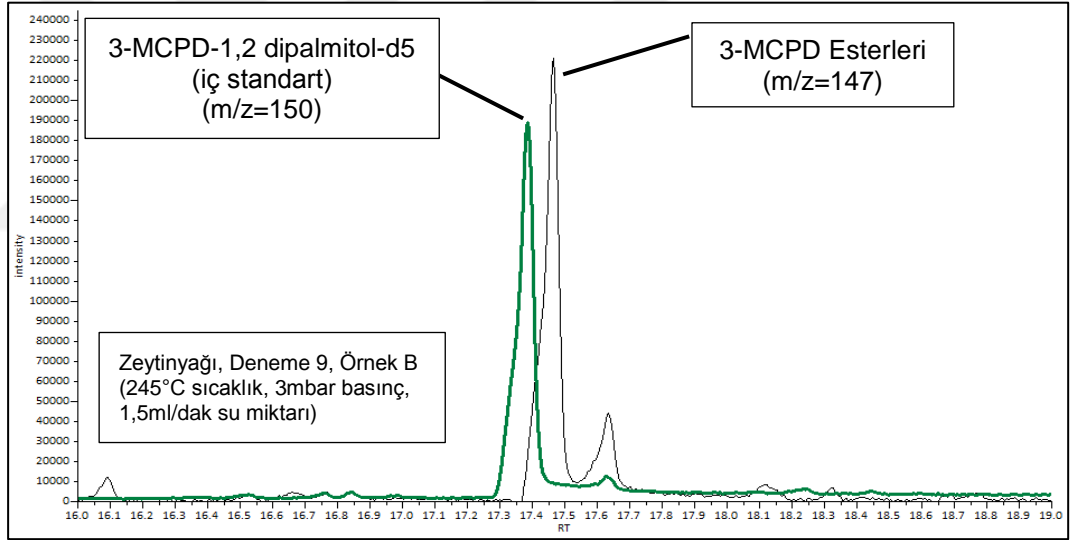
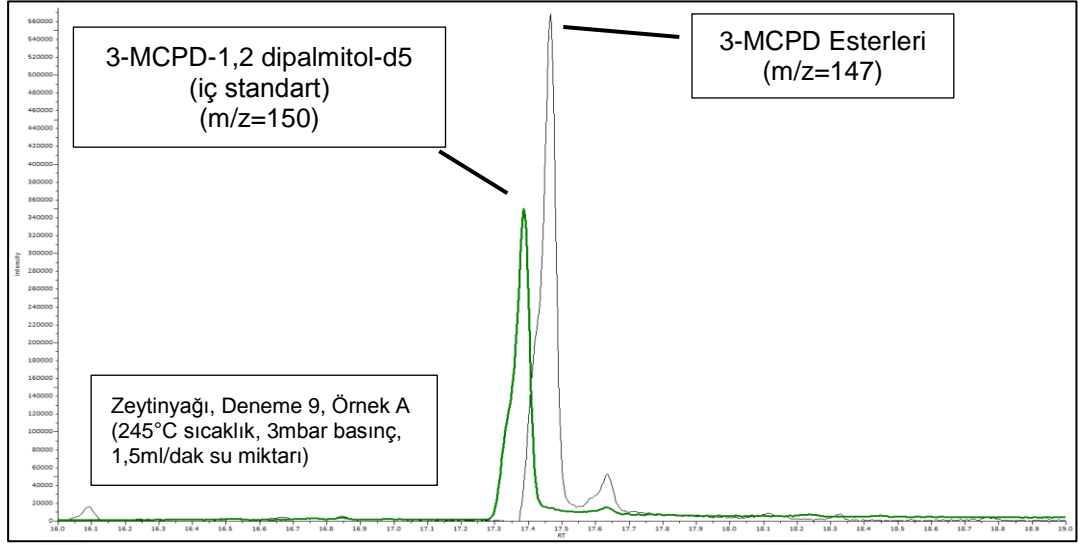


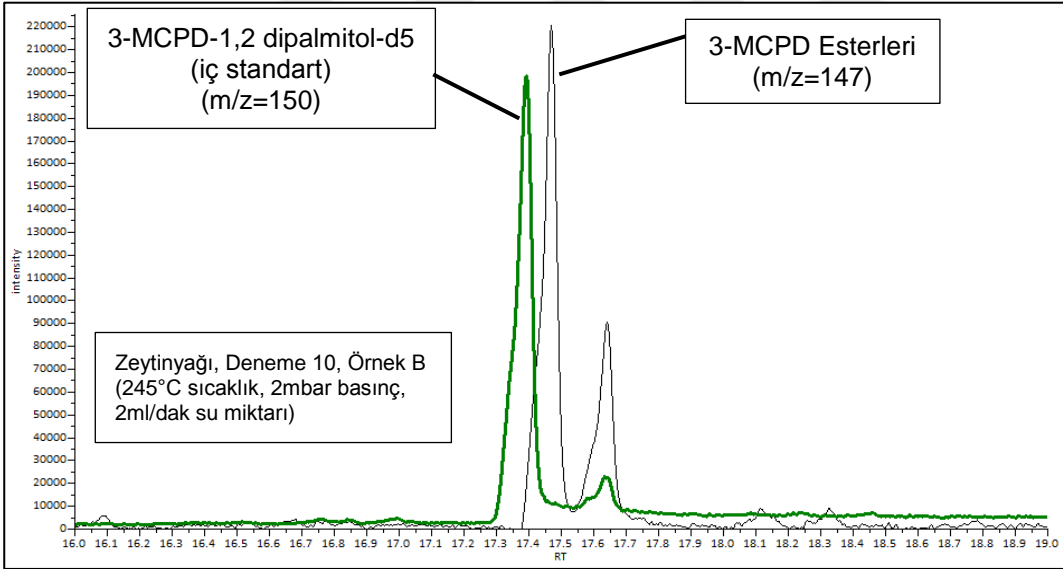
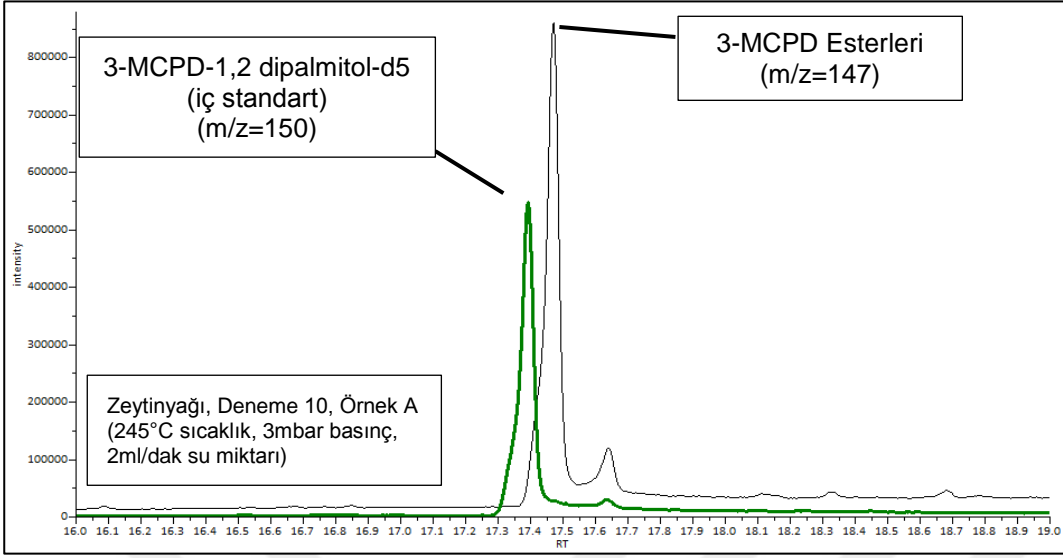


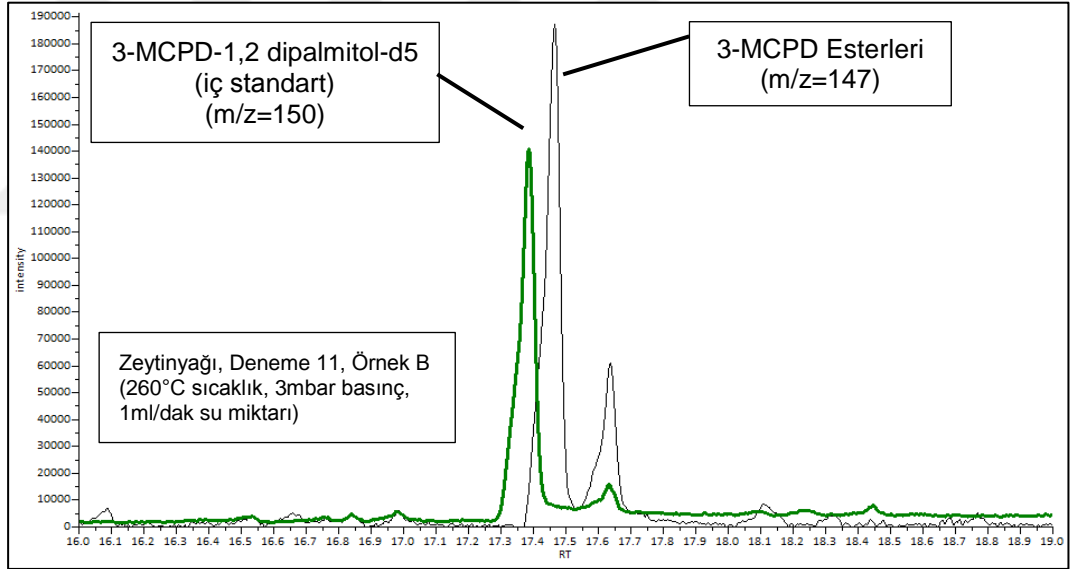
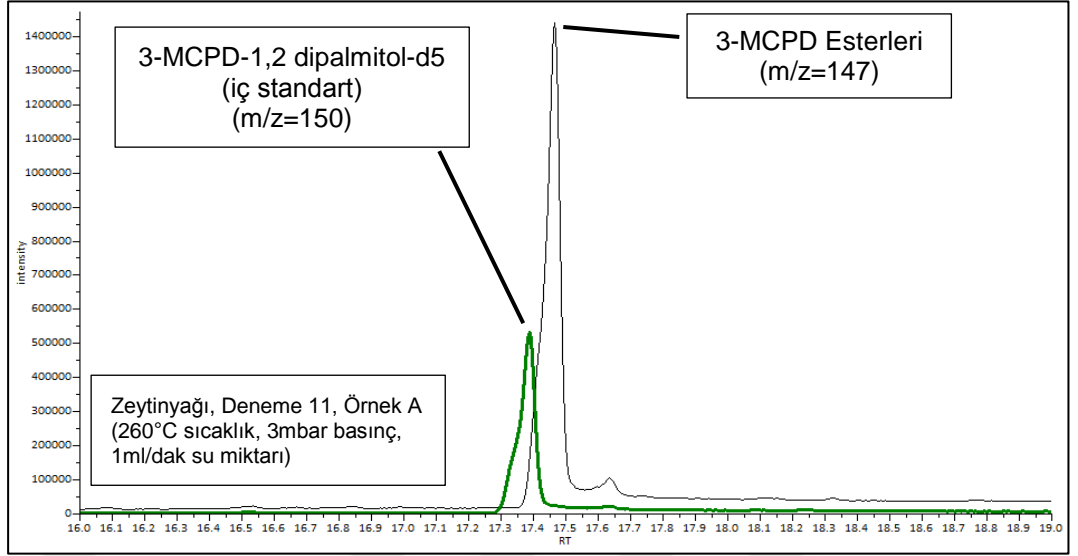


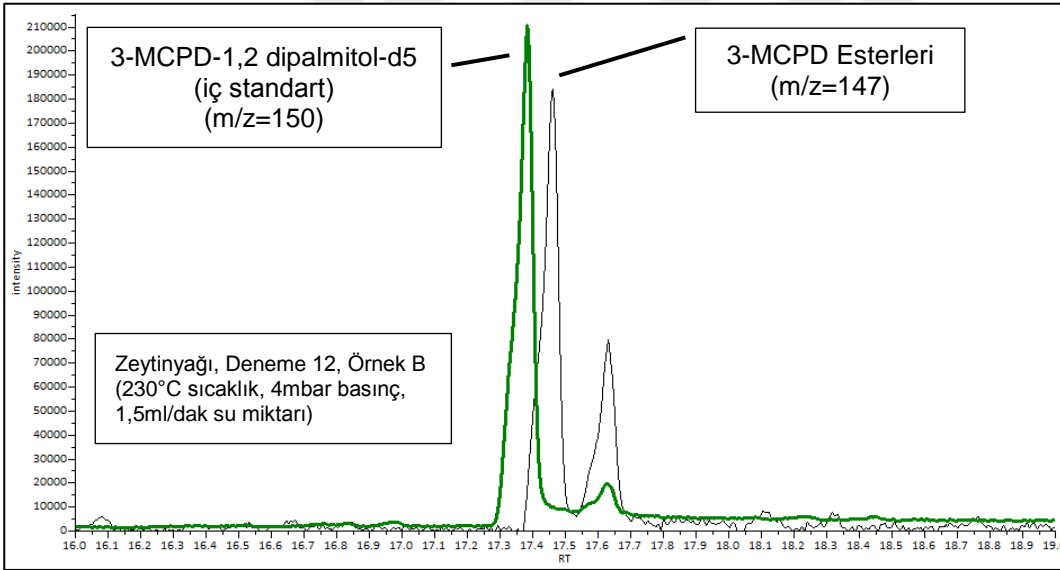
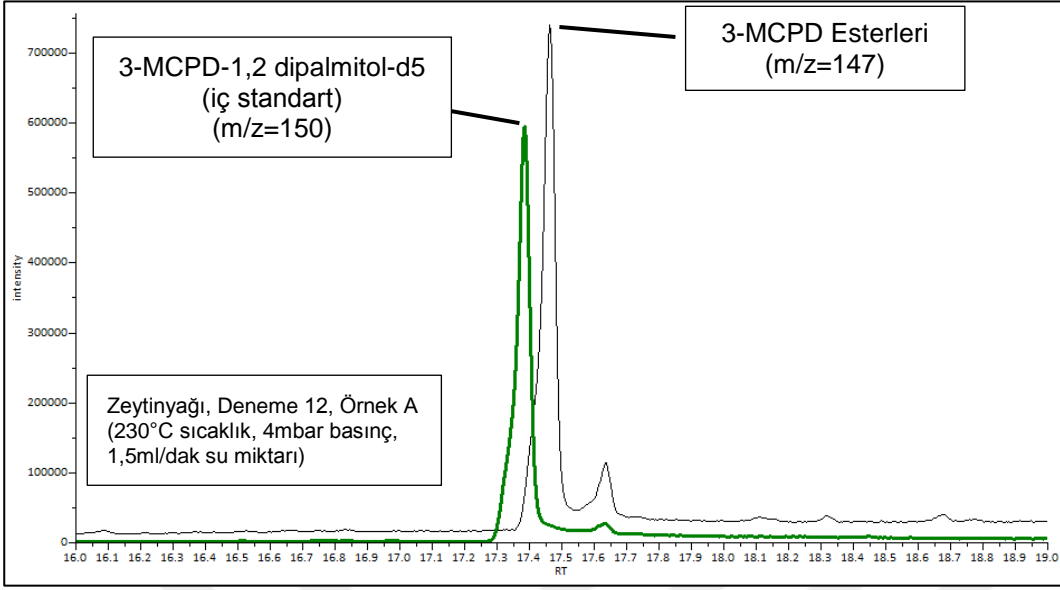


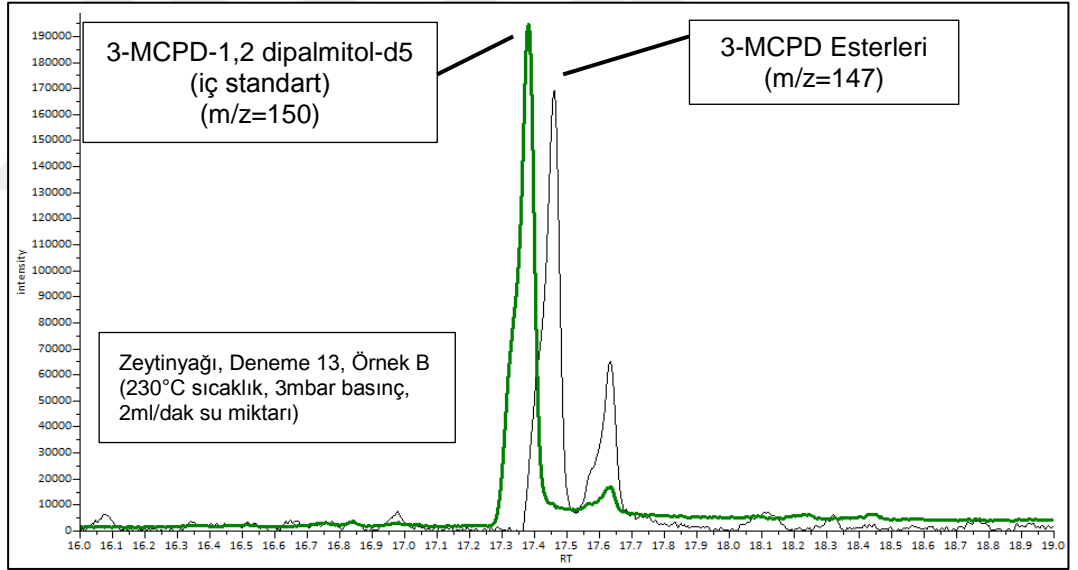
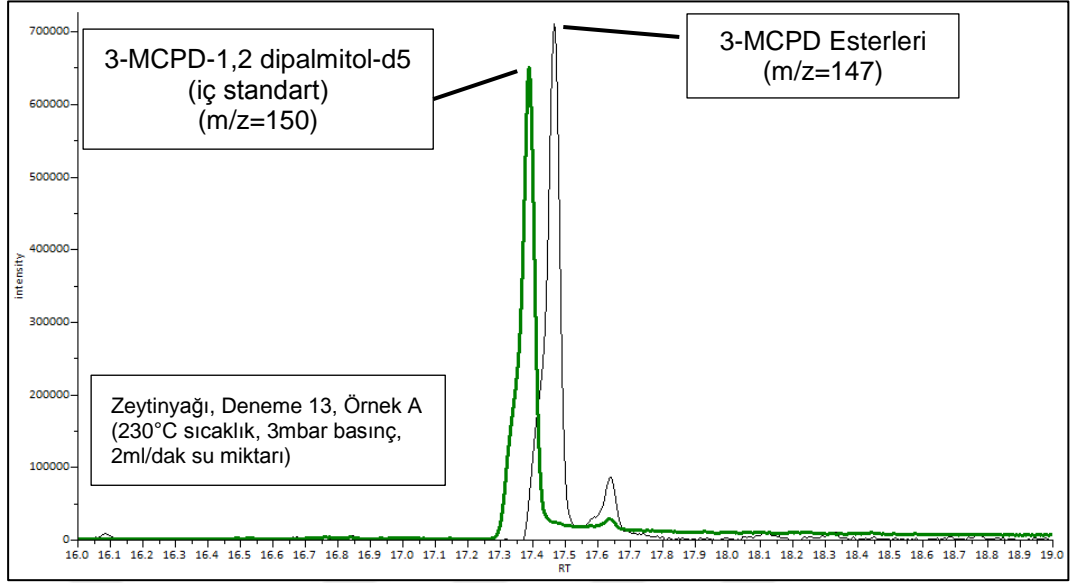


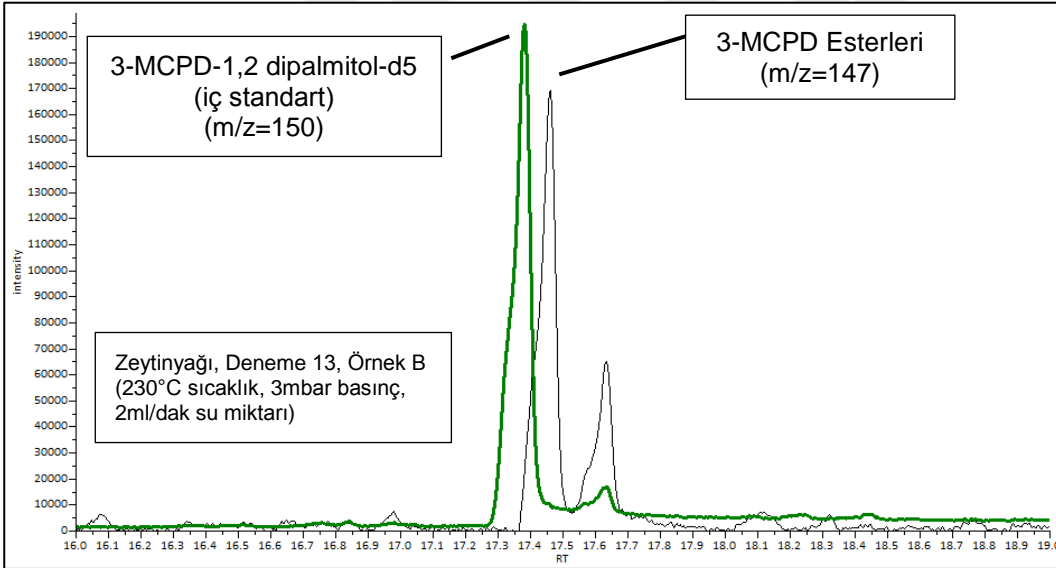
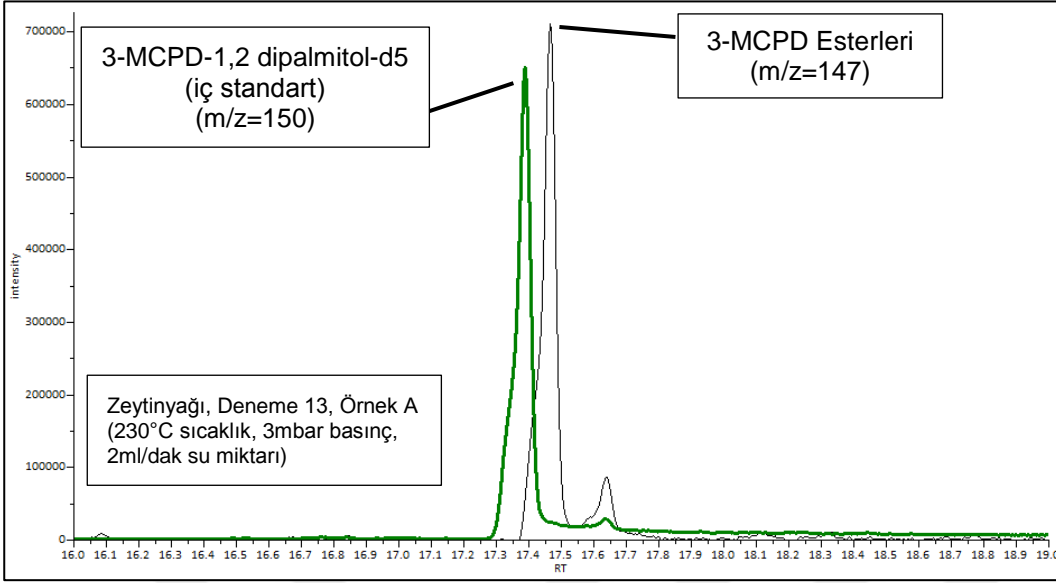


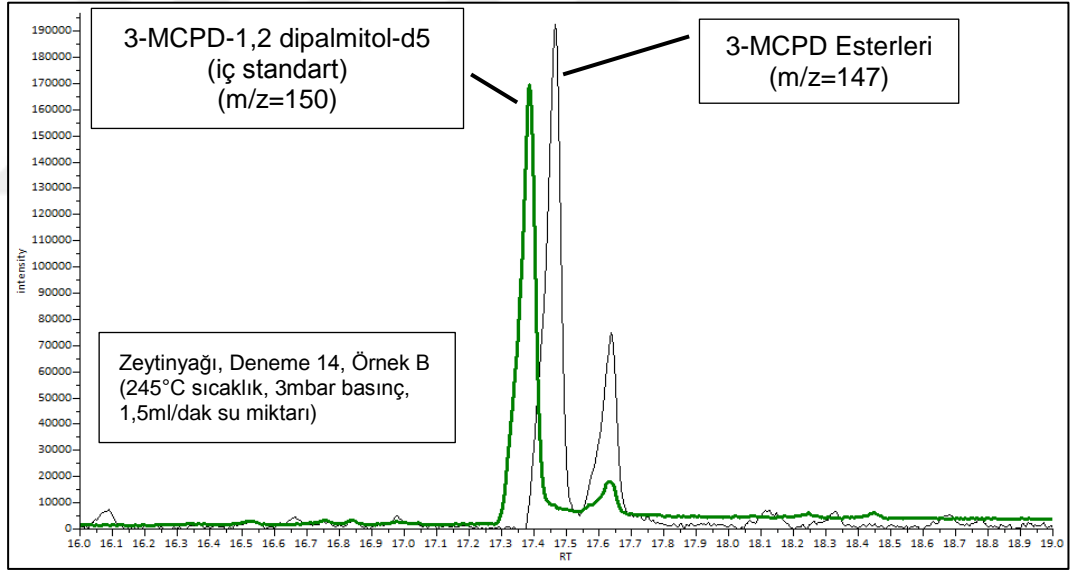
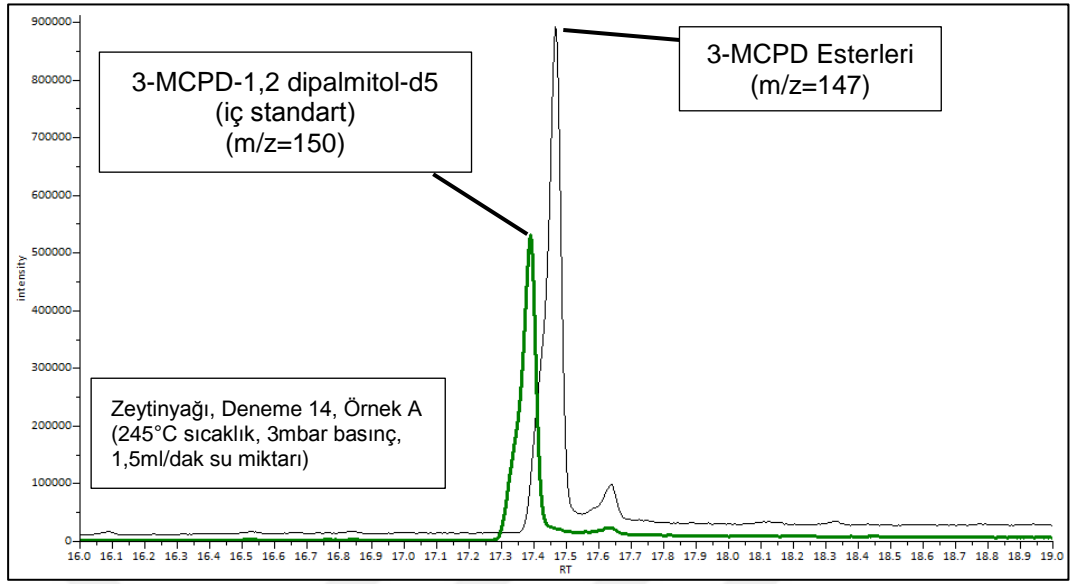


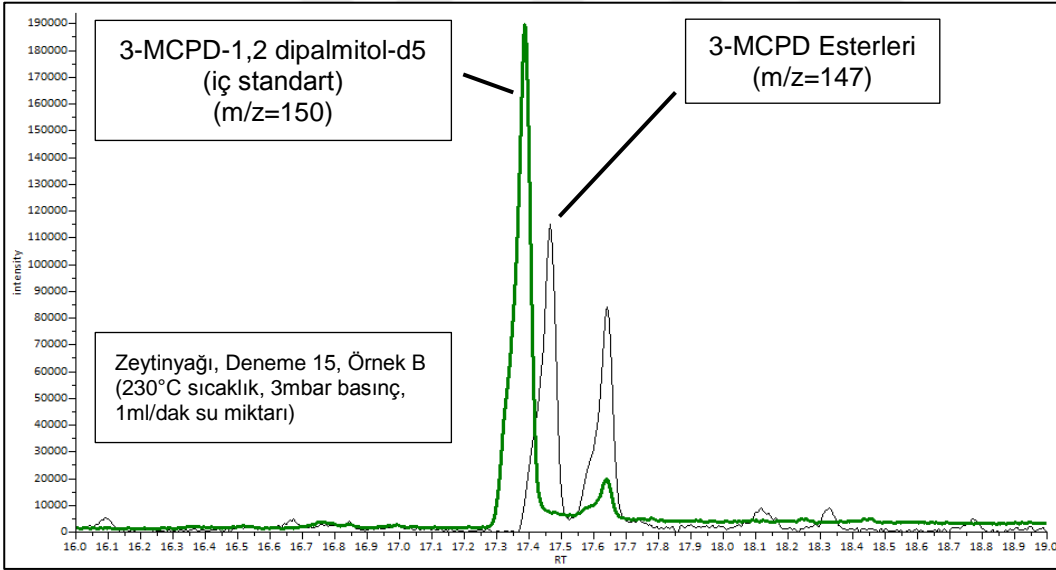
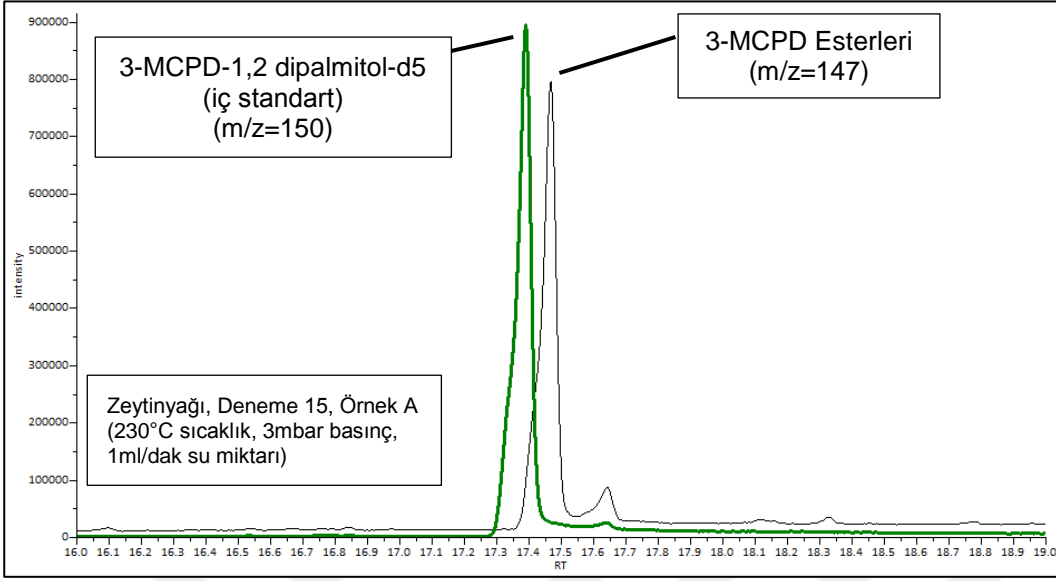


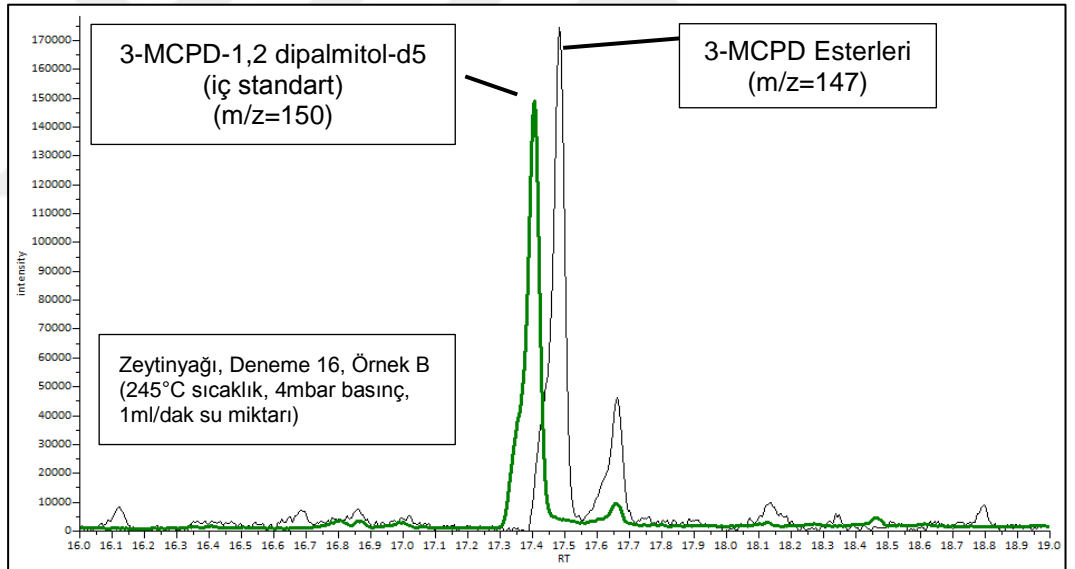
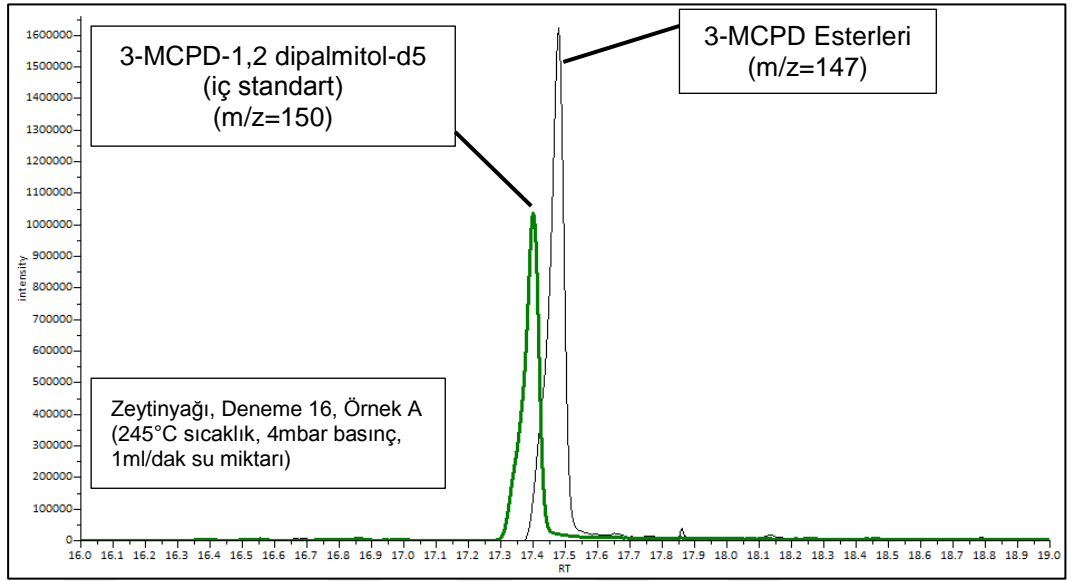


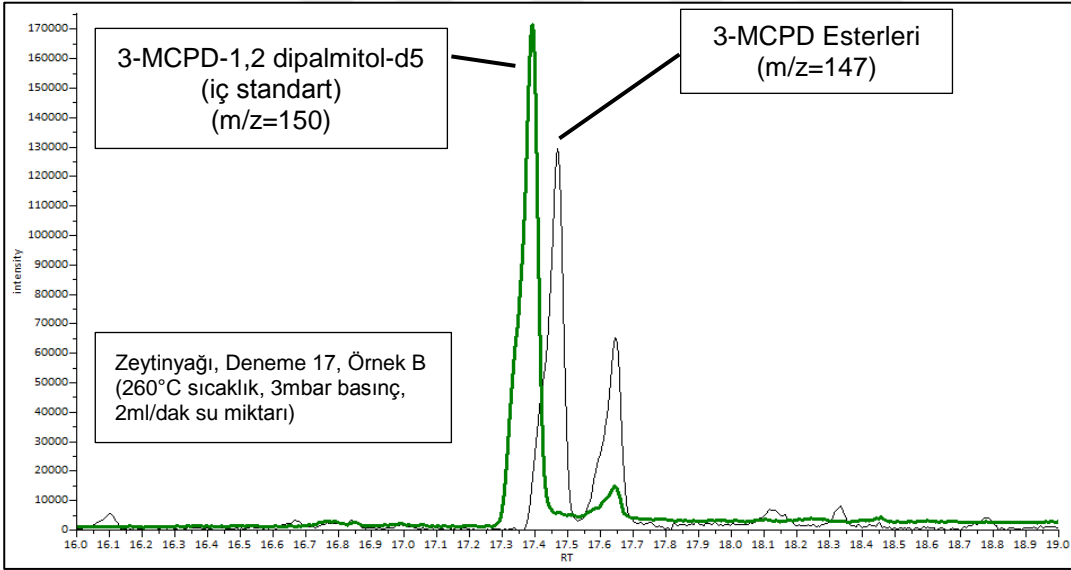
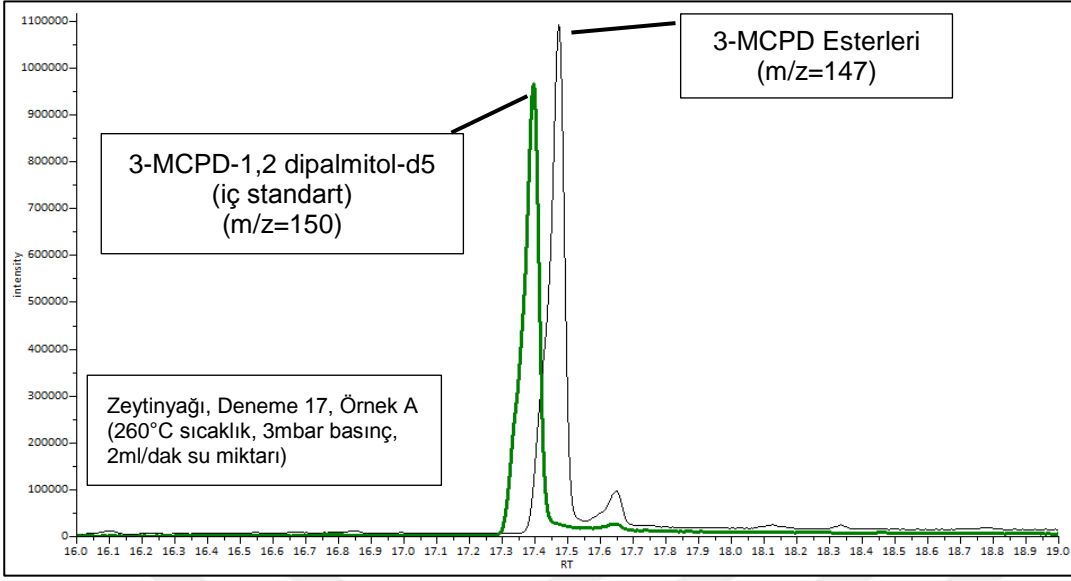












Ek 3. Zeytinyağının su buharı distilasyonu sırasında 3-MCPD esterleri oluşumu için oluşturulan polinomiyal modelin tüm terimlerini içeren varyans analizi sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	SD	Ortalamaların Karesi	F Değeri	P Değeri
Model	11,913676	9	1,3237418	2,4209517	0.1284**
A-Sıcaklık	9,03125	1	9,03125	16,516982	0.0048*
B-Su Miktarı	0,45125	1	0,45125	0,8252776	0.3938**
C-Basınç	0,005	1	0,005	0,0091444	0.9265**
AxB	0,7225	1	0,7225	1,3213586	0.2881**
AxC	0,09	1	0,09	0,1645983	0.6971**
BxC	0,04	1	0,04	0,0731548	0.7946**
A²	0,2901316	1	0,2901316	0,5306129	0.4900**
B²	0,0059211	1	0,0059211	0,0108288	0.9200**
C²	1,3322368	1	1,3322368	2,436488	0.1625**
Model Uyumsuzluğu	0,0675	3	0,0225	0,0239362	0.9942**
Saf Hata	3,76	4	0,94		
Genel Toplam	15,741176	16			

* $\alpha=0,05$ seviyesinde istatistiksel olarak önemlidir.

** $\alpha=0,05$ seviyesinde istatistiksel olarak önemsizdir.

Ek 4. Zeytinyağının su buharı distilasyonu sırasında oluşan 3-MCPD esterleri üzerine işlem parametrelerinin etkilerini gösteren matematiksel modelin varyans analizi sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	SD	Ortalamaların Karesi	F Değeri	P Değeri
Model	10,768676	4	2,6921691	6,496939	0.0051*
A-Sıcaklık	9,03125	1	9,03125	21,794872	0.0005*
B-Su Miktarı	0,45125	1	0,45125	1,0889894	0.3173**
C-Basınç	0,005	1	0,005	0,0120664	0.9143**
C²	1,2811765	1	1,2811765	3,0918286	0.1041**
Model Uyumsuzluğu	1,2125	8	0,1515625	0,1612367	0.9858**
Saf Hata	3,76	4	0,94		
Genel Toplam	15,741176	16			

* $\alpha=0,05$ seviyesinde istatistiksel olarak önemlidir.

** $\alpha=0,05$ seviyesinde istatistiksel olarak önemsizdir.

Ek 5. Zeytinyağının su buharı distilasyonu sırasında glisidil esterleri oluşumu için oluşturulan polinomial modelin tüm terimlerini içeren varyans analizi sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	SD	Ortalamaların Karesi	F Değeri	P Değeri
Model	0,148912	9	0,016546	2,85976	0.0899**
<i>A-Sıcaklık</i>	0,06125	1	0,06125	10,58642	0.0140*
B-Su Miktarı	0,01125	1	0,01125	1,944444	0.2058**
C-Basınç	0,005	1	0,005	0,864198	0.3835**
AxB	0,04	1	0,04	6,91358	0.0339*
AxC	0,0025	1	0,0025	0,432099	0.5320**
BxC	0,0025	1	0,0025	0,432099	0.5320**
A ²	0,006737	1	0,006737	1,164392	0.3163**
B ²	0,015158	1	0,015158	2,619883	0.1496**
C ²	0,005158	1	0,005158	0,891488	0.3765**
Model Uyumsuzluğu	0,0125	3	0,004167	0,595238	0.6507**
Saf Hata	0,028	4	0,007		
Genel Toplam	0,189412	16			

* $\alpha=0,05$ seviyesinde istatistiksel olarak önemlidir.

** $\alpha=0,05$ seviyesinde istatistiksel olarak önemsizdir.

Ek 6. Zeytinyağının su buharı distilasyonu sırasında oluşan glisidil esterleri üzerine işlem parametrelerin etkilerini gösteren matematiksel modelin varyans analizi sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	SD	Ortalamaların Karesi	F Değeri	P Değeri
Model	0,1175	4	0,029375	4,90184	0.0141*
A-Sıcaklık	0,06125	1	0,06125	10,22086	0.0077*
B-Su Miktarı	0,01125	1	0,01125	1,877301	0.1957**
C-Basınç	0,005	1	0,005	0,834356	0.3790**
AxB	0,04	1	0,04	6,674847	0.0239*
Model Uyumsuzluğu	0,043912	8	0,005489	0,784139	0.6444**
Saf Hata	0,028	4	0,007		
Genel Toplam	0,189412	16			

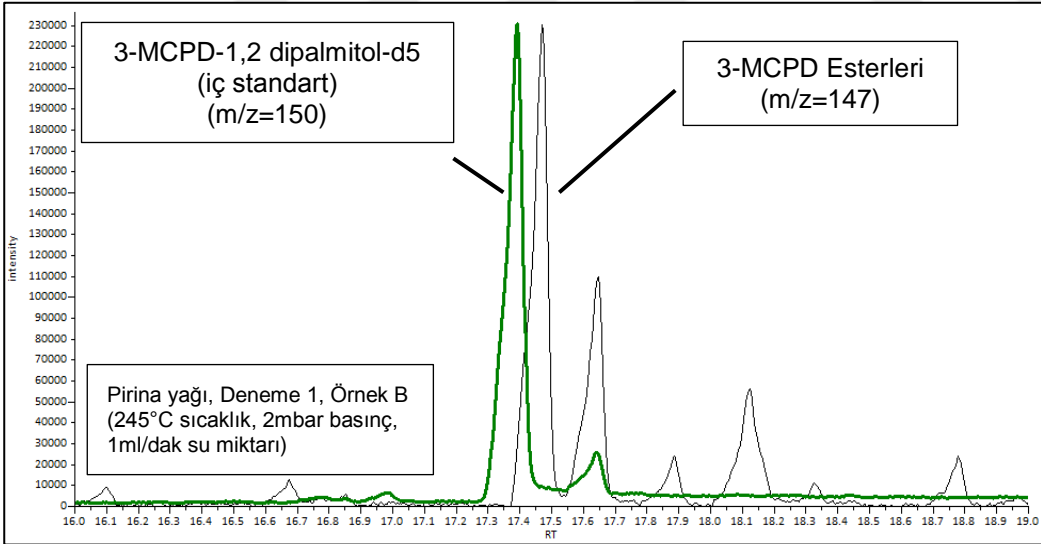
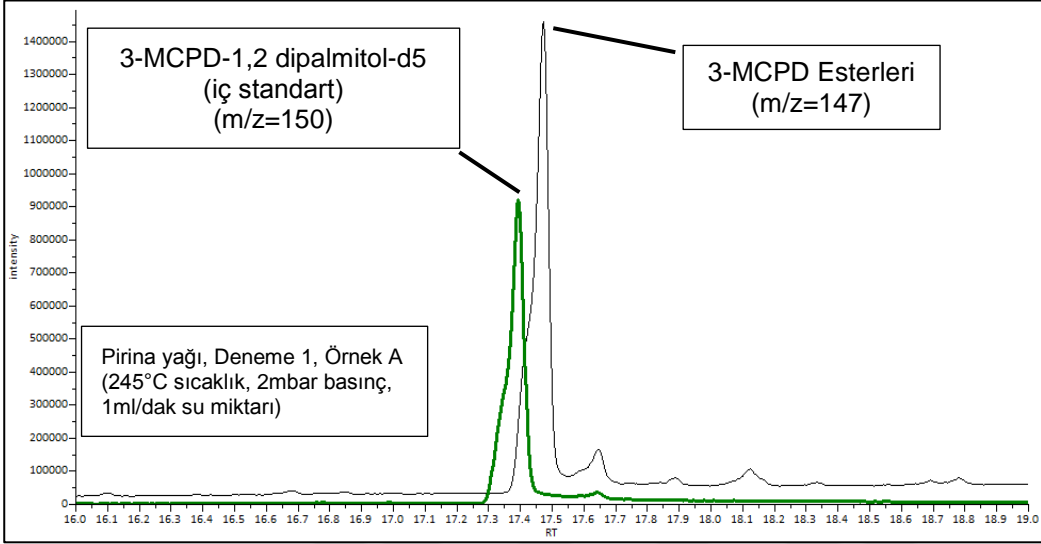
* $\alpha=0,05$ seviyesinde istatistiksel olarak önemlidir.

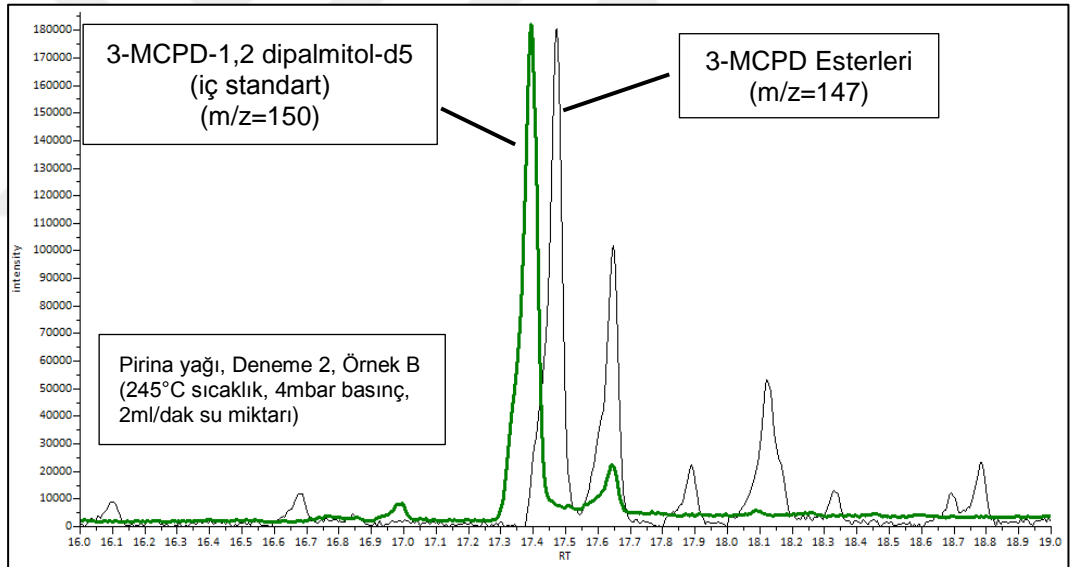
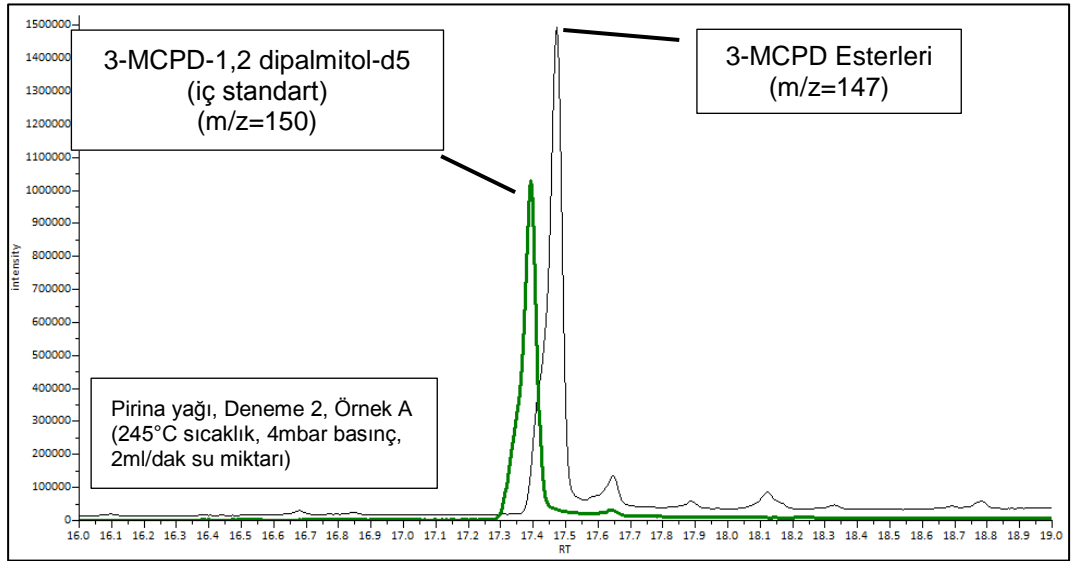
** $\alpha=0,05$ seviyesinde istatistiksel olarak önemsizdir.

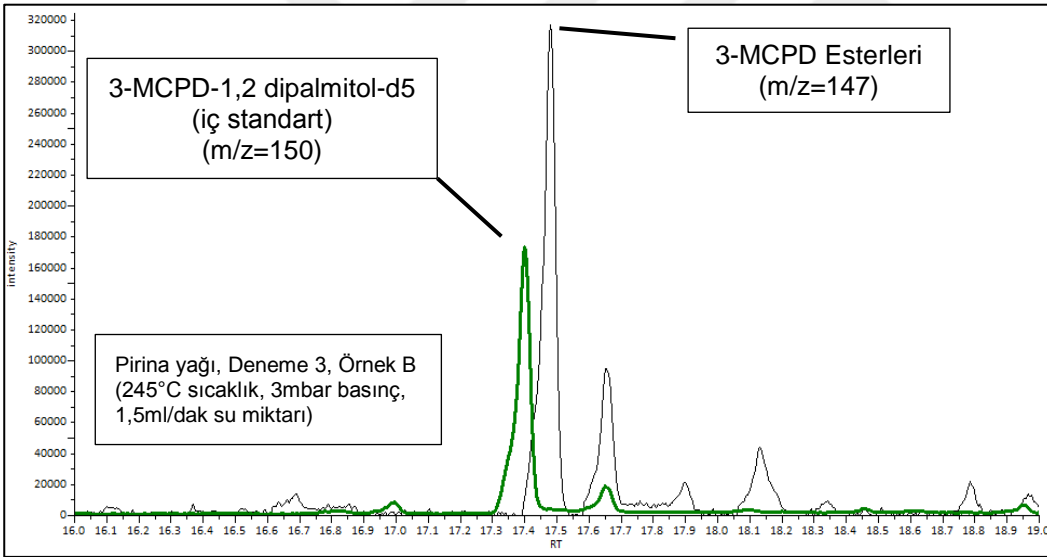
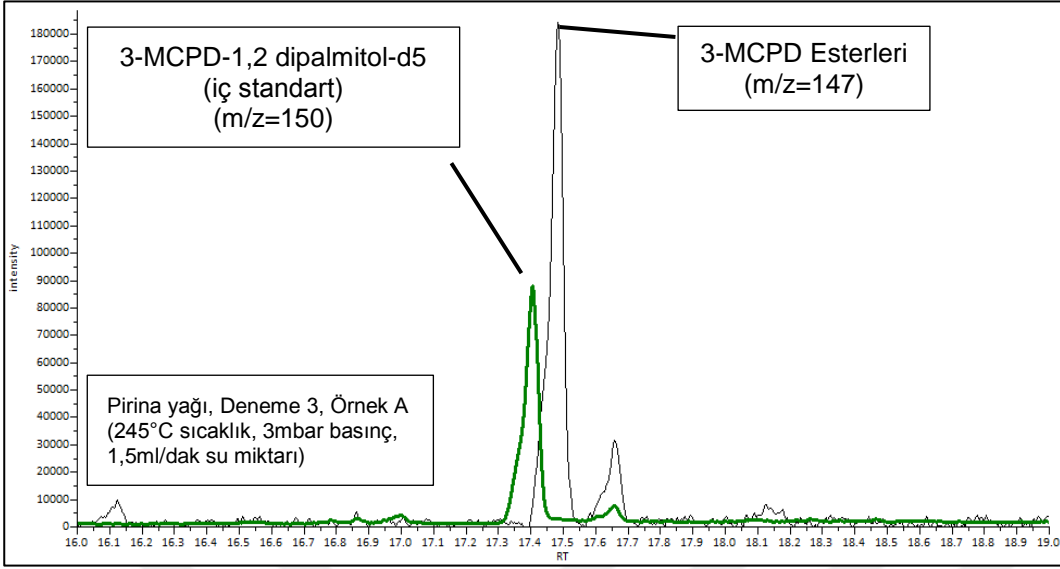
Ek 7. Pirina yağında uygulanan su buharı distilasyonu denemelerinin sonrasında elde edilen yağlardaki 3-MCPD esterleri ve glisidil esterleri miktarlarının hesaplanması

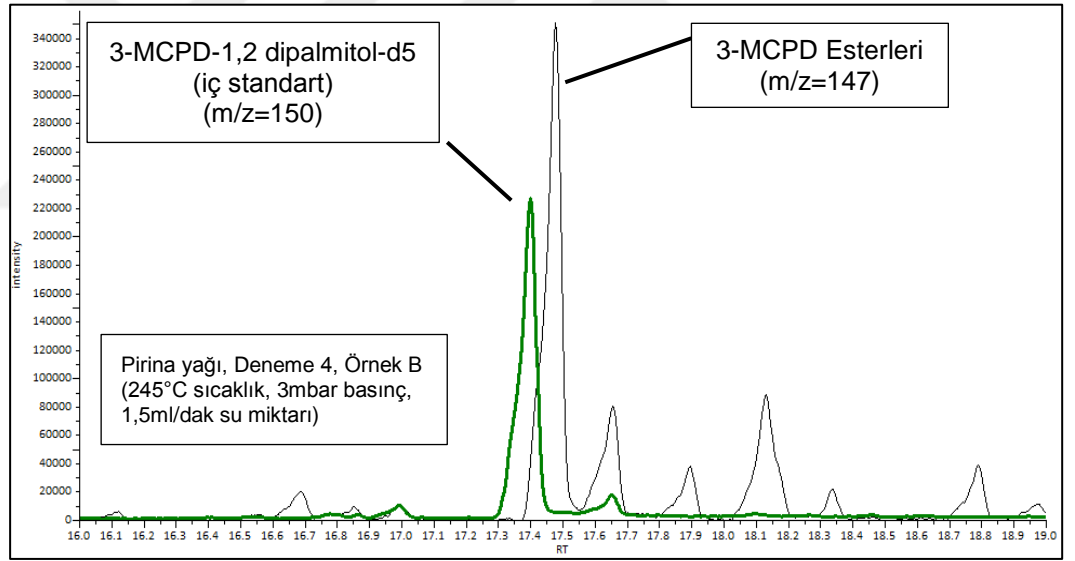
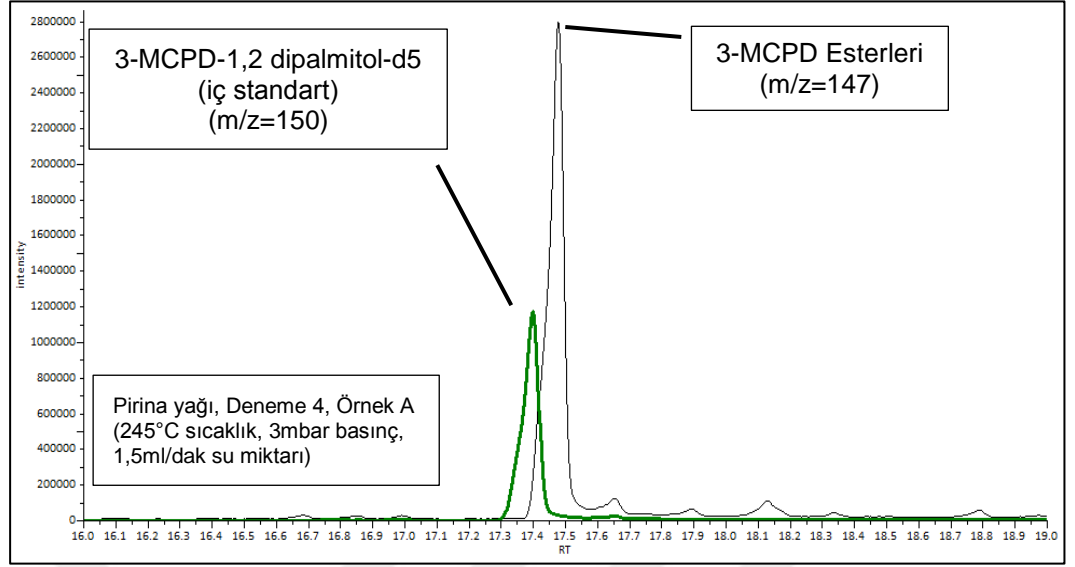
Deneme No	Vial	Örnek Miktarı (mg)	Örnek Pik Alanı (Kütle / yük = 147)	Standart Pik Alanı (Kütle / Yük =150)	Tartılan Miktardaki 3-MCPD Esterleri (mg/kg)	Örnekteki 3-MCPD Esterleri (mg/kg)	Oluşan 3-MCPD Esterleri (mg/kg)	Örnekteki Glisidil Esterleri (mg/kg)	Oluşan Glisidil Esterleri (mg/kg)
1	A	112	77110	56928	6,8	6,0	1,9	0,3	0,0
	B	106	12310	15180	6,1	5,7	1,6		
2	A	102	76635	51279	7,5	7,3	3,2	0,3	0,0
	B	111	9516	9119	7,8	7,1	3,0		
3	A	148	12905	4836	13,3	9,0	4,9	0,3	0,0
	B	101	16076	9117	8,8	8,7	4,6		
4	A	149	122624	61356	10,0	6,7	2,6	0,3	0,0
	B	101	18106	13942	6,5	6,4	2,3		
5	A	110	77178	39004	9,9	9,0	4,9	0,4	0,1
	B	107	13051	10581	9,3	8,6	4,5		
6	A	106	122803	51416	11,9	11,3	7,2	0,4	0,1
	B	108,5	11643	7371	11,8	10,9	6,8		
7	A	138	109711	45036	12,2	8,8	4,7	0,3	0,0
	B	101	8096	4688	8,6	8,5	4,4		
8	A	141	90555	43227	10,5	7,4	3,3	0,3	0,0
	B	102	8668	5993	7,2	7,1	3,0		
9	A	113	46163	30435	7,6	6,7	2,6	0,4	0,1
	B	110,5	5689	6117	7,0	6,3	2,2		
10	A	95	73254	41023	8,9	9,4	5,3	0,3	0,0
	B	110,5	11900	8898	10,0	9,1	5,0		
11	A	148	99416	35335	14,1	9,5	5,4	0,4	0,1
	B	102	7333	3964	9,2	9,1	5,0		
12	A	159	95624	43526	11,0	6,9	2,8	0,3	0,0
	B	117	15322	9903	7,7	6,6	2,5		
13	A	95	50494	42261	6,0	6,3	2,2	0,3	0,0
	B	109	7848	9007	6,5	6,0	1,9		
14	A	134	85177	32698	13,0	9,7	5,6	0,3	0,0
	B	110	18663	8978	10,4	9,4	5,3		
15	A	97	57024	43256	6,6	6,8	2,7	0,3	0,0
	B	100,5	8481	9720	6,5	6,5	2,4		
16	A	151	63275	26109	12,1	8,0	3,9	0,3	0,0
	B	102	4330	2759	7,8	7,7	3,6		
17	A	138	58175	21889	13,3	9,6	5,5	0,3	0,0
	B	101	10260	5442	9,4	9,3	5,2		

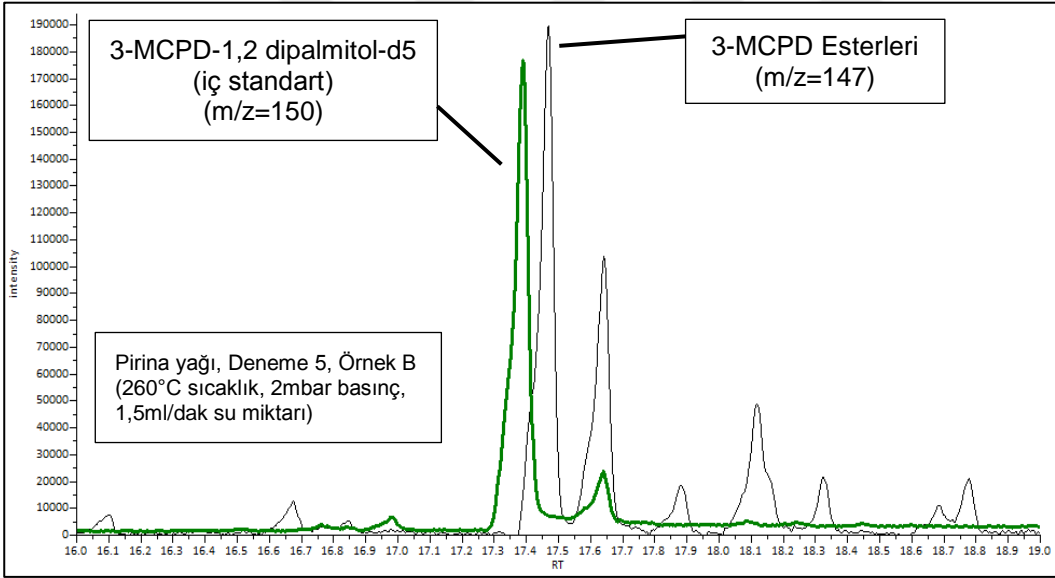
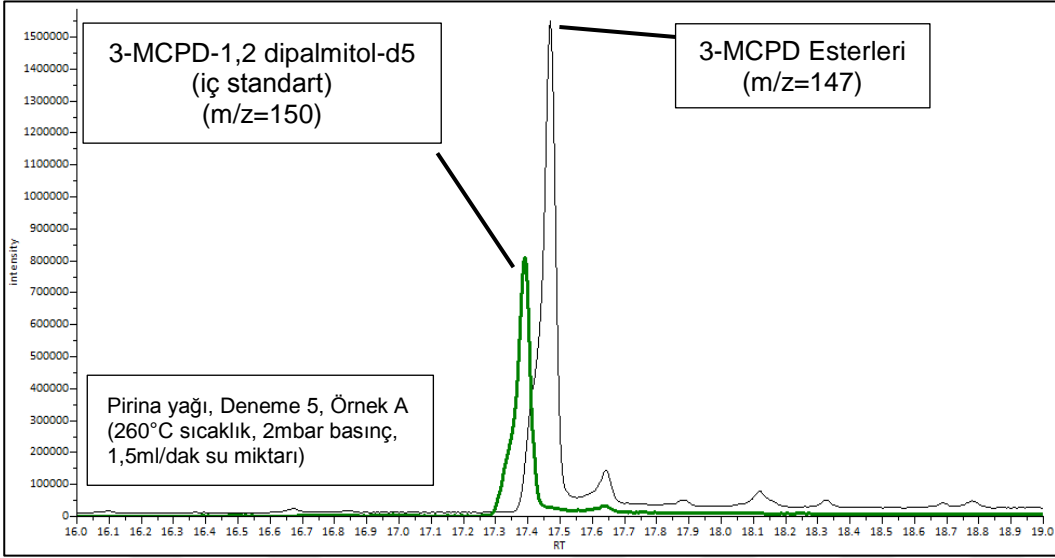
Ek 8. Pirina yağına uygulanan su buharı distilasyonu denemelerinin sonrasında elde edilen yağlarda yapılan 3-MCPD tayini sonucunda elde edilen kromatogramlar

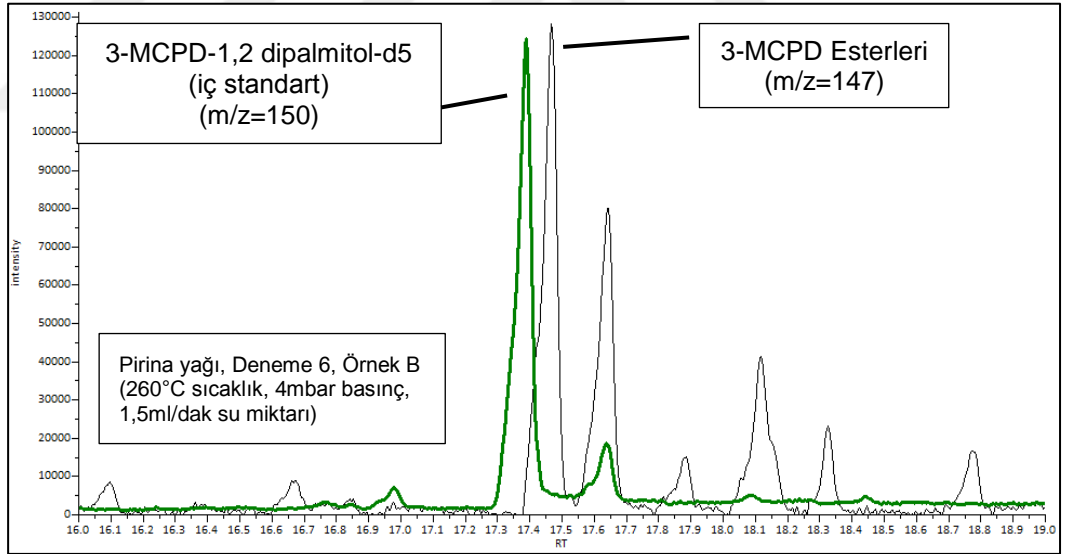
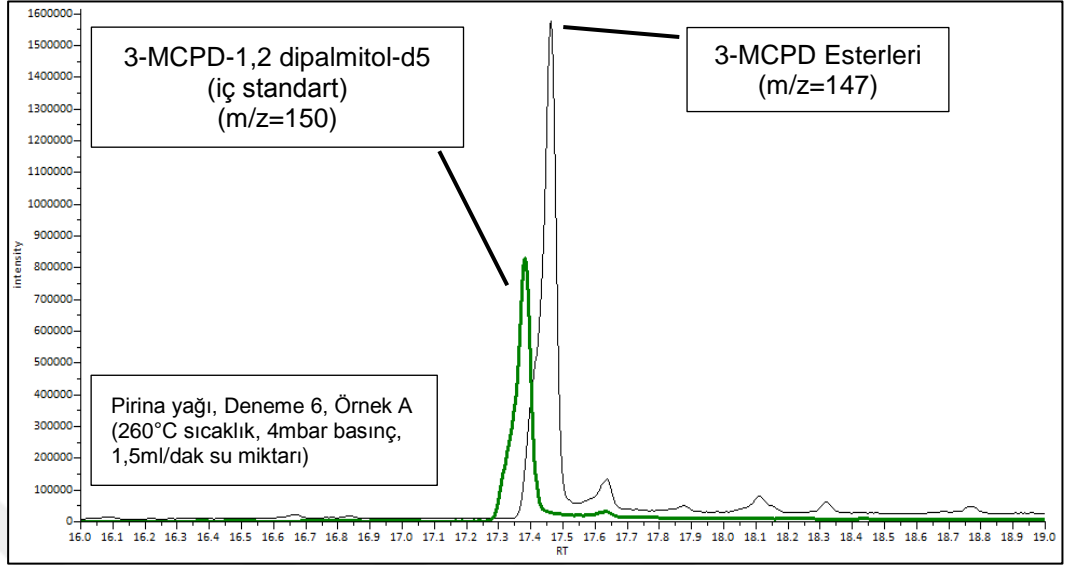


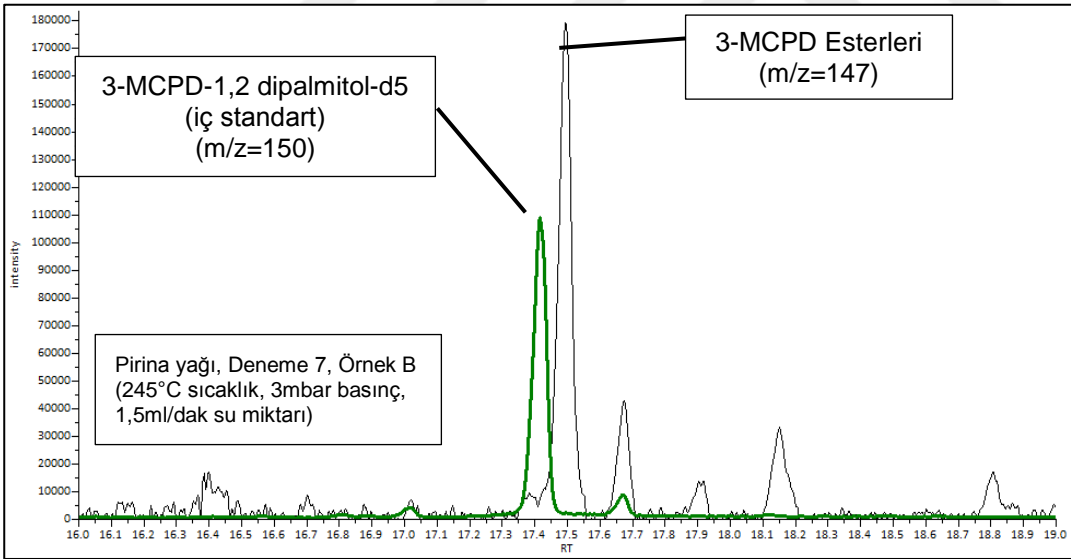
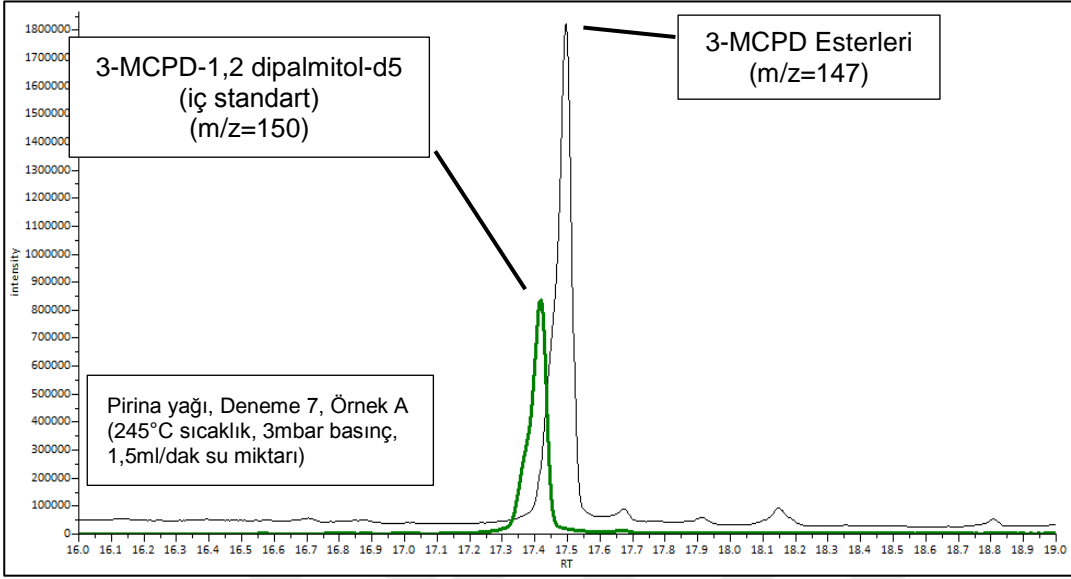


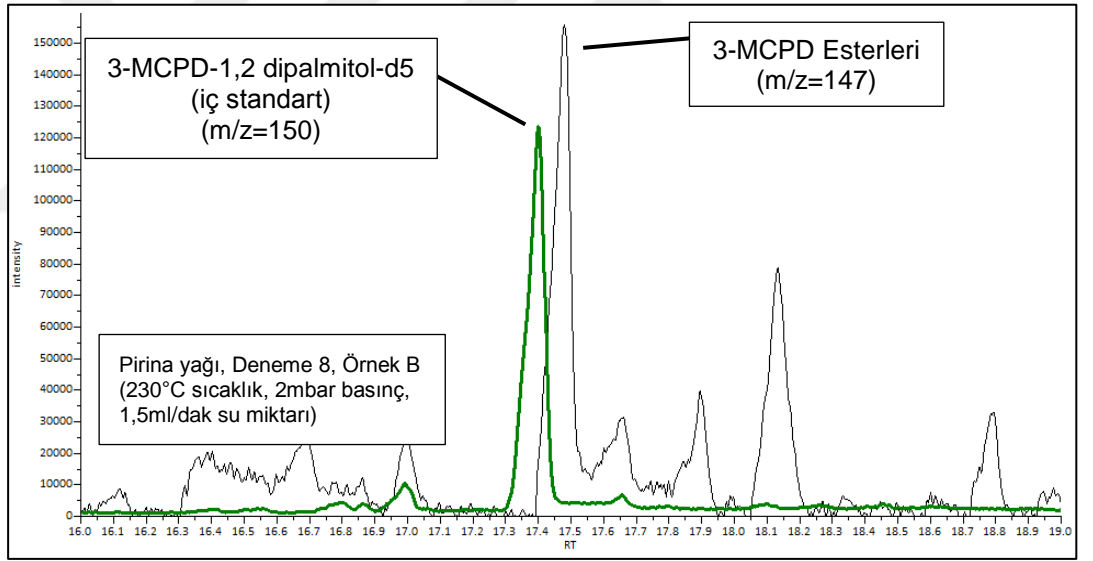
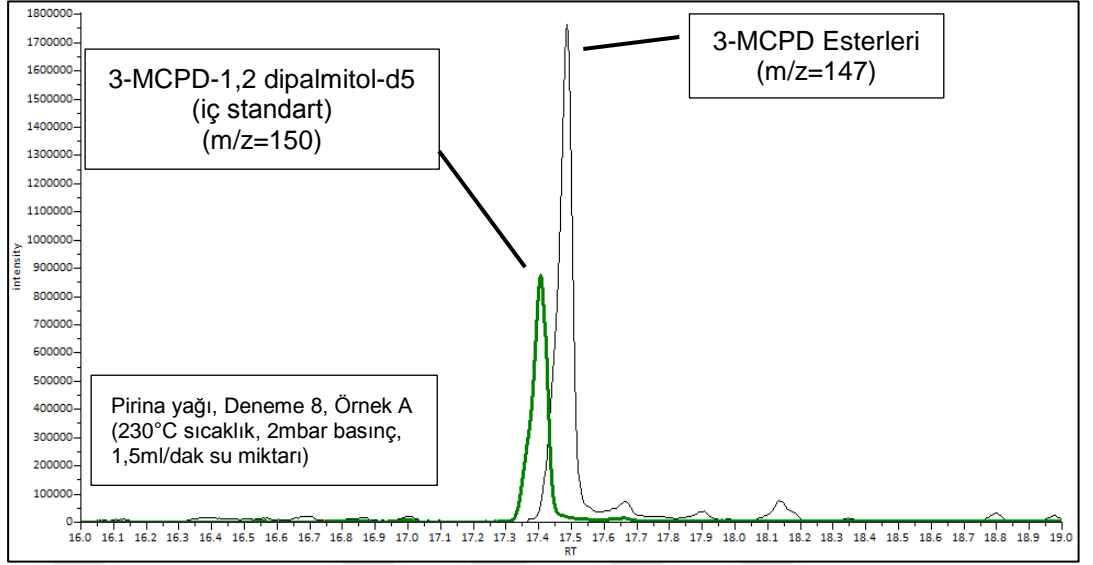


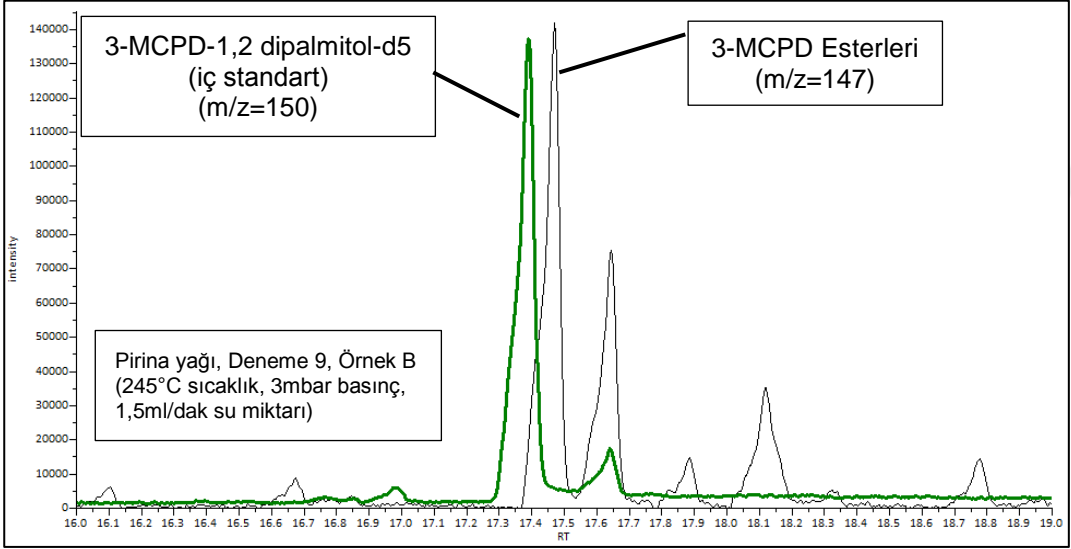
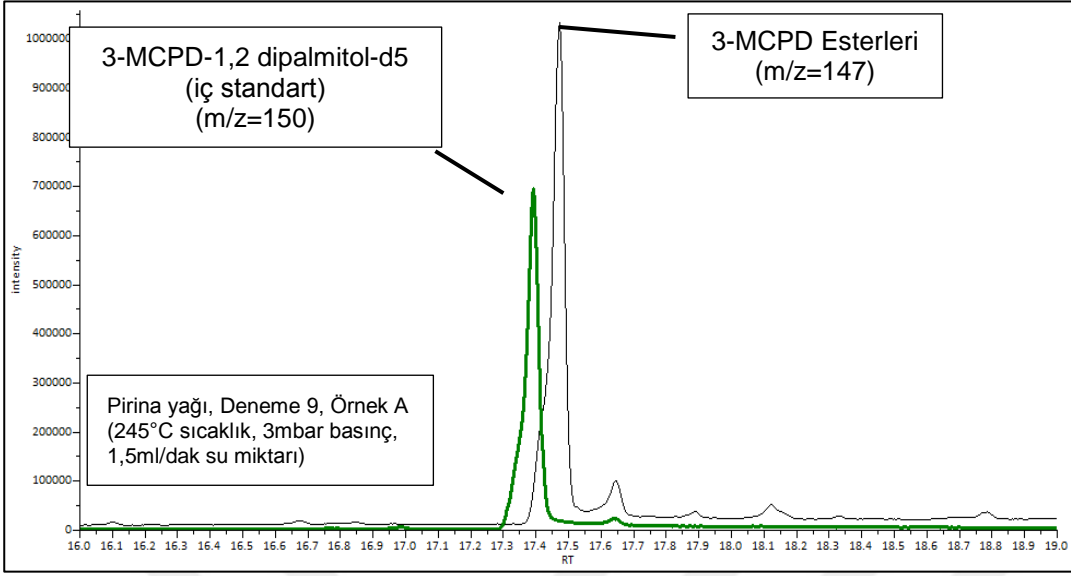


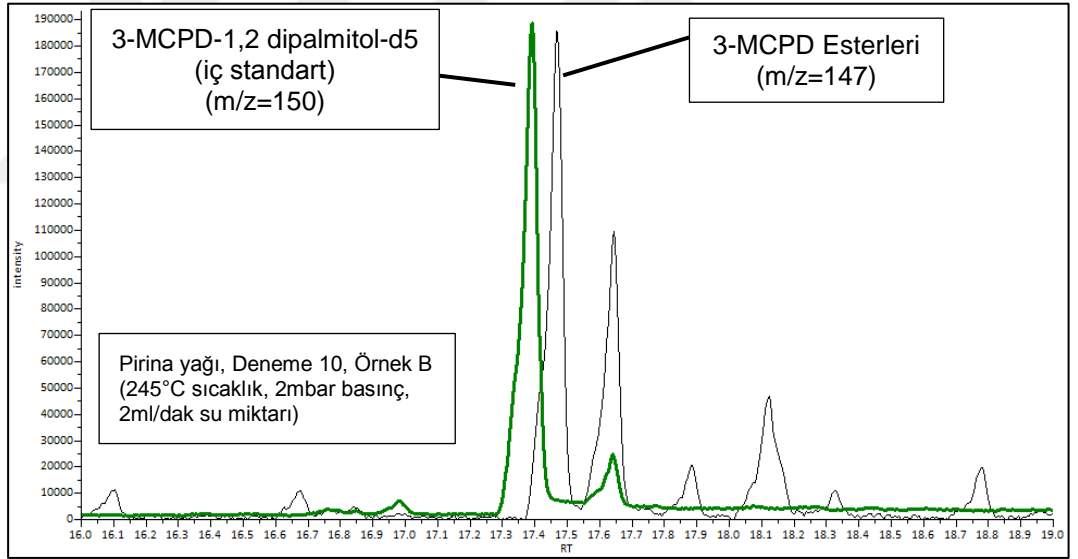
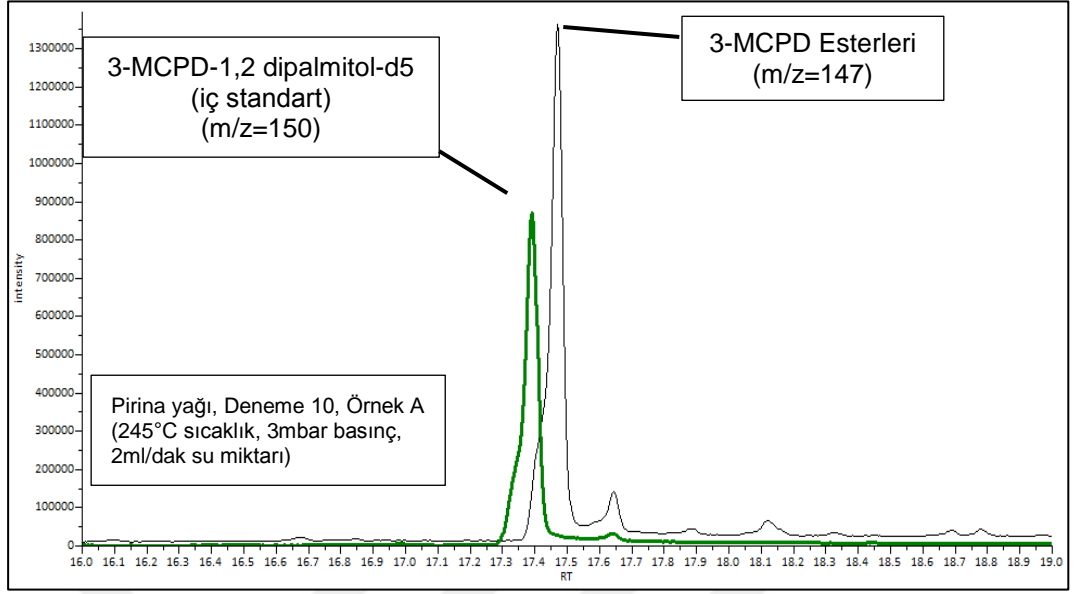


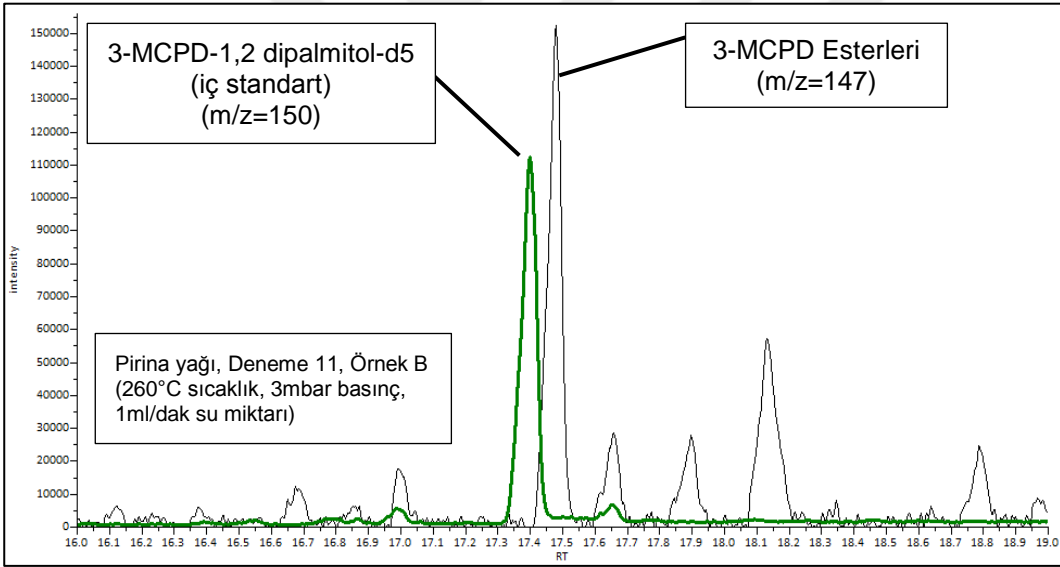
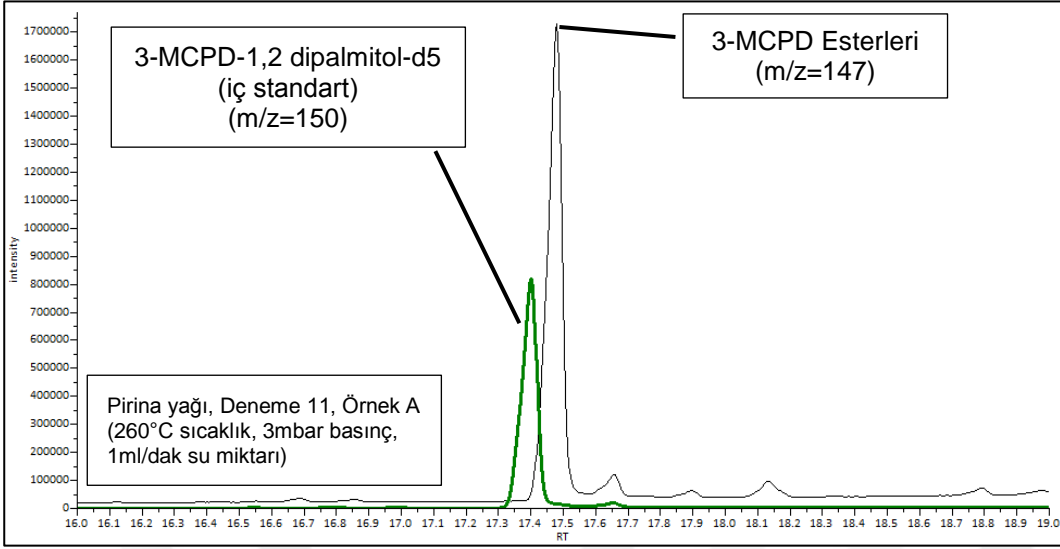


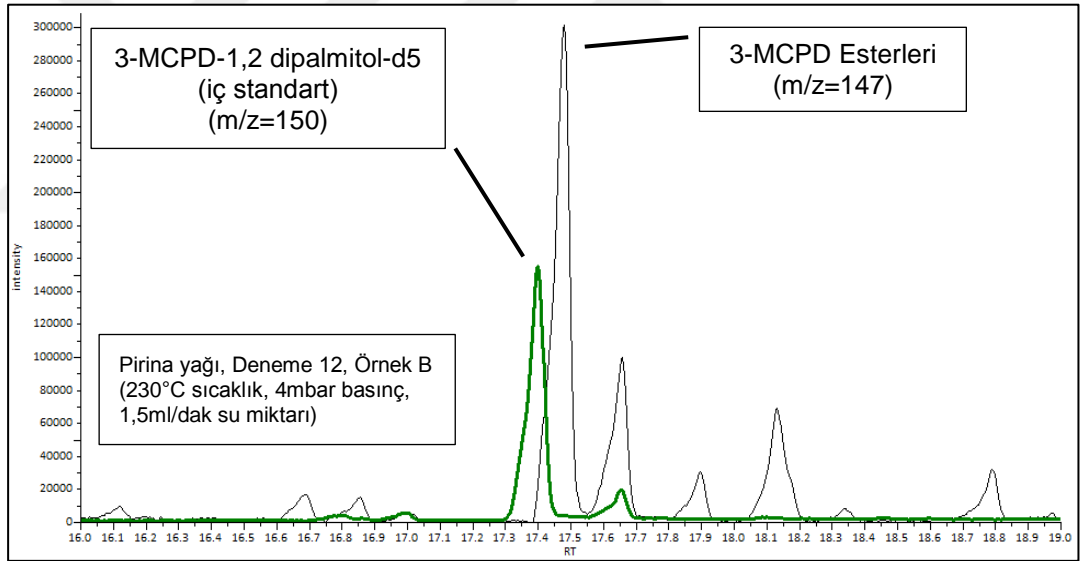
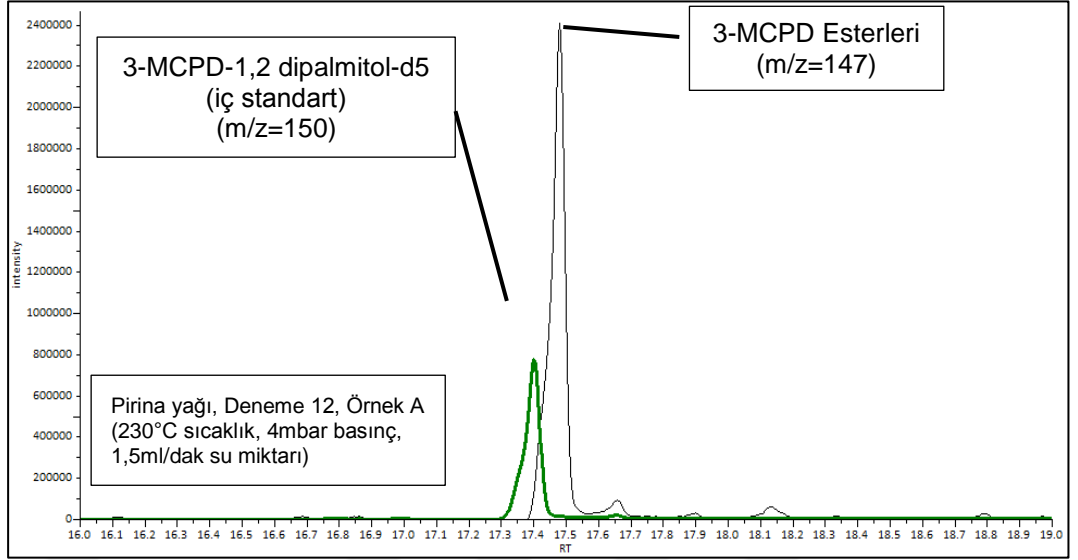


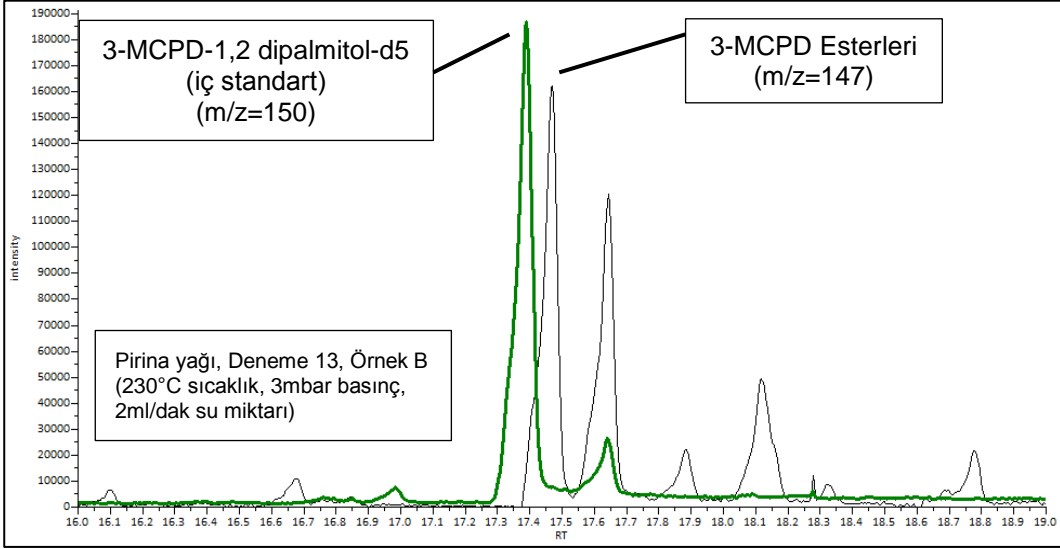
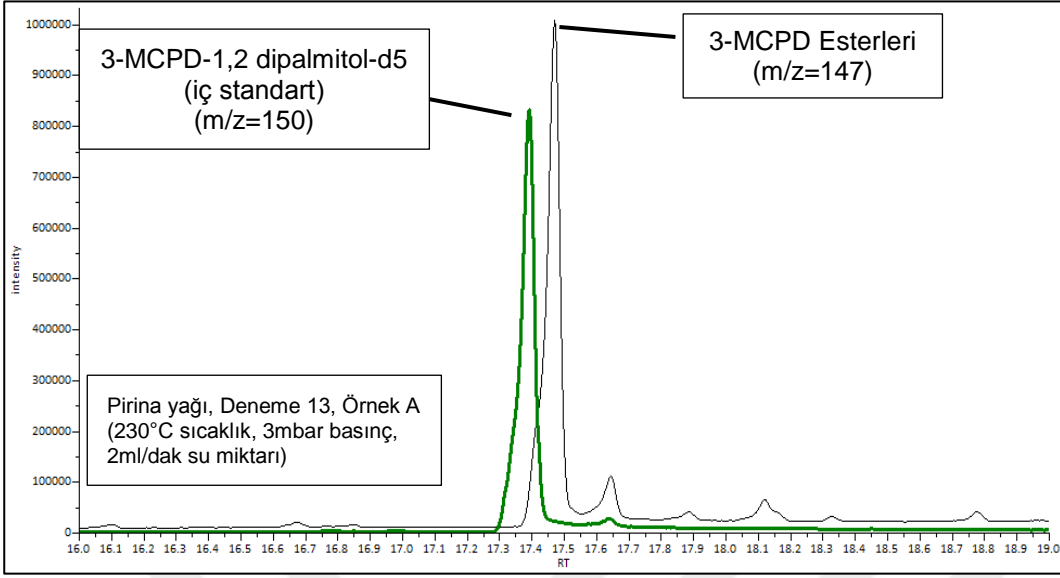


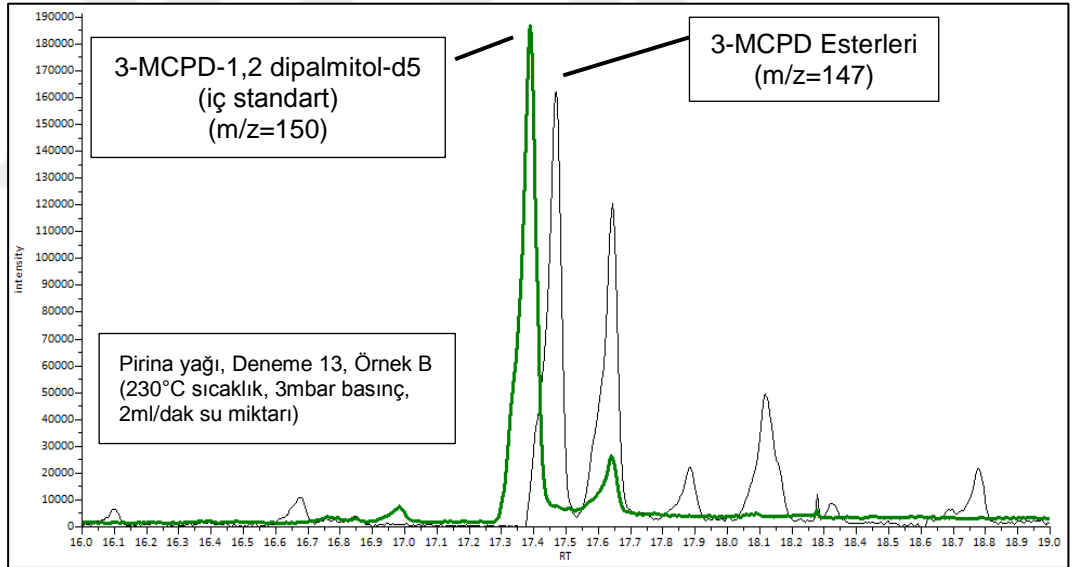
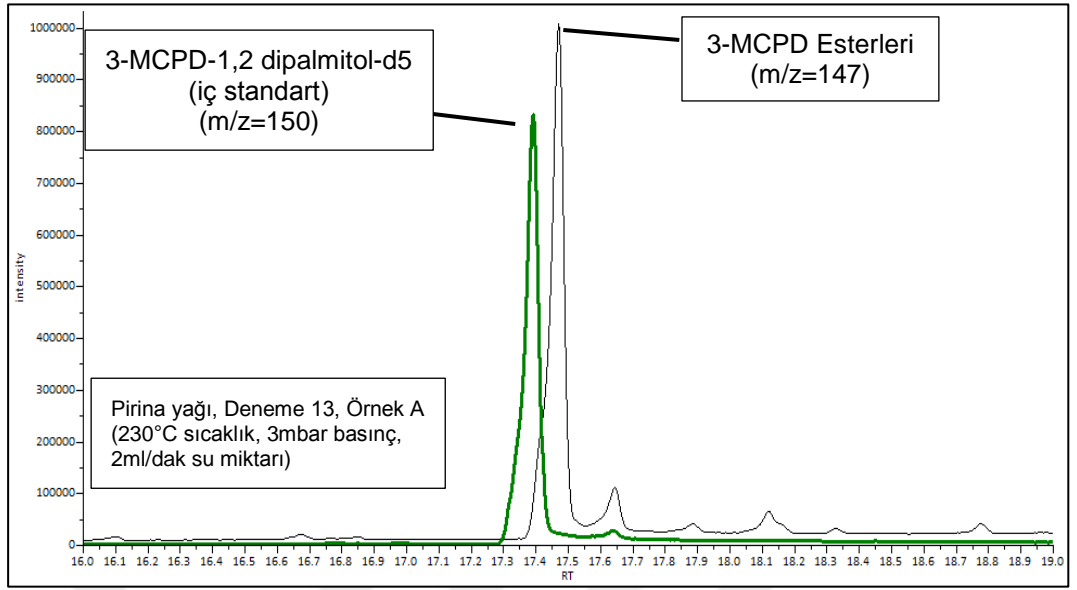


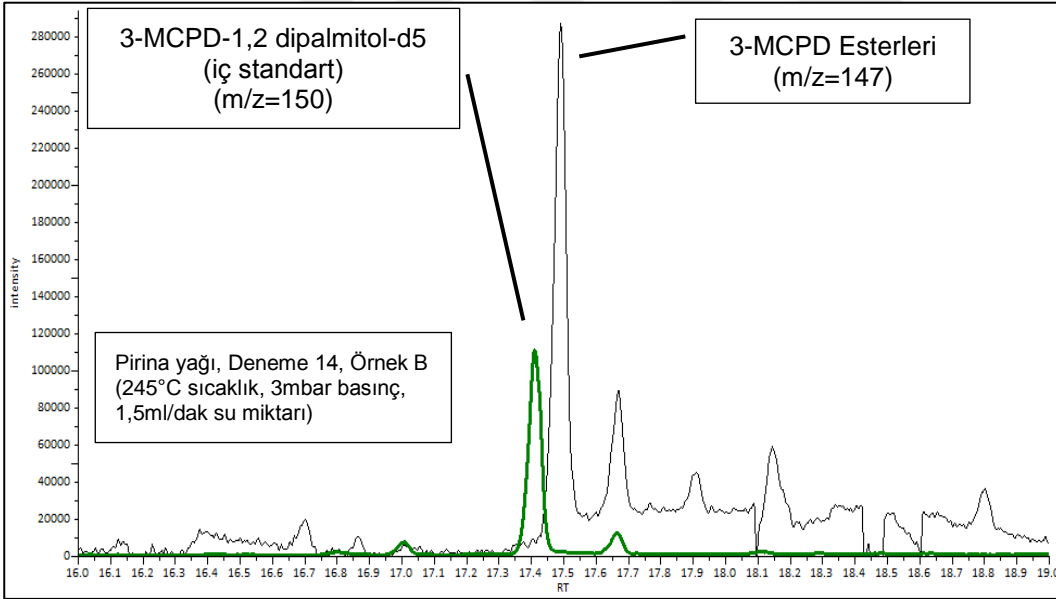
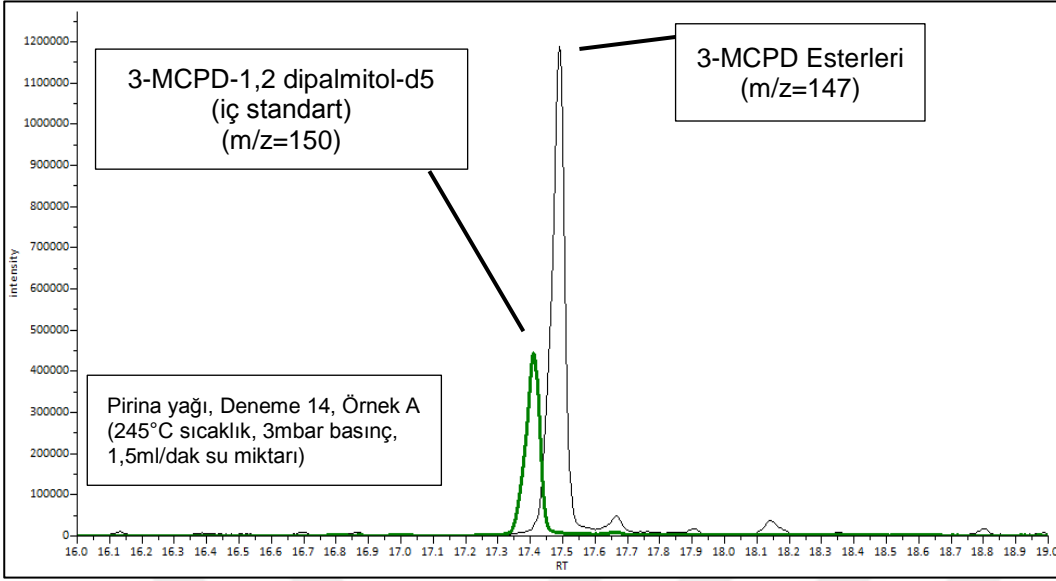


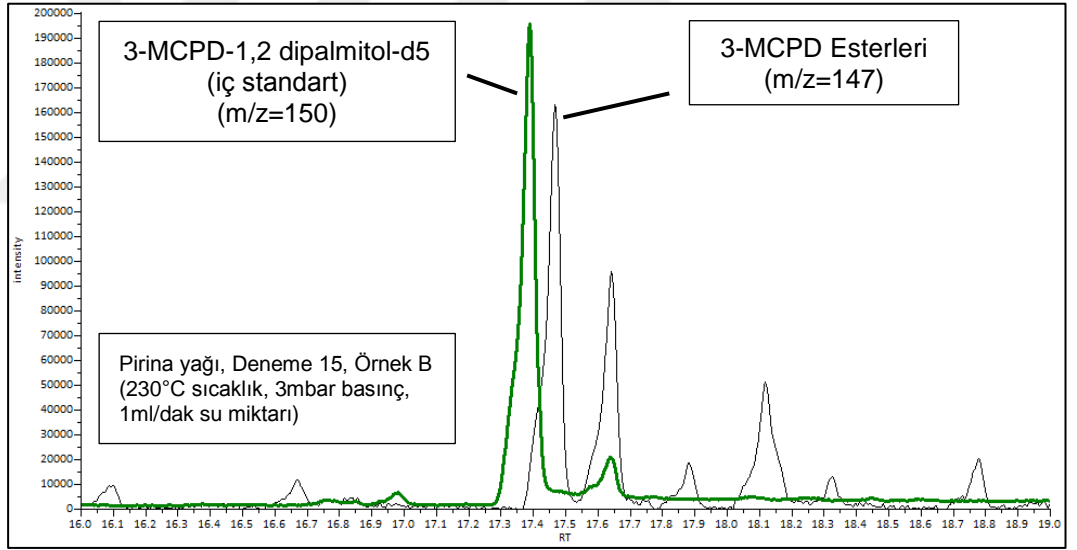
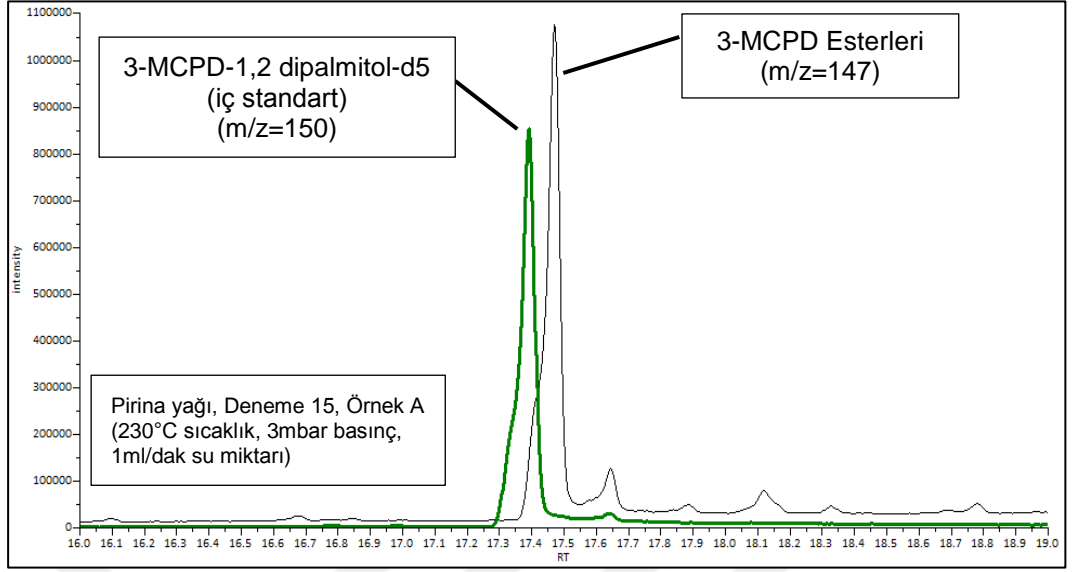


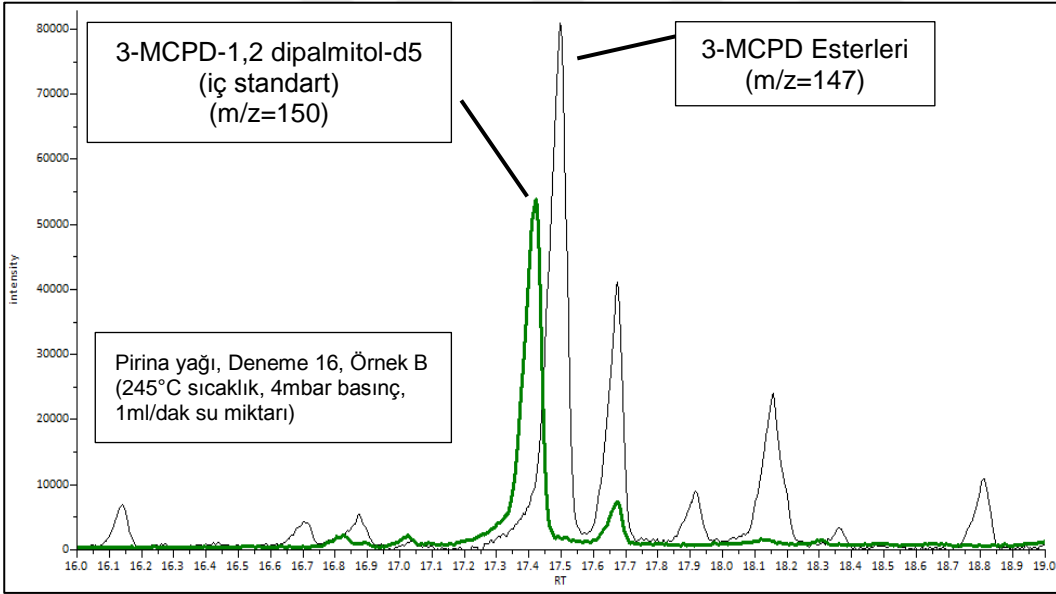
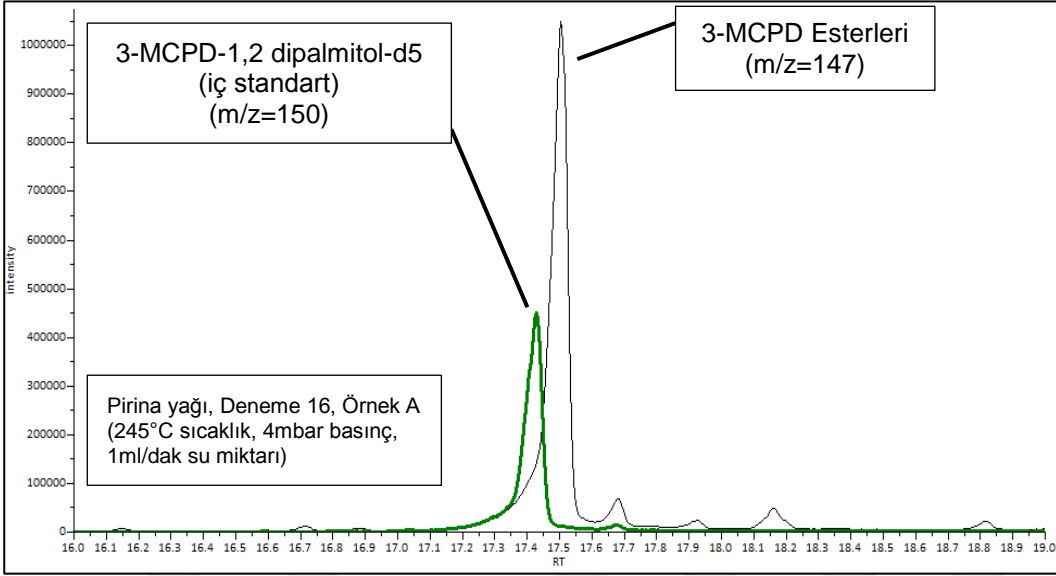


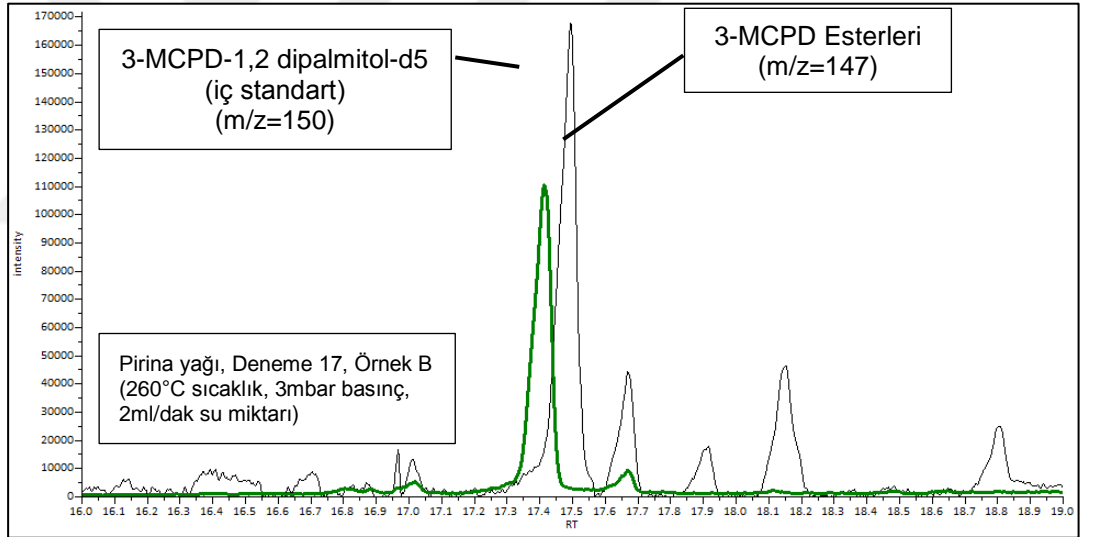
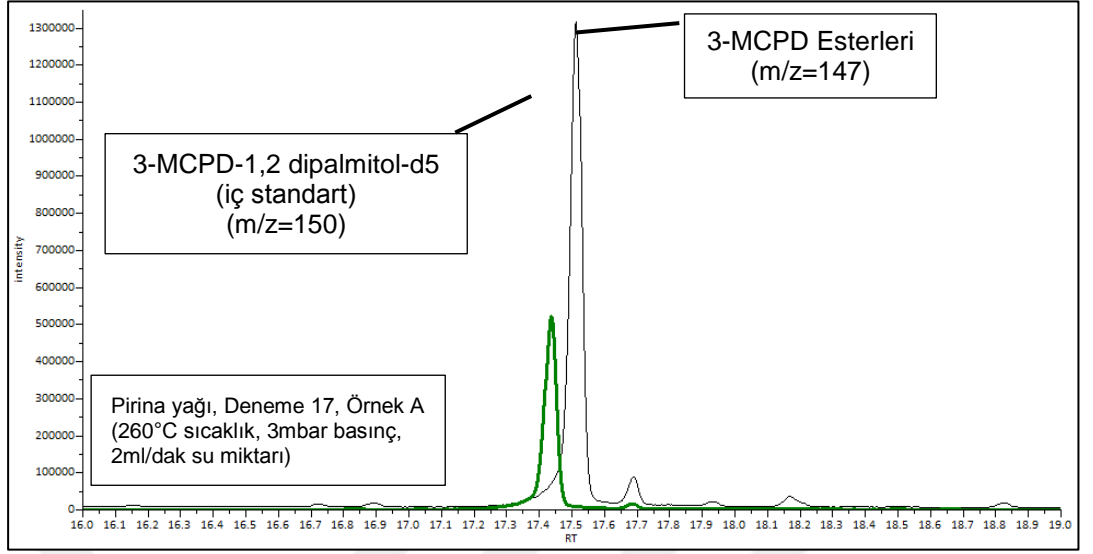












Ek 9. Pirina yağının su buharı distilasyonu sırasında 3-MCPD esterleri oluşumu için oluşturulan polinomial modelin tüm terimlerini içeren varyans analizi sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	SD	Ortalamaların Karesi	F Değeri	P Değeri
Model	26,05109	9	2,894565	2,09762	0.1705**
A-Sıcaklık	17,11125	1	17,11125	12,4001	0.0097*
B-Su Miktarı	0,78125	1	0,78125	0,566152	0.4763**
C-Basınç	0,405	1	0,405	0,293493	0.6048**
AxB	0,1225	1	0,1225	0,088773	0.7744**
AxC	1,96	1	1,96	1,420363	0.2722**
BxC	4	1	4	2,898701	0.1324**
A²	0,616026	1	0,616026	0,446419	0.5255**
B²	1,127605	1	1,127605	0,817148	0.3961**
C²	0,013921	1	0,013921	0,010088	0.9228**
Model Uyumsuzluğu	1,6075	3	0,535833	0,266186	0.8472**
Saf Hata	8,052	4	2,013		
Genel Toplam	35,71059	16			

* $\alpha=0,05$ seviyesinde istatistiksel olarak önemlidir.

** $\alpha=0,05$ seviyesinde istatistiksel olarak önemsizdir.

Ek 10. Pirina yağının su buharı distilasyonu sırasında oluşan 3-MCPD esterleri üzerine işlem parametrelerinin etkilerini gösteren matematiksel modelin varyans analizi sonuçları.

Kaynak	Kareler Toplamı	SD	Ortalamaların Karesi	F Değeri	P Değeri
Model	22,2975	4	5,574375	4,987107	0.0133*
A-Sıcaklık	17,11125	1	17,11125	15,30856	0.0021*
B-Su Miktarı	0,78125	1	0,78125	0,698944	0.4195**
C-Basınç	0,405	1	0,405	0,362333	0.5584**
BxC	4	1	4	3,578594	0.0829**
Model Uyumsuzluğu	13,41309	12	1,117757		
Saf Hata	5,361088	8	0,670136	0,332904	0.9132**
Genel Toplam	8,052	4	2,013		

* $\alpha=0,05$ seviyesinde istatistiksel olarak önemlidir.

** $\alpha=0,05$ seviyesinde istatistiksel olarak önemsizdir.