



**T.C.
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**FARKLI BİTKİSEL YAĞ VE PIŞIRME TEKNİKLERİ
İLE ELDE EDİLEN KÖFTELERİN İN VİTRO
GASTROİNTESTİNAL SİNDİRİM MODELİ
KULLANILARAK MALONDİALDEHİT DÜZEYLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Rumeysa GÜNEŞ

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Nazife YILMAZ

**BESLENME VE DİYETETİK
ANA BİLİM DALI**

**ERZİNCAN
Temmuz 2026
Her Hakkı Saklıdır.**

Rumeysa GÜNEŞ BESLENME VE DİYETETİK ANA BİLİM DALI YÜKSEK LİSANS 2026

**T.C.
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**FARKLI BİTKİSEL YAĞ VE PİŞİRME TEKNİKLERİ
İLE ELDE EDİLEN KÖFTELERİN İN VİTRO
GASTROİNTESTİNAL SİNDİRİM MODELİ
KULLANILARAK MALONDİALDEHİT DÜZEYLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Rumeysa GÜNEŞ

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Nazife YILMAZ

**BESLENME VE DİYETETİK
ANA BİLİM DALI**

**ERZİNCAN
Temmuz 2026
Her Hakkı Saklıdır.**



**ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

TEZ KABUL VE ONAY

**FARKLI BİTKİSEL YAĞ VE PİŞİRME TEKNİKLERİ İLE ELDE
EDİLEN KÖFTELERİN İN VİTRO GASTROİNTESTİNAL
SİNDİRİM MODELİ KULLANILARAK MALONDİALDEHİT
DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ**

Dr. Öğr. Üyesi Nazife YILMAZ danışmanlığında, Rumeysa GÜNEŞ tarafından hazırlanan bu çalışma 01/07/2026 tarihinde jüri tarafından Beslenme ve Diyetetik Ana Bilim Dalı yüksek lisans tezi olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

Başkan : Dr. Öğr. Üyesi Betül ARSLAN SOLMAZ

İmza:

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Nazife YILMAZ

İmza:

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Atiye DEĞİRMENCİ

İmza:

**Doç. Dr. Filiz YANGILAR
Enstitü Müdürü**

Yukarıdaki sonuç Enstitü
Yönetim Kurulu'nun /
.... / 20.... tarih ve
...../..... sayılı kararı ile
onaylanmıştır.

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, şekil ve tabloların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

Bilimsel Etiğe Uygunluk

Yüksek lisans tezi olarak hazırladığım “**Farklı Bitkisel Yağ Ve Pişirme Teknikleri İle Elde Edilen Köftelerin İn Vitro Gastrointestinal Sindirim Modeli Kullanılarak Malondialdehit Düzeylerinin Belirlenmesi**” adlı çalışmanın öneri aşamasından sonuçlandığı aşamaya kadar geçen süreçte bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle uyduğumu, tez içindeki tüm bilgileri bilimsel ahlak ve gelenek çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığımı, bu çalışmamda doğrudan veya dolaylı olarak yaptığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu beyan ederim.

Rumeysa Güneş

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

FARKLI BİTKİSEL YAĞ VE PIŞİRME TEKNİKLERİ İLE ELDE EDİLEN KÖFTELERİN İN VİTRO GASTROİNTESTİNAL SİNDİRİM MODELİ KULLANILARAK MALONDİALDEHİT DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

Rumeysa GÜNEŞ

Erzincan Binalı Yıldırım Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Beslenme ve Diyetetik Ana Bilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Nazife YILMAZ

Amaç: Bu çalışmada, farklı yağ asidi profillerine sahip bitkisel yağlarla hazırlanan köftelerde yağ türü ve pişirme yönteminin malondialdehit (MDA) düzeyleri ile *in vitro* gastrointestinal sindirim sonrası MDA biyoerişilebilirliği üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Köfte örnekleri keten tohumu yağı, ayçiçek yağı ve zeytinyağı kullanılarak hazırlanmış; 200 °C’de hava fritözünde 10 dakika veya konveksiyonel fırında 20 dakika pişirilmiştir. Pişmiş örnekler *in vitro* gastrointestinal sindirim uygulanmış, sindirim öncesi ve sonrası MDA düzeyleri HPLC yöntemiyle belirlenmiştir. MDA biyoerişilebilirliği hesaplanmış ve veriler iki yönlü varyans analizi ile değerlendirilmiştir.

Bulgular: Sindirim sonrası en yüksek MDA düzeyi keten tohumu yağı–fırın grubunda 2.149 mg/100 g, en düşük düzey zeytinyağı–hava fritözü grubunda 0.191 mg/100 g olarak belirlenmiştir. MDA biyoerişilebilirliği keten tohumu yağı grubunda %174.9–183.2, ayçiçek yağı grubunda %142.3–165.6 ve zeytinyağı grubunda %31.8–44.4 arasında bulunmuştur. Yağ türünün tüm MDA parametreleri üzerinde anlamlı etkisi saptanmıştır. Pişirme yönteminin ana etkisi yalnızca sindirim öncesi MDA düzeyinde anlamlı bulunmuş ($p=0.030$), MDA biyoerişilebilirliği açısından yağ türü $\times$ pişirme yöntemi etkileşimi anlamlı bulunmuştur ($p=0.005$).

Sonuç: MDA oluşumu ve biyoerişilebilirliğinin özellikle kullanılan yağın yağ asidi profiline bağlı olduğu belirlenmiştir. Keten tohumu yağı içeren örnekler en yüksek, zeytinyağı içeren örnekler ise en düşük MDA biyoerişilebilirliğini göstermiştir. Bulgular, yağ türü ve pişirme koşullarının birlikte değerlendirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

2026, 101 Sayfa

Anahtar Kelimeler: Ayçiçek Yağı, Biyoerişilebilirlik, İn Vitro Sindirim, Keten Tohumu Yağı, Köfte, Malondialdehit, Zeytinyağı

ABSTRACT

Master's Thesis

DETERMINATION OF MALONDIALDEHYDE LEVELS IN MEATBALLS OBTAINED WITH DIFFERENT VEGETABLE OILS AND COOKING TECHNIQUES USING AN *IN VITRO* GASTROINTESTINAL DIGESTION MODEL

Rumeysa GÜNEŞ

Erzincan Binali Yıldırım University
Graduate School of Health Sciences
Department of Nutrition and Dietetics

Supervisor: Asist. Prof. Dr. Nazife YILMAZ

Aim: This study aimed to evaluate the effects of vegetable oil type and cooking method on malondialdehyde (MDA) levels and MDA bioaccessibility following *in vitro* gastrointestinal digestion in meatballs prepared with different vegetable oils.

Material and Method: Meatballs were prepared using flaxseed, sunflower, or olive oil and cooked at 200 °C for 10 min in an air fryer or 20 min in a convection oven. The cooked samples were subjected to *in vitro* gastrointestinal digestion. MDA concentrations before and after digestion were determined by HPLC, and MDA bioaccessibility was calculated. Data were evaluated using two-way analysis of variance.

Results: The highest post-digestion MDA concentration was observed in the oven-cooked flaxseed oil group (2.149 mg/100 g), whereas the lowest was detected in the air-fried olive oil group (0.191 mg/100 g). MDA bioaccessibility ranged from 174.9% to 183.2% in flaxseed oil, 142.3% to 165.6% in sunflower oil, and 31.8% to 44.4% in olive oil groups. Oil type significantly affected all MDA parameters. Cooking method had a significant main effect only on pre-digestion MDA ($p=0.030$), while the oil type $\times$ cooking method interaction was significant for MDA bioaccessibility ($p=0.005$).

Conclusion: MDA formation and bioaccessibility were strongly associated with the fatty acid profile of the oil used. Flaxseed oil groups showed the highest, whereas olive oil groups showed the lowest MDA bioaccessibility. The findings indicate that oil type and cooking conditions should be considered together when developing meat products with modified fatty acid profiles.

2026, 101 Pages

Keywords: Bioaccessibility, Flaxseed oil, *In vitro* Digestion, Malondialdehyde, Meatballs, Olive oil, Sunflower oil

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince bilgi, deneyim ve desteğini esirgemeyen, her aşamada bana yol gösteren değerli danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Nazife Yılmaz'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu süreçte desteklerini esirgemeyen ve eksiklerimi tamamlamamda yardımcı olan değerli hocam Prof. Dr. Kemal Volkan Özdokur'a, sindirim modeli çalışmamızda destek ve katkılarından ötürü Dr. Öğr. Üyesi Atiye Değirmenci'ye teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans sürecine başlamamda ve devam etmemde her zaman yanımda olan varlığı ve desteği ile bana yol gösterip güç veren sevgili abim Uzm. Abdulaziz Güneş'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Nihai olarak her zaman olduğu gibi bu yolculukta da maddi ve manevi dayanaklarım olup varlıklarını yanımda hissederek güç bulduğum muhterem annem Güلزade Güneş'e, babam Balabey Güneş'e, kıymetli ablama ve çalışmam boyunca desteğini her zaman hissettiğim deneyimlerinden faydalandığım sevgili abim Abdulhamit Güneş'e nihayetsiz emekleri için teşekkürü bir borç bilirim. Bu zahmetli tez yazım sürecinde her daim yanımda olup beni her anlamda destekleyen sevgili Av. Enes Turhal'a teşekkür ederim.

Gayret bizden, başarı Allah'tandır.

RUMEYSA GÜNEŞ

TEMMUZ, 2026

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY.....	i
Bilimsel Etiğe Uygunluk.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
TABLolar LİSTESİ.....	x
SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Lipid Peroksidasyonu.....	3
2.1.1 Lipid Oto-Oksidasyonu	5
2.1.2 Foto-Oksidasyon	8
2.1.3 Enzimatik Lipid Oksidasyonu.....	9
2.2 Lipid Peroksidasyonu Ürünleri	10
2.2.1 Lipid Peroksidasyonu Birincil Ürünleri	10
2.2.2 Lipid Peroksidasyonu Sonucu Oluşan İkincil Ürünler.....	11
2.2.3 4-Hidroksinonenal (4- HNE, HNE)	13
2.2.4 4-Hidroksiheksenal (4-HHE)	14
2.2.5 Malondialdehit (MDA)	14
2.3 Malondialdehitin Yapısı	15
2.3.1 Malondialdehit Biyokimyası.....	16
2.3.2 Malondialdehitin Metabolizması.....	18
2.3.3 Schiff Baz Reaksiyonu	20
2.4 Lipid Peroksidasyonun Sağlık Üzerine Etkileri	22
2.5 İn Vitro Sindirim Modeli ve Biyoerişilebilirlik.....	28
2.6 Isıl İşlemin Et ve Lipid Peroksidasyonuna Etkisi	30
3. MATERYAL ve METOT	33
3.1 Araştırmanın Amacı	33
3.2 Araştırma Zamanı, Yeri ve Örnekler	33
3.3 Analizde Kullanılan Kimyasallar	34

3.4	Numunelerin Hazırlığı	35
3.4.1	Köfte Formülasyonlarının Hazırlanması	35
3.4.2	Köftelerin Pişirilmesi ve Pişirilen Örneklerin Muhafaza Edilmesi	36
3.5	Pişirme Kaybının Belirlenmesi	37
3.6	Yağ Retansiyonunun Belirlenmesi	38
3.7	Proksimat Analizi	38
3.7.1	Nem Tayini	38
3.7.2	Kül Tayini	39
3.7.3	Ham Protein	39
3.7.4	Ham Yağ	39
3.7.5	Doymuş Doymamış Yağ Asitleri	40
3.7.6	Toplam Karbonhidrat	40
3.7.7	Toplam Enerji	40
3.8	Malondialdehit (MDA) Tayini	41
3.8.1	HPLC Analizi İçin Numune Hazırlama	41
3.8.2	Malondialdehit (MDA) Stok Çözeltisinin Hazırlanması	41
3.8.3	2-Tiyobarbitürik Asit Çözeltisinin Hazırlanması	41
3.8.4	Örneklerin Türevlendirilmesi	41
3.8.5	Standart Çözeltilerin Hazırlanması ve Kalibrasyon	42
3.8.6	HPLC Koşulları	42
3.9	İn Vitro Analiz	44
3.10	Biyoreşilebilirliğin hesaplanması	46
3.11	İstatistiksel Analizler	46
4.	BULGULAR	47
4.1	Pişmemiş köftelerin genel bileşimi	47
4.2	Hazırlanan Pişmemiş Köftelerin Yağ Yüzdeleri	48
4.3	Köfte Örneklerinin Pişirme Kaybı, Ham Yağ İçeriği ve Yağ Retansiyonu	51
4.4	Köfte Örneklerinin MDA Düzeyleri ve Biyoreşilebilirliği	52
5.	TARTIŞMA	57
5.1	Yağ Türünün MDA Üzerindeki Etkisi	57
5.2	Pişirme Kaybı ve Yağ Retansiyonunun Değerlendirilmesi	59
5.3	Isıl İşlemin Lipid Peroksidasyonuna Etkisi	62
5.4	Sindirim Kanalında Oksidasyon ve Etin Yapısındaki Bozunma	65
5.5	Malondialdehit Biyoreşilebilirliği ve Yağ Türü × Pişirme Yöntemi Etkileşimi	69

6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	73
KAYNAKLAR.....	74
ÖZGEÇMİŞ	88

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1	Gıdalardaki lipit oto-oksidasyon mekanizması. (A) başlangıç dönemi, (B–C) yayılma dönemi, (D–F) lipit oksidasyonunun sonlanma dönemidir.....	8
Şekil 2.2	Lipid Peroksidasyonu İkincil Ürünlerin Yapısı	13
Şekil 2.3	Malondialdehitin Kimyasal Yapısı	16
Şekil 2.4	MDA Oluşumu ve Metabolizması.....	20
Şekil 2.5	(A) Oleik asidin otooksidasyonu için klasik mekanizma. (B) Linoleik asidin otooksidasyonu için klasik mekanizma. (C) α -Linolenik asidin otooksidasyonu için klasik mekanizma	32
Şekil 3.1	Köftelerin Farklı Yağ Çeşitleriyle Yoğrularak Homojenize Edilmesi: a) zeytinyağlı köfte örneği, b) ayçiçek yağı bulunan köfte örneği, c) keten tohumu yağı bulunan köfte örneği	36
Şekil 3.2	Pişmiş Köfte Örnekleri.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
Şekil 3.3	Kullanılan Hava Fritözü ve Köfte Örnekleri	37
Şekil 3.4	Türevlendirilmesi Yapılmış Standart ve Örnekler	42
Şekil 3.5	Standart ve Örneklerin HPLC İçin Viallere Alınması	43
Şekil 3.6	Standartlar ve Örneklerin HPLC Pik Grafiği	43
Şekil 3.7	Sindirim Sistemi Simülasyonu	44
Şekil 3.8	Sindirim Sonrası Elde Edilen Süpernatant/Biyoerişilebilir Fraksiyonlar.....	45
Şekil 4.1	Yağ Türü $\times$ Pişirme Yöntemi Etkileşim Grafiği	56

TABLÖLAR LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 3.1. Analizde Kullanılan Kimyasallar	34
Tablo 3.2. Köfte formülasyonunda kullanılan bileşenler ve miktarları	35
Tablo 4.1 Pişmemiş Köftelerin Genel Bileşimi	47
Tablo 4.2. Hazırlanan Pişmemiş Köftelerin Yağ Yüzdeleri.....	49
Tablo 4.3. Pişirme yöntemi ve yağ türüne göre köftelerin ağırlık kaybı, ham yağ içeriği ve yağ retansiyonu	51
Tablo 4.4. Köfte Örneklerinin Sindirim Öncesi ve Sonrası MDA Miktarları ve Biyoerişilebilirliği	53
Tablo 4.5. Yağ türü ve pişirme yönteminin MDA düzeyleri ve MDA biyoerişilebilirliği üzerine etkisi.....	53

SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

Simgeler

$\%$	Yüzde
$<$	Küçüktür
$\leq$	Küçük Eşittir
μg	Mikrogram
Mg	Miligram
Dk	Dakika
$^{\circ}C$	Santigrat
$^{\circ}F$	Fahrenheit
g	Gram
Nm	Nanometre
kg	Kilogram
$Kkal$	Kilokalori
mL	Mililitre
$Mmol$	Milimol
n	Örneklem Sayısı
p	Olasılık Değeri
SS	Standart Sapma

Kısaltmalar

ATP	Adenozin trifosfat
ÇDYA	Çoklu doymamış yağ asidi
GC	Gaz kromatografisi
H	Hidrojen
HHE	4- hidroksiheksenal
HNE	4- hidroksi-2-nonenal
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
LH	Lipit substratı
LOOH	Hidroperoksitler
LOO	Peroksi radikali
LO•	Alkoksil radikalleri
LP	Lipid peroksidasyonu
MDA	Malondialdehit
ROS	Reaktif oksijen türleri
SFA	Doymuş yağ asitleri
TBA	Tiobarbitürik asit
TBARS	Tiobarbitürik asit reaktif madde

1. GİRİŞ

Et ve et ürünleri; yüksek biyolojik değere sahip protein, esansiyel amino asitler, vitaminler ve mineraller içermeleri nedeniyle insan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir. Bununla birlikte etin yapısında bulunan lipitler, özellikle işleme, depolama ve pişirme sırasında oksidatif değişimlere karşı duyarlıdır. Lipit oksidasyonu; ürünün renk, aroma, tekstür, raf ömrü ve besinsel kalitesinde bozulmalara neden olurken aynı zamanda malondialdehit (MDA) gibi ikincil oksidasyon ürünlerinin oluşumuna da yol açabilmektedir (Domínguez ve ark., 2019). MDA, özellikle çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif parçalanması sonucunda oluşan ve et ürünlerinde lipit oksidasyonunun değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan göstergelerden biridir (Reitznerová ve ark., 2017).

Son yıllarda et ürünlerinin yağ asidi profilinin iyileştirilmesi ve doymuş yağ kaynaklarının bitkisel yağlarla kısmen değiştirilmesi, fonksiyonel et ürünü geliştirme çalışmalarında önem kazanmıştır (Macho-González ve ark., 2021). Bu amaçla farklı yağ asidi profillerine sahip bitkisel yağların et ürünlerine ilave edilmesi, ürünün yağ kompozisyonunun değiştirilmesine olanak sağlamaktadır. Keten tohumu yağı α -linolenik asit ve omega-3 yağ asitleri, ayçiçek yağı linoleik asit ve omega-6 yağ asitleri, zeytinyağı ise oleik asit ve omega-9 yağ asitleri bakımından öne çıkan yağ kaynaklarıdır (Al-Madhagy ve ark., 2023; Akkaya, 2018; Jimenez-Lopez ve ark., 2020). Ancak yağ asidi profilinin besinsel açıdan iyileştirilmesi, ürünün oksidatif stabilitesinin de aynı ölçüde iyileşeceği anlamına gelmemektedir. Özellikle çoklu doymamış yağ asitleri çift bağ sayılarının fazla olması nedeniyle oksidasyona daha duyarlıdır ve bu durum MDA gibi oksidasyon ürünlerinin oluşumunu artırabilmektedir (Palamutoğlu, 2021; Domínguez ve ark., 2019).

Et ürünlerinde lipit oksidasyonunun düzeyi yalnızca kullanılan yağın türünden değil, uygulanan pişirme koşullarından da etkilenmektedir. Yüksek sıcaklık, oksijenle temas, pişirme süresi ve ısı transferinin özellikleri et matriksindeki lipitlerin oksidasyonunu hızlandırabilmektedir. Bu nedenle aynı yağ kaynağının farklı pişirme yöntemlerinde farklı oksidatif davranış göstermesi mümkündür. Hava fritözü ve konveksiyonel fırın, farklı ısı

ve k t le transfer özelliklerine sahip iki pişirme yöntemi olup, ürünün maruz kaldığı toplam termal yük bakımından farklılık gösterebilmektedir. Bu nedenle farklı yağı türleriyle hazırlanan et ürünlerinde pişirme yönteminin MDA oluşumu üzerindeki etkisinin birlikte değerlendirilmesi önem taşımaktadır.

Bunun yanı sıra, gıdada pişirme sonrasında bulunan MDA miktarı tek başına tüketim sonrasında kar ıla ılabilecek oksidatif durumu tam olarak yansıtmayabilir. Gastrointestinal sindirim sırasında gıda matriksinin parçalanması, lipitlerin emülsifikasyonu, enzimlerin ve safra tuzlarının etkisi ile hem-demir gibi prooksidan bileşiklerin serbestleşmesi, mevcut oksidasyon ürünlerinin açığa çıkmasına veya yeni oksidatif reaksiyonların meydana gelmesine neden olabilmektedir. Bu nedenle *in vitro* gastrointestinal sindirim modelleri, gıda bileşenlerinin sindirim ortamındaki değişimlerini ve sindirim sonrasında erişilebilir hâle gelen fraksiyonlarını değerlendirmek için kullanılmaktadır (Minekus ve ark., 2014).

Bu doğrultuda, farklı yağı asidi profillerine sahip bitkisel yağlarla hazırlanan köftelerde hem pişirme sonrası hem de gastrointestinal sindirim sonrası MDA düzeylerinin değerlendirilmesi, yağı türü ve pişirme koşullarının oksidatif değişimler üzerindeki rolünün daha kapsamlı biçimde ortaya konulmasına katkı sağlayabilir. Bu çalışmada omega-3 yağı asitleri bakımından zengin keten tohumu yağı, omega-6 yağı asitleri bakımından zengin ay ı ek yağı ve omega-9 yağı asitleri bakımından zengin zeytinyağı kullanılarak hazırlanan köfte örnekleri hava fritözü ve konveksiyonel fırında pişirilmiş; sindirim öncesi ve *in vitro* gastrointestinal sindirim sonrası MDA düzeyleri belirlenerek MDA biyoeri ilebilirlik değerleri değerlendirilmiştir. Çalışmanın, farklı yağı kaynaklarının et ürünlerindeki oksidatif davranışlarının ve pişirme–sindirim sürecindeki değişimlerinin birlikte değerlendirilmesi açısından literatüre katkı sağlaması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Lipid Peroksidasyonu

Lipidler, hücresel bütünlüğün korunması ve seçici geçirgenlik özelliklerinin devam edebilmesi için hücre zarlarının en temel birleşenleridir (van Meer ve ark., 2008). Hücre zarının esnekliği, yapısal stabilitesi ve akışkanlığı, hücre zarında bulunan lipid türüne göre değişkenlik göstermektedir (Casares ve ark., 2019). Bununla beraber lipidlerin sadece yapısal görevleri yoktur; aynı zamanda hücre içi sinyal iletiminde, metabolik süreçlerin düzenlenmesinde ve enerji depolanmasında işlev görmektedirler (van Meer ve ark., 2008).

Yağ asitleri, lipidlerin yapısını belirleyen ana bileşenlerdir ve karbon zincir uzunlukları, dallanma dereceleri ve çift bağların sayısı ve konumları bakımından farklılık göstermektedir (Yang ve ark., 2024). Yağ asitleri, doymunluk derecelerine göre doymuş, tekli doymamış ve çoklu doymamış yağ asitleri olarak sınıflandırılmaktadır. Doymuş yağ asitlerinde karbon-karbon çift bağı bulunmaz, tekli doymamış yağ asitlerinde bir tane, çoklu doymamış yağ asitlerinde ise iki veya daha fazla çift bağ bulunur (Ahmed ve ark., 2023).

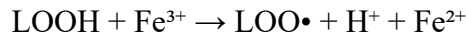
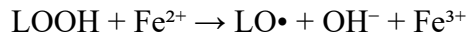
Lipidler genellikle bir gliserol molekülünün üç yağ asiti ile esterleşmesi sonucu oluşan bir yapıya sahiptir (Jadhav, 2022). Doymamış yağ asitleri çift bağ içerdiği için oksidasyona duyarlıdır; bu duyarlılık çoklu doymamış yağ asitlerinde daha yüksektir özellikle omega-3, omega-6 gruplarına ait olan bileşenler oksidasyona karşı daha da duyarlılardır (Endale ve ark., 2023). Bu nedenle bu yağ asitleri, gıda bozulmalarında, dejeneratif hastalıkların gelişiminde ve biyolojik yaşlanma sürecinde önemli etken haline gelmektedir (Yin ve ark., 2011). Çoklu doymamış yağ asitleri, serbest oksijen radikalleri (ROS) ve diğer reaktif oksijen türlerinin saldırılarına karşı son derece duyarlıdır.

Oksijen doymamış lipidlerle reaksiyona girdiğinde lipid peroksidasyonu (LPO) başlamakta ve bu süreç hücre zarının biyofiziksel özelliklerini bozarak hücresel bütünlüğü tehdit etmektedir (Ayala ve ark., 2014).

Oluşan yağ asitlerinin (PUFA'lar) oksidatif yıkımı olan lipit peroksidasyonu, yağ asidi hidroperoksitlerinin ve çok çeşitli aldehit bileşikler de dahil olmak üzere ikincil ürünlerin oluşumuna yol açan, otokatalitik ve kontrolsüz bir süreçtir. Hayvan hücre zarları ve lipoproteinler; linoleik asit (18:2), araşidonik asit (20:4) ve dokosaheksaenoik asit (22:6) içerdikleri için lipit peroksidasyonuna karşı hassastır; bunların hepsi potansiyel hedeflerdir ve çift bağ sayısı arttıkça hassasiyetleri de artar (Cheeseman, 1993).

Lipit peroksidasyonu, hedef yağ asidinden (LH) bir hidrojen atomunun koparılmasıyla başlar ve bir lipit (yağ asidi) radikali (L•) oluşturur. Bu işlem, hidroksil radikali (•OH), çoğu peroksil radikali (ROO•) ve çoğu alkoksil radikali (RO•) hepsi PUFA'ları oksitleyebilirken, süperoksit radikali (O₂•-) oksitleyemez. Bu başlatma reaksiyonunun ürünü, hızla konjuge bir dien yapısı oluşturmak üzere yeniden düzenlenen bir yağ asidi radikali-dur. Yağ asidi radikaline son derece hızlı oksijen eklenmesi, bir lipit (yağ asidi) peroksil radikali (LOO•) oluşturur (Cheeseman, 1993, Ayala ve ark., 2014). Bu, diğer PUFA'larla reaksiyona girerek yeni bir oksidasyon zinciri başlatabilir ve böylece orijinal PUFA üzerinde bir lipit hidroperoksit (LOOH) oluşturarak yeni bir yağ asidi radikali üretebilir. Lipit peroksidasyonunun yayılma aşaması, bir lipit peroksi radikali tarafından yeni bir zincirin başlatılması ve lipit hidroperoksitlerin daha radikal ara ürünlere parçalanmasıdır (Ayala ve ark., 2014).

Lipit hidroperoksitler, demir veya bakır gibi geçiş metallerinin varlığında özellikle kararsızdır ve lipit alkoksil radikalleri ve lipit peroksil radikallerine ayrışır (Cheeseman, 1993):



Lipit hidroperoksit parçalanması iki nedenden dolayı önemlidir: birincisi yukarıda açıklandığı gibi lipit peroksidasyonunu yayan radikaller üretir ve ikincisi aldehitler gibi radikal olmayan parçalanma (kesilme) ürünleri üretir; bunların çoğu biyolojik olarak aktiftir.

Biyolojik sistemler, farklı doymamışlık derecelerine sahip çeşitli PUFA'ların bir karışımını içerir ve lipid peroksidasyonu, çoğu reaktif elektrofil olan ve biyolojik olarak ciddi anlamda zararlı olabilen ürünler oluşturur. Bu ürünlerin bazıları DNA ve proteinler ile tepkimeye girerek mutajenik ve toksik etkilere neden olur (Esterbauer ve ark., 1991). Çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA'lar) lipid peroksidasyonu, zararlı biyolojik etkilere sahip olabilecek çeşitli reaktif elektrofilik ürünler oluşturur (Ayala ve ark., 2014). Bu ürünlerin bazıları DNA ve proteinlerle reaksiyona girerek mutajenik ve toksik etkilere neden olur (Burcham, 1998). PUFA'ların cis çift bağları arasında bulunan metilen grupları oksidanlara karşı oldukça reaktiftir; bu bölgelerden hidrojen soyutlanması, oksijenle reaksiyona girerek peroksil radikalleri oluşturan karbon merkezli radikaller oluşturur (Ayala ve ark., 2014). Peroksil radikallerinin akıbeti, yağ asidi zincirindeki konumlarına bağlıdır ve hidroperoksitlere indirgenebilirler (Porter ve ark., 1995). Konjuge dien hidroperoksitler birincil peroksidasyon ürünleridir ve metal kompleksleri veya metaloproteinler tarafından alkoksil radikalleri oluşturmak üzere parçalanabilirler; bu da epoksitler, hidroperoksitler ve karbonil bileşikleri gibi ikincil ürünlere yol açar (Porter ve ark., 1995; Girotti, 1998).

Bu sürecin sonucu olarak hidroperoksitler, aldehitler ve polimerik materyaller de dahil olmak üzere kompleks ürünler ortaya çıkar ve bunların sitotoksik ile genotoksik etkiler gösterdiği bilinmektedir. İnsan aterosklerotik lezyonlarında lipid peroksidasyonu ürünlerinin ve modifiye proteinlerin varlığına rastlanmıştır; ancak bu bulguların hastalıkta neden mi yoksa sonuç mu olduğu henüz netleşmemiştir. Bununla birlikte lipid peroksidasyonu ürünlerinin hücresel sinyal habercileri olarak görev yapabileceği fikri, son dönemde büyük ilgi uyandırmıştır (Marnett, 1999)

2.1.1 Lipid Oto-Oksidasyonu

Oto-oksidasyon, doymamış lipidlerin serbest radikal zincir mekanizması yoluyla oksijenle reaksiyona girdiği enzimatik olmayan bir oksidasyon sürecidir (Geng ve ark., 2023). Oksijen ve doymamış yağ asitlerinin etkili bir şekilde reaksiyona girebilmesi için, reaktantlardan birinin aktive edilmesi gerekir (Choe ve Min, 2006). Doymamış lipidler ve oksijen arasındaki reaksiyon genellikle üç aşamada gerçekleşir: başlatma, yayılma ve sonlandırma (Choe ve Min, 2006; Domínguez ve ark., 2019).

Lipit oto-oksidasyonu, çoklu doymamış yağ asitleri içeren gıdalarda, serbest radikal mekanizması yoluyla yağ asidi çift bağlarına oksijenin eklendiği oksidatif bir bozunma reaksiyonudur (Geng ve ark., 2023). Bu reaksiyon, raf ömrünü, gıda kalitesini, besin değerini ve duyuşal özelliklerini olumsuz etkiler (Amaral ve ark., 2018). Oto-oksidasyon, serbest radikallerin oluştuğu başlatma; reaktif bileşiklerin arttığı yayılma ve radikallerin birbirleriyle reaksiyona girerek radikal olmayan ürünler oluşturduğu sonlanma olmak üzere üç aşamalı bir zincirleme reaksiyon sürecidir (Choe ve Min, 2006; Domínguez ve ark., 2019).

Başlatma evresi: Doymamış bir yağ asidi ile bir oksijen molekülü arasında kendiliğinden bir reaksiyon gerçekleşmemektedir. Oksijen üçlü elektron halinde ve yağ asitlerinin çift bağları tekli elektron halindedir bu farklı spin durumları nedeniyle doğrudan reaksiyona girememektedirler (Chen ve ark., 2011). Ayrıca üçlü oksijen de kendi kendine tekli duruma dönüşemez. Bu nedenle, reaksiyondan önce oksijenin aktive edilmesi gerekir ve bu da tekli oksijen ($^1\text{O}_2$) veya hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit anyonu ($\text{O}_2^{\bullet-}$) ve hidroksil radikali ($\text{OH}^{\bullet}$) gibi reaktif oksijen türlerinin oluşmasına neden olmaktadır (Erickson, 1998). Oksijenin aktivasyonunun ısı, ışık ve geçiş metalleri gibi katalitik bileşiklerin varlığıyla sağlandığı bilinmektedir. Bu alkil radikalleri, lipid oksidasyonunu başlatan ilk serbest radikallerdir. Bu nedenle, başlatma evresi yağ asitlerinin aktif oksijen türleriyle reaksiyonu olarak gösterilmektedir (Min ve Ahn, 2005).

Yayılma evresi: Başlangıç aşamasında üretilen alkil radikali, moleküler oksijenle reaksiyona girerek peroksi radikalleri oluşturmaktadır. Peroksi radikali oldukça reaktiftir ve bitişik bir lipitten hidrojeni koparır. Bu işlem bir hidroperoksit ve alkil radikali ile sonuçlanır. Yeni alkil radikali, yeni peroksi radikalleri oluşturmak için tekrar moleküler oksijenle reaksiyona girerek işlem tekrarlanmaktadır (Min ve Anh, 2005).

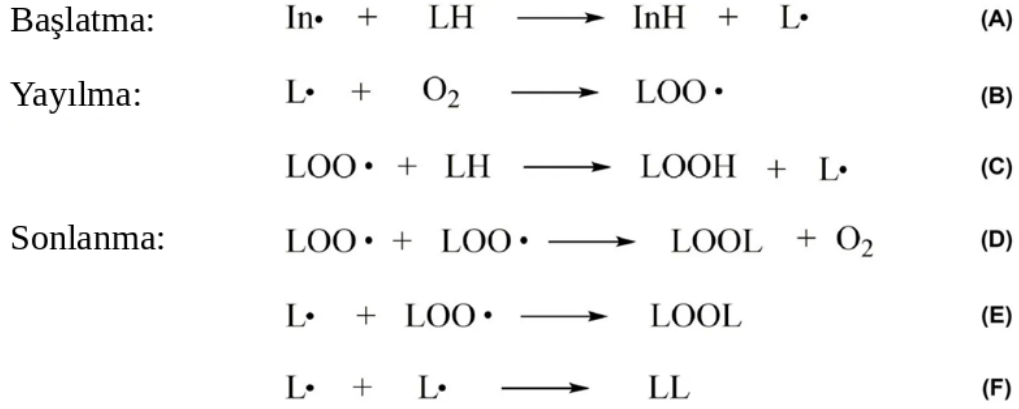
Yayılma aşamasına ek olarak bir de büyüme aşaması vardır. Bu, ikincil başlatma olarak bilinmektedir; burada yayılma sırasında oluşan hidroperoksitler, yeni hidroksil, peroksi ve alkoksi radikalleri oluşturmak üzere parçalanır. Bu radikaller oldukça reaktiftir ve doymamış bir yağ asidinden bir hidrojen atomunu koparabilirler. Bu nedenle, oksidasyon süreçlerinin başlatıcıları olarak hareket edebilmektedirler (Domínguez, 2019).

Hidroperoksitlerin radikallere ayrışmasının iki ana yolu vardır. Birinci yol, metal iyonları tarafından katalizlenen redoks reaksiyonlarıdır. Bu şekilde, metal iyonu hidroperoksit bir elektron aktarır ve bu da onun parçalanmasına neden olur. Bu nedenle, ette bulunan demir (hem hem hem de hem olmayan), hidroperoksitlerin ayrışması için önemli bir katalizördür ve ferrik iyonla göre ferröz iyonla reaksiyonda daha hızlıdır (Erickson, 1998). İkinci yol, iki hidroperoksit arasındaki etkileşimi içerir. Bu etkileşim oksijen ve oksijen bağı arasında homolitik bölünme ile kırılır ve alkoksi ve hidroksil radikalleri üretir (Choe ve Min, 2006)

Sonlanma evresi, iki radikalın birleşerek daha kararlı, radikal olmayan ürünler oluşturmasıyla zincir reaksiyonunun durmasıdır. Ancak bu süreçte ortaya çıkan hidroperoksitler kararsızdır ve parçalanarak malondialdehit (MDA), 4-hidroksinonenal (4-HNE) gibi toksik ve reaktif ikincil ürünler oluşturur (Esterbauer ve ark., 1991).

Oto-oksidasyonun hızı ve kapsamı, yağ asidi zincirinde bulunan çift bağ sayısı ile doğrudan ilişkilidir. PUFA'lar, tekli doymamış (MUFA) ve doymuş yağ asitlerine (SFA) kıyasla oksidasyona çok daha yatkındır (Villeneuve ve ark., 2023). Ayrıca, geçiş metalleri (özellikle demir ve bakır) hidroperoksitlerin parçalanmasını katalize ederek reaksiyon hızını artırır (Carlsen ve ark., 2005). Bu nedenle et ürünleri gibi hem yüksek PUFA hem de heme demir içeren gıdalar, oto-oksidasyona karşı oldukça hassastır (Huang ve ark., 2019). Etin bileşimi; yağ asidi bileşimi, lipit oksidasyonunun gelişmesi için ana substrat oldukları için en önemli parametrelerden biridir. Bununla birlikte, hem proteinleri, metaller, prooksidan enzimler veya vitaminler, antioksidan enzimler veya peptitler gibi antioksidan bileşikler gibi diğer prooksidan bileşiklerin içeriği, oksidatif süreçlerin gelişmesinde belirleyicidir. Dolaylı olarak, kas tipi, tür veya ırk, yetiştirme sistemi, anatomik konum veya hayvanların aldığı diyet gibi faktörler, etin bileşimini önemli ölçüde değiştirdikleri için oksidasyonu etkiler (Domínguez ve ark., 2019).

Bu reaksiyon zinciri sadece duyusal kaliteyi düşürmez aynı zamanda koku ve renk değişimlerine besin ögesi kayıplarına ve sağlık risklerine yol açabilen reaktif karbonil bileşiklerin oluşmasına da sebep olur (Geng, 2023).



Şekil 2.1 Gıdalardaki lipit oto-oksidasyon mekanizması. (A) başlangıç, (B–C) yayılma, (D–F) lipit oksidasyonunun sonlanması (Geng, 2023).

2.1.2 Foto-Oksidasyon

Foto-oksidasyon, ışık enerjisinin gıda bileşenlerinde bulunan fotosensitizer moleküller tarafından soğurulması ve bu enerjinin oksijene aktarılmasıyla başlatılan bir oksidatif bozulma sürecidir (Choe ve Min, 2006). Işık varlığında, fotosensitizerler üçlü oksijeni oldukça reaktif, radikal olmayan bir molekül olan tekli oksijene dönüştürür. Üçlü oksijenle karşılaştırıldığında, tekli oksijenin gıda bileşenleriyle reaksiyona girmesi daha düşük aktivasyon enerjisi gerektirir; bu sebeple, ısının tekli oksijen oksidasyonu üzerindeki etkisi, üçlü oksijen oksidasyonuna göre daha azdır (Min ve Boff, 2002). Yağlar, oksijen ve fotosensitize edici bileşiklerin varlığında güneş ışığına veya yapay ışığa maruz kaldığında, foto-oksidasyon meydana gelebilir (Lee, 2003; Choe ve Min, 2006). Doymamış yağ asitleri 220 nm'nin üzerindeki dalga boylarında ışığı etkili bir şekilde ememediğinden, klorofil, porfirinler, riboflavin ve gül bengali gibi fotosensitize edici moleküller foto-oksidasyon sırasında ışık enerjisini emer ve uyarılmış bir duruma geçer (Min ve Boff, 2002; Choe ve Min, 2006). Uyarılmış fotosensitize edici iki mekanizma yoluyla reaksiyona girebilir: Birinci mekanizmada, radikal ara ürünler oluşturmak için doğrudan lipid substratıyla reaksiyona girer; ikinci mekanizmada, enerjiyi üçlü oksijene aktararak tekli oksijen oluşturur ve bu da doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girerek hidroperoksitler üretir (Choe ve Min, 2006; Min ve Boff, 2002).

Fotooksidasyon, güneş ışığına veya ultraviyole (UV) radyasyonuna maruz kalan gıdalarda ve biyolojik sistemlerde oksidatif değişikliklere sebep olmaktadır (Min ve Boff,

2002). Biyolojik membranlarda, tekli oksijen membran lipidlerini ve lipozom yapılarını oksitleyerek membran bütünlüğünde ve geçirgenliğinde değişikliklere yol açabilir (Bacellar ve ark., 2019). UV kaynaklı oksidatif stres ayrıca fototoksisite, fotoalerji, fotoyaşlanma ve fotokarsinogenez dahil olmak üzere cilt bozuklukları ve uzun süreli cilt hasarıyla da ilişkilidir (Gromkowska-Kępka ve ark., 2021). Fotooksidasyonun güçlü etkisi, tekli oksijenin yüksek reaktivitesi ve sulu ortamlara kıyasla hidrofobik membran ortamlarında daha uzun ömrü ile ilgilidir (Min ve Boff, 2002). Dahası, fotooksidasyon otoooksidasyondan çok daha hızlı gerçekleşebilir; Oleik asit için yaklaşık 30.000 kat, polienler için ise 1000-1500 kat daha hızlı olduğu bildirilmiştir (Shahidi ve Zhong, 2010).

2.1.3 Enzimatik Lipid Oksidasyonu

Enzimatik lipid oksidasyonu, biyolojik membranlarda ve gıda sistemlerinde çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) kontrollü ve yüksek özgüllikle oksidatif modifikasyonunu sağlayan, metaloenzimler tarafından katalize edilen bir biyokimyasal süreçtir (Hajeyah ve ark., 2020). Bu süreçte başlıca görev alan iki enzim ailesi, lipoksijenazlar (LOX) ve siklooksijenazlar (COX) olup, her ikisi de oksijen molekülünü doğrudan substratın çift bağ sistemine ekleyerek biyolojik aktif lipid mediyatörlerin sentezini başlatır (Rouzer ve Marnett, 2020).

Lipoksijenazlar (LOX), birçok bitki ve hayvanda bulunan, çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) oksijenlenmesini katalize ederek yağ asidi hidroperoksitlerinin oluşumunu sağlayan bir enzimdir. Çeşitli biyolojik organ ve dokularda bulunan lipoksijenazlar, özellikle tahıl ve baklagil tohumlarında (fasulye ve bezelye) ile patates yumrularında bol miktarda bulunmaktadır (Baysal ve Demirdöven, 2007). Enzim konsantrasyonu lipid oksidasyonunun gelişme hızını belirler; bu nedenle yüksek konsantrasyon oksidatif süreçleri destekler. Bu enzimin aktivite göstermesi için demirin demir (II) formunda olması gereken bir aktif bölgesi vardır (Ghnimi ve ark., 2017). Enzimin aktif bölgesi, çoklu doymamış yağ asidinin metilen grubundan bir hidrojen atomunu kopararak, moleküler oksijenle reaksiyona giren konjuge bir dien sistemi oluşturur. LOX ürünleri, lipoksinler, resolvinler ve leukotrienler gibi eikosanoidlerin biyosentezinde kilit ara maddeler olup inflamasyonun başlatılması, çözülmesi ve immün yanıtın modülasyonunda önemli rol oynar (Wasowicz ve ark., 2004).

Siklooksijenazlar (COX), araşıdonik asidin prostaglandinlere dönüşümünü katalizleyen temel enzimlerdir ve ilk olarak 20 yıldan daha uzun bir süre önce tanımlanmıştır. Siklooksijenazlar, aspirin ve indometasin gibi steroid olmayan antiinflatuvar ilaçlar tarafından inhibe edilir. Siklooksijenazların (COX) iki temel izoformu bulunmaktadır: COX-1 ve COX-2. COX-1, fizyolojik işlevlerin sürdürülmesinde rol oynayan yapısal bir enzimken, COX-2'nin ekspresyonu sitokinler, hormonlar ve mitojenler de dâhil olmak üzere çeşitli uyarıcılar tarafından indüklenmektedir (Dubois ve ark., 1998; Tanabe ve Tohnai, 2002).

Enzimatik oksidasyonun en belirgin özelliği, stereospesifik ürün oluşumu ile biyolojik işlev odaklı ürün oluşturmastır. Bu, enzimatik olmayan oksidasyonun rastgele ürün dağılımından farklıdır. Lipoksijenaz ve siklooksijenaz yolları hem fizyolojik homeostazın korunmasında hem de patofizyolojik durumların gelişiminde rol oynar. (Rouzer ve Mar-nett, 2009).

2.2 Lipid Peroksidasyonu Ürünleri

2.2.1 Lipid Peroksidasyonu Birincil Ürünleri

Hidroperoksitler, lipid peroksidasyon sürecinin ana birincil ürünü olan yayılma fazı sırasında üretilir. Hidroperoksit grubu, örneğın serbest yağ asitleri, fosfolipidler ve steroller gibi çeşitli lipid yapılarına bağlanabilir (Girotti, 1998). Oldukça reaktif ve kimyasal olarak kararsız olan serbest radikallerin aksine, düşük sıcaklık ve metal iyonlarının yokluğu gibi orta dereceli reaksiyon koşullarında, lipid hidroperoksitler nispeten daha kararlı ürünlerdir (Argüelles ve ark., 2004). Serumdaki lipid hidroperoksit düzeyleri, dokularda meydana gelen oksidatif stresin değeriendirilmesinde önemli biyobelirteçler olarak kabul edilmektedir. Çalışmalar, serum lipid hidroperoksit konsantrasyonlarının dokulardaki oksidatif stres düzeyini ve lipid peroksidasyonunu yansıtabileceğini, ayrıca oksidatif stres düzeylerinin gün içerisinde artış gösterebildiğini ortaya koymaktadır. Oluştuktan sonra lipid hidroperoksitler, antioksidan savunma sistemleri tarafından indirgenerek peroksidatif hasarın sınırlandırılmasına katkı sağlayabileceğı gibi, farklı reaksiyonlara katılarak yeni serbest radikallerin oluşumunu tetikleyebilir ve lipid peroksidasyonunun ilerlemesine neden

olabilir. Bu nedenle lipid hidroperoksitler, oksidatif hasarın hem belirtici hem de ilerlemesinde rol oynayan reaktif ara ürünler olarak değerlendirilmektedir. (Argüelles ve Ayala, 2007).

Bununla birlikte birincil ürünlerin önemli bir sınırlılığı kararsız olmalarıdır. Lipid hidroperoksitler sıcaklık, metal iyonları, ışık, pH ve örnek işleme koşullarından etkilenecek hızla ikincil ürünlere parçalanabilir. Bu nedenle bir biyolojik örnekte düşük LOOH düzeyi her zaman düşük lipid peroksidasyonu anlamına gelmez; bazen hidroperoksitlerin çoktan aldehitlere, ketonlara veya uçucu yıkım ürünlerine dönüştüğünü gösterebilir (Geng ve ark., 2023). Bu nokta, lipid peroksidasyonu araştırmalarında tek bir ürün grubuna dayanmanın yanıltıcı olabileceğini ve birincil ürünlerin ikincil ürünlerle birlikte değerlendirilmesi gerektiğini düşündürür (Poljšak ve ark., 2025).

2.2.2 Lipid Peroksidasyonu Sonucu Oluşan İkincil Ürünler

Lipid peroksidasyonu sonucu birincil ürün olarak hidroperoksitlerin ve epoksitlerin, oluşmasının ardından devam eden reaksiyonlar daha ileri oksidasyonları ve neticesinde ikincil ürünleri oluşturur. Bu ürünlerin çoğu elektrofilitir yani proteinlerle başka reaksiyonlara girebilir ve hücre sinyalleme işlevlerini yerine getirebilirler dolayısıyla, toksiktirler (Zhang ve ark., 2023). Birincil ürünlere göre uzun ömürlü olduklarından hücre içinde oksidatif hasara uğrayan bölgenin dışına çıkabilirler ve “uzaktan hasar” etkisi oluşturabilirler. Bu nedenle lipid aldehitleri sadece yıkım ürünleri olmakla kalmaz; DNA, fosfolipit, protein ve metabolik enzimlerle etkileşen biyolojik efektörler olarak da değerlendirilir (Wang ve Lin ve Sun, 2023).

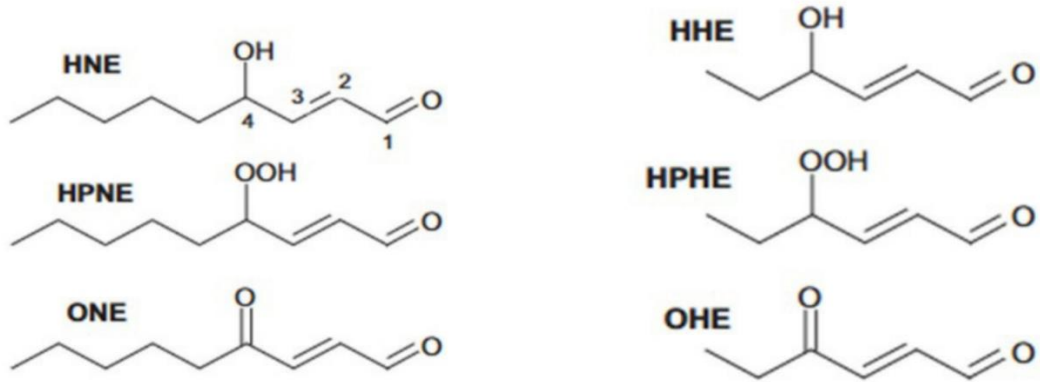
İkincil ürünlerin biyolojik önemi, nükleofilik hücresel hedeflere bağlanma eğilimlerinden ve elektrofilik karakterlerinden kaynaklanmaktadır. Özellikle α,β -doymamış aldehitler, Schiff bazı oluşumu veya Michael katılması yoluyla lizin, sistein ve histidin kalıntılarını modifiye edebilirler. Bu modifikasyonlar proteinin katlanmasını değiştirebilir, enzimin aktif bölgesini bozabilir, sinyal yollarını yeniden ayarlayabilir, proteazomal yıkımı etkileyebilir (Esterbauer ve ark., 1991). Bu sebeple lipid peroksidasyonu ikincil ürünleri, düşük düzeylerde adaptif redoks sinyali üretebilirken yüksek düzeylerde genotoksik, sitotoksik, inflamatuvar ve toksik sonuçlara neden olmaktadır (Milkovic ve ark., 2023).

İkincil ürünler biyobelirteç olarak da yaygın biçimde kullanılır; çünkü doku ve biyolojik sıvılarda birincil hidroperoksitlere göre daha kolay ölçülebilir ve oksidatif yükün daha net bir çıktısını verir. Bu nedenle MDA, 4-HNE ve F2-izoprostanlar lipid peroksidasyonunun en sık çalışılan biyobelirteçleri arasında yer alır (Schopfer ve Cipollina ve Freeman, 2011). Bununla beraber ikincil ürünlerin artmasının sebebi tek bir biyokimyasal sürecin yanıtı değildir; beslenme, gıda içeriği, saklama koşulları, enzimatik lipid metabolizması, inflamasyon ve analitik yöntem seçimi ölçülen düzeyleri etkileyebilir (Tsikas, 2017). Bu sebeple güncel yaklaşım, MDA, 4-HNE gibi tek bir belirteci baz alarak yorumlamak yerine protein/DNA, antioksidan enzimler ve izoprostanlar gibi oksidasyon belirteçleriyle beraber değerlendirmeyi yapılmasıdır (Poljšak ve ark., 2025).

Lipid Peroksidasyonu sırasında çok çeşitli aldehitler oluşur:

- Doymuş aldehitler
- α,β -doymamış aldehitler (alkenaller): akrolein, heptenal vb.
- 4-hidroksi- α,β -doymamış aldehitler
- 4-hidroperoksi- α,β -doymamış aldehitler
- 4-okso- α,β -doymamış aldehitler
- Epoksi- α,β -doymamış aldehitler
- Konjuge dienler (2,4-dienaller)

Bu bileşikler, sahip oldukları aldehit, alken ve hidroksil grupları sayesinde yüksek reaktiviteye sahiptir (Halliwell ve Whiteman, 2004).



Şekil 2.2 Lipid Peroksidasyonu İkincil Ürünlerin Yapısı (Halliwell ve Whiteman, 2004).

2.2.3 4-Hidroksinonenal (4- HNE, HNE)

Lipit peroksidasyonu birden fazla aldehit türü üretir. Bunlardan, n -6 çoklu doymamış yağ asitlerinden türetilen -4-hidroksi-2-nonenal (HNE), lipit peroksidasyonunun en çok incelenen ürünlerinden biridir. Öte yandan, n -3 PUFA'lara, örneğin dokosaheksaenoik asit (DHA; 22:6, n -3) ve eikosapentaenoik aside verilen oksidatif hasar, oksidatif stresin önemli bir etkeni olarak kabul edilmekte ve özellikle beyin ve retina gibi n -3 açısından zengin dokularda büyük önem taşımaktadır. (Long, 2010) Yapısında çift bağ sistemi, hidroksil grubu ve aldehit grubu bulunduğu için sitozolik bölgelerde ve hidrofobik membran ortamlarında etkili olabilen reaktif bir profile sahiptir (Jiang ve ark., 2026).

Reaktif aldehitlerden olan 4-HNE, lipid peroksidasyonunun sitotoksik ürünleri ve sinyal molekülleri olarak hareket ederek, özellikle makromoleküllerin kovalent modifikasyonu sağlayarak biyolojik olarak uzun süreli sonuçlara neden olur (Zarkovic, 2003). HNE Nrf2, AP-1, NF- κ B ve PPAR gibi strese duyarlı transkripsiyon faktörlerinin düzenlenmesinde rol oynayan bir sinyal molekülü olarak işlev görmesinin yanında lipid peroksidasyonunun başlıca biyoaktif belirteci kabul edilmektedir. Otofaji, hücre proliferasyonu, senesans, farklılaşma, sağ kalım, nekroz ve apoptoz gibi birçok hücresel süreçte etkilidir (Niki, 2014).

2.2.4 4-Hidroksiheksenal (4-HHE)

4-Hidroksi-2-heksenal, omega-3 çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı sonucunda oluşan, çoğunlukla eikosapentaenoik asit (EPA) ve dokosahekzaenoik asit (DHA) gibi omega-3 yağ asitleri bakımından zengin gıdalarda öne çıkan 6 karbonlu α,β -doymamış bir aldehittir (Long ve ark., 2010).

HHE, HNE'ye benzer biçimde elektrofilik özellik taşır ve proteinlerdeki nükleofilik amino asit kalıntılarıyla kovalent addüktler oluşturabilir. HHE'nin karbon zinciri daha kısa olduğu için hidrofobikliği, hedef protein seçiciliği ve hücre içi dağılımı ile HNE'den ayrılır. HHE'nin glutatyonla konjugasyon, aldehit dehidrogenazlar ve alkol dehidrogenazlar ve glutatyonla konjugasyon üzerinden metabolize edilmesi, hücrenin lipid aldehit yükünü yönetme kapasitesi bakımından önemli yer tutmaktadır (Awada ve ark., 2012).

HHE'nin biyolojik etkileri, inflamasyon ve protein modifikasyonu bakımından önemlidir. Çoğu patolojik durumda HHE-addükt düzeylerinin artması, omega-3 yağ asitlerinin her şartta sadece koruyucu olmadığını aynı zamanda oksidatif ortamda reaktif aldehit prekürsörlerine dönüşebileceğini de gösterir (Long ve ark., 2010). Kronik böbrek hastalığı ve hemodiyaliz bağlamında yapılan çalışmalar, HHE ve HNE gibi lipid aldehitlerinin oksidatif stresle ilişkili olarak birikebildiğini ve dolaşımdaki biyomolekülleri modifiye edebildiğini göstermiştir. Bu nedenle HHE, özellikle deniz kaynaklı omega-3 alımı, nörolojik dokular ve oksidatif stres koşullarında dikkatle değerlendirilmesi gereken bir ikincil lipid peroksidasyon ürünüdür (Soulage ve ark., 2020).

2.2.5 Malondialdehit (MDA)

Malondialdehit (MDA), çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) oksidatif bozunumu sonucunda ortaya çıkan en yaygın ve biyolojik olarak en önemli ikincil lipid peroksidasyon ürünlerinden biridir (Ayala ve ark., 2014). İki aldehit fonksiyonel grubu taşıması nedeniyle oldukça reaktif olan bu bileşik, biyomoleküllerle kolaylıkla kovalent bağlar kurabilmekte ve böylelikle hücresel fonksiyonların bozulmasına yol açmaktadır (Marnett, 1999). Malondialdehitin hücre biyolojisindeki önemi yalnızca oksidatif stresin bir yan ürünü olmasıyla sınırlı değildir; aynı zamanda DNA, protein ve lipidlerle reaksiyonları

sonucu mutajenik ve sitotoksik ürünlerin oluşumuna da aracılık etmektedir (Esterbauer, Schaur ve Zollner, 1991).

Biyomedikal araştırmalarda MDA, sıklıkla “oksidatif stres biyobelirteci” olarak kullanılmaktadır. Bunun nedeni, kolay ölçülebilmesi ve lipid peroksidasyon zincirinde bol miktarda üretilmesidir (Draper ve Hadley, 1990). Ancak son yıllarda, MDA’nın tek başına oksidatif hasarın güvenilir bir göstergesi olup olamayacağı tartışmalı hale gelmiştir. Zira ölçüm tekniklerindeki sınırlılıklar ve biyolojik varyasyonlar, elde edilen sonuçların yorumlanmasını zorlaştırmaktadır (Tsikas, 2017). Buna rağmen MDA, halen hem temel araştırmalarda hem de klinik çalışmalarda en çok kullanılan parametrelerden biridir (Khubnasabjafari ve ark., 2015).

2.3 Malondialdehitin Yapısı

Malondialdehit (MDA), kimyasal olarak propanedialdehit veya malondialdehit olarak da bilinen, üç karbon atomu ve iki aldehit grubu içeren düşük molekül ağırlıklı, reaktif bir organik bileşiktir. Malondialdehit (MDA; $C_3H_4O_3$), yaklaşık 72,06 g/mol moleküler ağırlığa sahip, propanedial olarak da bilinen üç karbonlu bir dialdehittir (HMDB, 2026). Sulu çözeltilerde MDA, pH'a bağlı keto-enol tautomerizmi sergiler; fizyolojik pH'da, bu pH bildirilen pKa değerinin üzerinde olduğundan, MDA büyük ölçüde nötr keto formunda değil, enolik/enolat formlarında bulunur (Morales ve Munné-Bosch, 2019). Yaklaşık 72 °C erime noktasına, yaklaşık 108,3 °C kaynama noktasına ve yüksek su çözünürlüğüne sahip katı bir bileşik olarak bildirilmiştir (HMDB, 2026). Yüksek elektrofilik reaktiviteye sahiptir bu nedenle saf serbest formu uzun süre stabil kalmaz; oto-polimerizasyon, sulu ortamda hidrate olma ve nükleofillerle Schiff bazı/çapraz bağ oluşturmaya yatkındır (Marnett, 1999).

Malondialdehit yapısındaki aldehit grupları, proteinlerdeki amino grupları ve nükleik asitlerdeki baz yapıları gibi biyomoleküler hedeflerle reaksiyona girmeyi sağlar (Del Rio, Stewart ve Pellegrini, 2005). Bu reaktivite, protein-MDA eklentilerinin, DNA-baz eklentilerinin ve belirli koşullar altında çapraz bağlama ürünlerinin oluşmasına yol açabilir. DNA ile etkileşim, MDA'nın genotoksik ve mutajenik potansiyelini açıklayan ana mekanizmalardan biri olarak kabul edilir (Niedernhofer ve ark., 2003). Bu bağlamda, MDA

sadece oksidatif stres çalışmalarında ölçülebilir bir biyobelirteç olarak değil, aynı zamanda hücre hasarı, inflamasyon, yaşlanma ve kronik hastalıklar üzerinde biyolojik etkileri olan reaktif bir aldehit olarak da değerlendirilmelidir (Del Rio ve ark., 2005).

Malondialdehiti belirlemek için en yaygın yöntemlerden biri, tiyobarbitürik asit testi olarak da bilinen TBARS yöntemidir. Bu yöntemde, MDA, tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girerek spektrofotometrik veya florometrik olarak ölçülebilen renkli veya floresan bir MDA-TBA kompleksi oluşturur (De Leon ve Borges, 2020). TBARS yöntemi, pratikliği, maliyet etkinliği ve geniş uygulanabilirliği nedeniyle uzun yıllardır kullanılsa da özgüllüğü ile ilgili bazı sınırlamaları vardır (Janero, 1990). Bunun nedeni, TBARS testinin sadece MDA'ya değil, aynı zamanda tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girebilen diğer aldehitlere, şeker türevlerine ve oksidatif bozunma ürünlerine de reaksiyon vermesidir (Janero, 1990; De Leon ve Borges, 2020). Bu nedenle, daha yüksek analitik hassasiyet gerektiren çalışmalarda, HPLC, LC-MS/MS veya benzeri ayırma yöntemlerinin kullanılması MDA ölçümünün güvenilirliğini artırabilir (Moselhy ve ark., 2013). Oluştuktan sonra, MDA, aldehit dehidrojenaz, alkol dehidrojenaz ve aldo-keto redüktaz gibi enzimler tarafından daha az reaktif ürünlere dönüştürülebilir. Bu enzimatik süreçlerin bozulması veya aşırı oksidatif stres, MDA birikiminin artmasına ve biyomakromoleküllerle etkileşim potansiyelinin yükselmesine yol açabilir. Bu nedenle, MDA seviyeleri, hücresel lipid peroksidasyonunun derecesini, antioksidan kapasitesini ve aldehit detoksifikasyon mekanizmalarının etkinliğini yansıtan karmaşık bir biyokimyasal göstergedir (Ayala ve ark., 2014).



Şekil 2.3 Malondialdehitin Kimyasal Yapısı (Nair, 2001).

2.3.1 Malondialdehit Biyokimyası

Reaktif oksijen türleri (ROS), çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımına yol açarak malondialdehit (MDA) gibi reaktif aldehitlerin oluşmasına neden olur. Lipit peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan MDA, hücre zarlarında meydana gelen oksidatif

hasarın ve organizmadaki oksidatif stres düzeyinin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan bir biyobelirteçtir. Elektrofilik özelliği yüksek olan MDA; proteinler, fosfolipitler ve nükleik asitlerle kovalent bağlar oluşturarak hücresel işlevleri olumsuz yönde etkileyebilir (Mattson, 2003).

Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin üretimi ile organizmanın bu reaktif bileşikleri etkisizleştirme ve oluşan hasarı onarma kapasitesi arasındaki dengenin bozulması şeklinde tanımlanmaktadır (Aoki ve Narumiya, 2012). Bu dengesizlik, DNA bazlarında yapısal değişikliklere, proteinlerin işlevlerinin bozulmasına ve hücre zarlarının zarar görmesine neden olabilir. Reaktif oksijen türlerinin başlıca örnekleri arasında süperoksit anyonu, hidroksil radikali, hidrojen peroksit ve singlet oksijen bulunmaktadır (Pluchino ve ark., 2013). Bununla birlikte ROS, yalnızca zararlı bileşikler değildir; fizyolojik düzeylerde hücresel sinyal iletimi ve bağışıklık sisteminin patojenlere karşı savunması gibi önemli süreçlerde de görev yapar (Kalinski, 2012).

Malondialdehit, DNA içerisindeki deoksiadenozin ve deoksiguanozin gibi nükleozitlerle reaksiyona girerek çeşitli DNA eklentileri meydana getirebilir. Özellikle deoksiguanozin ile oluşan MDA kaynaklı eklentiler mutajenik özellik gösterebilmekte ve genomik kararlılığın bozulmasına katkıda bulunabilmektedir. MDA'nın DNA ve proteinlerle oluşturduğu kovalent eklentiler, hücrelerde toksik ve mutajenik etkilerin ortaya çıkmasına neden olabilir. Bu nedenle MDA düzeylerinin belirlenmesi, oksidatif stresin ve buna bağlı moleküler hasarın değerlendirilmesinde önem taşımaktadır (Venero ve ark., 2003). Deoksiadenozin, adenosin nükleozidinin deoksiriboz içeren türevidir. Adenosin deaminaz enziminin yetersizliği durumunda deoksiadenozin metabolitleri, özellikle T lenfositlerde birikerek toksik etki oluşturabilir. Bu durum lenfositlerin gelişimini ve işlevini bozarak adenosin deaminaz eksikliğine bağlı ağır kombine immün yetmezliğe yol açabilir. Bununla birlikte bu metabolik bozukluk, MDA'nın meydana getirdiği DNA eklentilerinden farklı bir biyokimyasal mekanizmadır (Hannun ve Obeid, 2008).

Malondialdehitin temel kaynağı olan çoklu doymamış yağ asitleri, hidrokarbon zincirlerinde iki veya daha fazla karbon-karbon çift bağı bulunduran lipitlerdir. Kuruyemişler, tohumlar, bitkisel yağlar ve balıklar bu yağ asitlerinin başlıca besinsel kaynaklarıdır. Çoklu doymamış yağ asitlerindeki çift bağlar, bu molekülleri oksidatif saldırılara karşı

daha duyarlı hâle getirir (Pluchino ve ark., 2013). Bu nedenle uygun olmayan koşullarda saklanan veya yüksek sıcaklığa maruz bırakılan yağlarda lipit peroksidasyonu ve buna bağlı MDA oluşumu artabilir. Ayçiçeği ve palm yağı gibi yenilebilir yağlarda tespit edilen MDA düzeyi; yağın işlenme, ısıtılma ve depolanma koşullarına göre değişiklik gösterebilir (Domínguez ve ark., 2019).

Sonuç olarak MDA, çoklu doymamış lipitlerin reaktif oksijen türleri tarafından parçalanması sonucunda oluşan, yüksek reaktiviteye sahip bir lipit peroksidasyonu ürünüdür. Dokulardaki, plazmadaki veya diğer biyolojik örneklerdeki MDA düzeyinin belirlenmesi; hücre zarı hasarının, lipit peroksidasyonunun ve oksidatif stresin değerlendirilmesine yardımcı olmaktadır (Moldovan ve Moldovan, 2004).

2.3.2 Malondialdehitin Metabolizması

Malondialdehit, çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu oluşan ve organizmada toksik etkilere neden olan üç karbonlu reaktif bir dialdehittir (Esterbauer, 1993). Fazla reaktif olduğundan organizmada olduğu andan itibaren DNA, proteinler ve membran fosfolipidlerine hızla bağlanıp, bunun yanında metabolik yıkım mekanizmaları ile de detoksifiye edilmektedir (Del Rio ve ark., 2005).

Malondialdehitin metabolizması öncelikle oksidatif yıkım ve konjugasyon yollarıyla gerçekleşir. Sitozolde ve mitokondride bulunan aldehit dehidrogenaz (ALDH) enzimleri MDA'yı okside ederek asetata dönüştürür hücresel enerji metabolizmasına dahil eder (Zhang ve ark., 2013). Bu durum, MDA'nın toksik etkilerinin azaltılmasında önemli basamaklardan biridir. Ayrıca, MDA sülfhidril grupları ile reaksiyona girerek glutatyon (GSH) aracılığıyla konjugasyona uğrar ve böylece glutatyon-S-transferaz (GST) tarafından katalizlenen süreç sonunda daha suda çözünür metabolitler oluşur. Bu ürünler böbrek yoluyla idrarla atılır ve organizmanın serbest aldehit yükü azaltılır (Esterbauer ve ark., 1991).

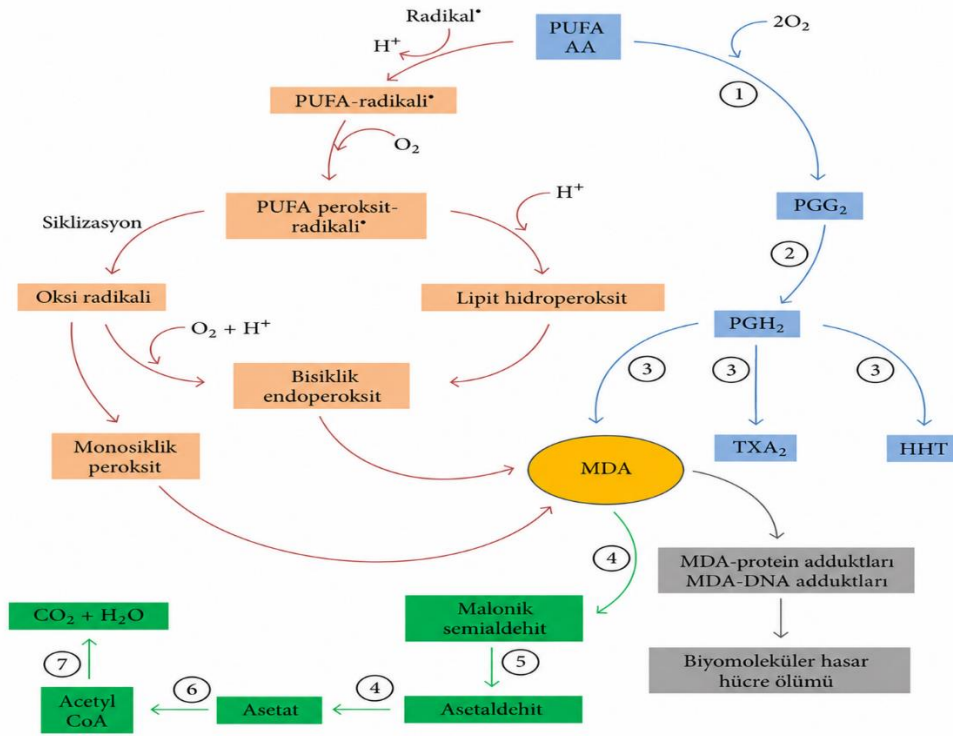
Malondialdehit, çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) oksidatif stres altında gerçekleştirdiği lipid peroksidasyonuna bağlı olarak non-enzimatik yollarla oluşabildiği gibi, siklooksijenaz, prostasiklin hidroperoksidaz ve tromboksan sentaz aracılığıyla enzimatik dö-

nüşümler sonucu da üretilebilir. Oluşan MDA daha sonra aldehit dehidrogenaz, dekarboksilaz ve asetil-CoA sentaz gibi enzimler aracılığıyla metabolize edilerek asetata ve triasarboksilik asit (TCA) döngüsüne katılır; bu süreç, MDA'nın reaktivitesinin azaltılması ve toksik yükün düşürülmesinde kritik bir rol oynar (Ayala ve ark., 2014).

Malondialdehit tayininde yaygın olarak kullanılan yöntemlerin önemli bir bölümü, MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile türevlendirilmesine dayanmaktadır. Asidik ortamda ve yüksek sıcaklıkta bir MDA molekülü ile iki TBA molekülü arasında gerçekleşen kondenzasyon reaksiyonu sonucunda, spektrofotometrik veya florometrik olarak belirlenebilen renkli bir MDA-TBA kompleksi oluşmaktadır (Raharjo ve Sofos, 1993). Bununla birlikte, klasik TBA yönteminin analitik özgüllüğü sınırlıdır; çünkü TBA yalnızca MDA ile değil, örnekte bulunan diğer aldehitler ve çeşitli TBA-reaktif bileşiklerle de reaksiyona girebilmektedir (Knight ve ark., 1988). Ayrıca, türevlendirme sırasında uygulanan yüksek sıcaklık ve asidik koşullar örnek matriksinde ilave oksidasyona veya artefakt MDA oluşumuna neden olabilmekte ve bu durum ölçülen MDA düzeylerinin olduğundan yüksek belirlenmesine yol açabilmektedir (Fenaille ve ark., 2001). Bu nedenle, TBA ile türevlendirmenin ardından HPLC ile kromatografik ayırım yapılması, MDA-TBA kompleksinin diğer TBA-reaktif bileşiklerden ayrılmasını sağlayarak yöntemin analitik özgüllüğünü artırmaktadır (Raharjo ve Sofos, 1993).

Malondialdehiti tespit etmek için kullanılan ilk ve hala en yaygın yöntemlerden biri, Yagi tarafından geliştirilen ve 95 °C'de asidik koşullarda kan lipidi ve protein çökeltisi üzerinde TBA reaksiyonunu devam ettiren yöntemdir. Bu yönteme dayanarak, sonuçlar genellikle MDA yerine TBA reaksiyonlu maddeler yani TBARS olarak rapor edilir (Yagi, 1976).

TBARS yöntemine ek olarak Chirico tarafından geliştirilen MDA-TBA eklentisinin ayrılmasına ve tanımlanmasına olanak tanıyan, yaygın ancak optimize edilmiş yüksek performanslı sıvı kromatografisi yöntemine (HPLC-UV/Vis) dayanmaktadır. Orijinal prosedürden temel fark, hassasiyet kaybı olmaksızın kolon yıkamasını ortadan kaldıran, tamamen valide edilmiş deproteinizasyon adımıdır (Chirico, 1994).



Şekil 2.4 MDA Oluşumu ve Metabolizması (Ayala, 2014).

2.3.3 Schiff Baz Reaksiyonu

Schiff baz reaksiyonu, ketonların ve aldehytlerin birincil aminlerle kondenzasyonu sonucu C=N (azometin) bağıni oluşturan sentezlerden biridir. Reaksiyonlar denge kontrollü ilerler ve oluşan su uygun işlem koşullarıyla ortamdan uzaklaştırılarak dengenin ürün yönünde kaymasını kolaylaştırır. Reaksiyonun hızı ve seçiciliği; pH, ortam şartları ve amin/karbonil türü gibi koşullara duyarlıdır (Ciaccia ve Di Stefano, 2015). Azometin bağıinin varlığı; Schiff bazlarının antibakteriyel, antioksidan ve antifungal etkinlikleriyle ilişkilendirilmiştir. Bu durum Schiff bazlarının farmasötik, biyoloji ve gıda kimyası gibi alanlarda kullanım potansiyelini öne çıkarmaktadır (Kumar ve ark., 2017).

Oksidatif bozulma, etin kesimiyle başlayıp işleme ve depolama boyunca ilerleyerek devam eden; renk, doku, tat, koku gibi duyuşal özellikleri olumsuz etkileyen; besin değeri kaybı ve toksik bileşik oluşumuna yol açabilen bir reaksiyon sürecidir (Domínguez ve ark., 2019). Gelişen bu süreçte lipid peroksidasyonu sadece lipidlerin doymamışlığına

bağlı değildir; demir serbest radikallerin oluşmasını daha da kolaylaştırarak lipid peroksidasyonunu başlatabilir ve miyoglobin peroksitlerle beraber prooksidan özellik kazanarak süreci hızlandırabilir (Baron ve Andersen, 2002). Lipit peroksidasyonu çoğunlukla serbest radikal zincir reaksiyonu yani otooksidasyon şeklinde yürür ve heme proteinler, metal iyonları ile bazı enzimatik sistemler bu zincirin başlangıç basamaklarını kopmlike hale getirerek reaktif ara ürün çeşitliliğini artırır (Domínguez ve ark., 2019). Bu nedenle oksidasyon yönetimi; yağ miktarı/kompozisyonu, proses koşulları ve paketlenme gibi etmenleri birlikte ele alan bütüncül bir yaklaşım gerektirir ve lipid ile protein oksidasyonunun birlikte izlenmesi kalite değerlendirmesi açısından önem taşımaktadır (Domínguez ve ark., 2019; Guyon ve ark., 2016).

Tam bu noktada Schiff baz reaksiyonu, lipid peroksidasyonunun “ikincil ürünleri” ile et proteinleri arasındaki kimyasal köprüleri açıklayan kritik bir kavram hâline gelir. Çok sayıda lipid kaynaklı reaktif karbonil türü (özellikle α,β -doymamış aldehitler) proteinlerdeki nükleofilik yan zincirlerle kovalent etkileşime girebilir; bu etkileşim Michael adduct oluşumu veya aldehit karbonilinin primer amino gruplarıyla kondenzasyonu sonucu Schiff bazı (imin) oluşumu şeklinde ilerleyebilir. İmin oluşumunda karbinolamin ara ürünü ve su eliminasyonu basamakları vurgulanır; ayrıca Schiff bazının hidrolizle geri dönebilen, yani tersinir bir adduct olduğu ve daha hidrofobik/anhidro protein “cepleri” içinde görece daha stabil kalabildiği belirtilir (Vistoli ve ark., 2013). Bu erken adductlar zamanla yeniden düzenlenip çapraz bağlara ve daha karmaşık lipoksidasyon ürünlerine dönüşebildiğinden, yalnızca “bir bağ oluşumu” değil; protein fonksiyonu ve çözünürlüğünü etkileyebilen bir modifikasyon hattı olarak ele alınır (Domínguez ve ark., 2019).

Et sistemlerinde lipid oksidasyonundan türeyen aldehitlerin proteinlerin amino gruplarıyla reaksiyona girerek floresan özellikte Schiff baz yapıları oluşturabildiği ve bunun miyofibril modellerinde deneysel olarak gösterildiği bildirilmiştir. Bu ürünlerin oluşumu yalnızca aldehit miktarına değil, proteinlerdeki amino gruplarının erişilebilirliğine de bağlı olup protein agregasyonunu artırarak kaliteyi olumsuz etkileyebilir; yüksek oksijen, kıyma ve pişirme gibi oksidasyonu artıran işlemler bu oluşumu güçlendirebilir (Chelh ve ark., 2007). Depolama/işleme sırasında özellikle yağ oranı yüksek köftelerde triptofan

floresans kaybı, karbonilasyon ve Schiff baz oluşumu gibi protein oksidasyonu göstergelerinin arttığı ve bunun su tutma kapasitesi ile renk üzerinde olumsuz yansımaları olduğu raporlanmıştır (Utrera ve ark., 2014).

2.4 Lipid Peroksidasyonun Sağlık Üzerine Etkileri

Lipit peroksidasyonu, serbest radikaller aracılığıyla zincirleme reaksiyonlar halinde ilerleyen bir oksidatif bozunma sürecidir. Bu reaksiyonların biyolojik membranlarda yayılması, hücresel yapılara zarar verebilen çeşitli toksik ikincil oksidasyon ürünlerinin oluşumuna yol açmaktadır. Süreçte reaktif oksijen türleri, başta çoklu doymamış yağ asitlerinin karbon-karbon çift bağlarını ($C=C$) hedef almakta; bu durum komşu karbon-hidrojen ($C-H$) bağlarının zayıflamasına ve hidrojen atomunun kolaylıkla uzaklaştırılmasına neden olmaktadır. Oluşan lipit radikalleri kararsız bir yapı sergileyerek çeşitli ikincil oksidasyon ürünlerine dönüşmekte olup, bunların en önemli örneklerinden biri malondialdehit (MDA). Malondialdehit, lipit peroksidasyonunun güvenilir bir biyobelirteci olarak kabul edilmekte ve farklı biyolojik sistemlerde oksidatif stres düzeyinin değerlendirilmesinde hem *in vitro* hem de *in vivo* çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Reis ve Spickett, 2012).

Malondialdehitin mutajenik ve karsinojenik özellikleri, serbest radikal reaksiyonları sonucu ortaya çıkmasıyla yakından ilişkilidir. Çalışmalar, MDA'nın DNA ile etkileşime girerek mutasyonlara yol açabileceğini göstermektedir (Marnett, 1999). Lipid peroksidasyonunu tetikleyen ozon, nitrojen oksitleri, hiperoksi ve bazı ksenobiyotikler gibi çevresel etkenler de *in vivo* koşullarda endojen MDA oluşumunu artırmaktadır. Bunun yanında, çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) parçalanmasıyla oluşan ekzojen MDA'nın metabolizması, endojen kaynaklı olanlardan farklılık göstermektedir (Draper ve Hadley, 1990).

Hücre zarındaki doymuş yağ asitleri düz zincir halindeyken, doymamış yağ asitleri kıvrımlı yapıları nedeniyle zar akışkanlığını artırır. Bununla birlikte, çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA'lar) oksidasyonu zar bütünlüğünü bozarak akışkanlığını azaltır, geçirgenliğini artırır ve zar enzimlerinin inaktivasyonuna yol açar. Ayrıca, serbest radikaller PUFA zincirlerindeki allil hidrojen atomlarına kolaylıkla saldırarak lipid peroksidasyo-

nunu başlatabilir. Bu süreç, aldehitler ve hidrokarbonlar gibi ikincil oksidasyon ürünlerinin oluşmasına ve ilerleyen aşamalarda membran yapısının bozulmasına yol açabilir (van Meer ve ark., 2008).

Malondialdehit sadece oksidatif sürecin biyobelirteci değil aynı zamanda DNA, proteinlerle ve fosfolipitlerle reaksiyona girerek biyolojik süreçleri etkileyip değiştiren bir moleküldür (Marnett, 1999). Deoksiguanozin ile MDA'nın oluşturduğu M1dG gibi DNA aduktları mutagenез, inflamasyonla ilişkili doku hasarı ve genomik kararsızlık açısından önemlidir (Ma, Villalta, Balbo ve Stepanov, 2014). Bundan ötürü MDA, kronik hastalıklarda hem organizma üzerinde etkili reaktif bir ara ürün hem de oksidatif hasarı gösteren bir biyokimyasal belirteç olarak işlev görmektedir (Voulgaridou ve ark., 2011). Çalışmalarda lipid peroksidasyonu, özellikle ferroptoz gibi düzenlenmiş hücre ölümü mekanizmalarıyla ilişkilendirildiği için MDA'nın hastalıklardaki anlamı daha da değer kazanmıştır (Wu ve ark., 2025).

Kanser hücrelerinde lipid peroksidasyonu ikili bir biyolojik etki gösterir: orta düzeyde oksidatif bozunma tümör hücresi istilasını, çoğalmasını ve adaptasyonunu teşvik ederken, ileri düzey bir lipid peroksidasyonu hücre ölümüne yol açabilir (Wu ve ark., 2025). Malondialdehitin DNA ile etkileşimi sonucu oluşan eklentiler, özellikle kronik inflamasyonla ilişkili kanserlerde genomik instabilite ve mutasyon birikimi için son derece önemlidir (Voulgaridou ve ark., 2011). Hızlı çoğalmaları nedeniyle, kanser hücreleri daha yüksek metabolik talepler sergiler ve bu da dönüşüme uğramamış hücrelere kıyasla mitokondriyal ROS üretiminde artışa neden olur. Redoks durumu ve ROS, kanser ilerlemesiyle ilişkili tümör hücresi sinyal yollarında da önemli bir rol oynar. Bu nedenle, sağlıklı hücrelere kıyasla, kanser hücreleri bozulmuş redoks homeostazı ve daha yüksek konsantrasyonlarda lipid peroksidasyon ürünleri sergiler. Birçok tümör hücresi türünde, bu yüksek konsantrasyonlar büyümeyi, çoğalmayı ve hayatta kalmayı teşvik eder. Çalışmalar ayrıca lipid peroksidasyon ürünleri ve malondialdehit (MDA) konsantrasyonlarının kanserle ilişkili hastalıklarda yükseldiğini göstermiştir (Kennedy ve ark., 2020).

Diyabet, çoklu etiyolojili bir metabolik bozukluktur ve insülin salgılanmasında, insülin etkisinde veya her ikisinde de kusurlardan kaynaklanan karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında bozukluklarla karakterize edilir (Perkovic ve ark., 2023). Diyabette, kronik hiperglisemi, süperoksit radikali, hidroksil radikali ve hidrojen peroksit (H₂O₂) gibi

reaktif oksijen türlerinin üretimini artmasına ve antioksidan savunma sistemlerinin zayıflamasına yol açan yüksek oksidatif stres durumunu temsil eder (Nieva ve ark., 2011). Bu uyarım, protein kinaz C ve poliol yolunun aktivasyonuna, mitokondriyal solunum zincirinin aşırı yüklenmesine ve ileri glikasyon son ürünlerinin (AGE'ler) oluşumunun artmasına yol açar (Brownlee, 2001). Bu nedenle MDA, tip 2 diyabette hiperglisemi ve ilişkili oksidatif hücre hasarının bir belirteci olarak kabul edilir (Khadra ve ark., 2024). Diyabet çalışmalarında malondialdehit ile açlık kan şekeri, dislipidemi, HbA1c ve antioksidan kapasite arasındaki ilişkiye dair araştırmalar, diyabetin sadece metabolik bir bozukluk değil, aynı zamanda bir redoks bozukluğu olduğunu da göstermektedir (Sabitha ve ark., 2024).

Retina, damar endoteli, böbrek glomerülü ve periferik sinirler oksidatif strese karşı duyarlı yapılar olduğu için diyabetik durumlarda MDA'nın rolü daha belirgin hale gelir (Goycheva ve ark., 2023). Diyabetik retinopatide MDA düzeylerinin artması retinal mikrovasküler hasarın oksidatif bozunma sonucu olduğunu göstermektedir (Jiang ve ark., 2023). Diyabetik nefropatide MDA artışı inflamasyon, albuminüri ve glomerüler membran hasarı ile ilişkilendirilmektedir (Hojs ve ark., 2020). Bu nedenle diyabette MDA, tek başına tanı koydurucu bir test değil, komplikasyon riskini ve oksidatif yükü gösteren bir biyobelirteç olarak değerlendirilmelidir (Sabitha ve ark., 2024).

Kardiyovasküler hastalıklarda lipid peroksidasyonu özellikle aterosklerozun gelişiminde önemlidir çünkü LDL'nin oksidatif bozunması sırasında oluşan MDA, aterosklerotik sürecin biyokimyasal izlerinden biri olarak kabul edilir. Okside LDL oluşumu ise vasküler sistemde inflamatuvar birikimine ve makrofajların köpük hücresine dönüşmesine neden olur (Hadi ve ark., 2024). Oksidatif stresin endotel hücrelerinde artması ise nitrik oksit biyoyararlanımını düşürür ve vazodilatasyon kapasitesini bozarak plak gelişimi, damar sertliği ve hipertansiyon süreçlerini hızlandırır (Myszko ve ark., 2025). Bu sebeple vasküler sistemdeki MDA düzeyi ve oksidatif yükün bir göstergesi olarak değerlendirilebilir (Valaitienė ve ark., 2024).

Yapılan bazı çalışmalarda serum MDA düzeylerinin koroner arter hastalığında hastalık şiddeti ve kardiyovasküler sonuçlarla ilişkili olabileceği bildirilmiştir. Kardiyovasküler risk değerlendirmesinde MDA'nın oksidatif stres boyutunu gösterdiği fakat LDL kolesterol, böbrek fonksiyonu, diyabet varlığı ve kan basıncı gibi klasik parametrelerin yerine

geçmediğini belirtilmiştir (Hadi ve ark., 2024). Kardiyovasküler hastalıklar sadece lipid birikmesiyle değil; endotel disfonksiyonu, trombotik eğilim, oksidatif stres ve inflamasyon ile geliştiği için MDA bu çok katmanlı sürecin redoks hattını göstermektedir (Valaitienė ve ark., 2024). Tüm bu sebeplerle MDA kardiyovasküler hastalıklarda tek başına bir belirteçten olmaktan çok, bütüncül risk değerlendirmesinin parçası olarak düşünülmelidir (Tsikas, 2017).

Sinir sistemi yoğun mitokondri aktivitesi, yüksek oksijen tüketimi ve çoklu doymamış yağ asitlerinden zengin membran yapısı nedeniyle lipid peroksidasyonuna karşı hassastır (Shichiri, 2014). Parkinson, Alzheimer, inme, beyin hasarı ve ALS nörolojik tablolarda MDA düzeylerinin yükselişi, nöronal membranların oksidatif hasara uğradığını gösterir (Zoroddu, ve ark., 2025). Malondialdehit mitokondriyal enzimleri, sinaptik proteinleri ve hücre içi sinyal yollarını etkileyerek nöronal fonksiyon kaybına neden olmaktadır (Shichiri, 2014). Yapılan çalışmalarda Alzheimer ve bilişsel bozukluğu olan bireylerde sağlıklı zamandaki kontrollere göre MDA düzeyinin daha yüksek çıktığı bildirilmiştir (Zoroddu ve ark., 2025) Serum, plazma ve beyin-omurilik sıvısı ölçümleri arasında oluşan farklılıklar MDA'nın nörolojik hastalıklarda kesin tanı için kullanımını sınırlandırmaktadır (Ioannidou ve ark., 2025).

İnflamatuvar hastalıklarda aktive nötrofiller, lenfositler ve makrofajlar yüksek miktarda azot ve reaktif oksijen üreterek doku çevresinde oksidatif bir baskı oluşturur (Muro ve ark., 2024). Oluşan bu baskı lipid peroksidasyonunu artırarak MDA düzeylerinin artmasına sebep olur (Tratenšek ve ark., 2024). İnflamatuvar bağırsak hastalıklarında MDA düzeylerinin yükselmesi, oksidatif stres, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve bağırsak mukozasında epitel bariyer hasarı ile ilişkilendirilmiştir bu durum da inflamasyonun sadece immün hücreler ve sitokinlerle değil, hücre membranı hasarı ve oksidatif ürünlerle de oluştuğunu göstermektedir (Tratenšek ve ark., 2024).

Otoimmün hastalıklarda asetalhedit ve MDA türevli protein yapıları bağışıklık sistemi tarafından neoantijen gibi algılanabileceği için bu hastalıklarda MDA'nın rolü daha karmaşık hal alır çünkü oksidatif stres sadece inflamasyonun sonucu değil bazı durumlarda otoimmün yanıtın sürdürülmesine katkıda bulunmaktadır (Zhou ve ark., 2025). Kronik inflamatuvar hastalıklarda MDA düzeyleri klinik test bulgularıyla beraber değerlendirildi-

ğinde daha anlamlı sonuçlar vermektedir (Tratenšek ve ark., 2024). Bu sebeple inflamatuvar hastalıklarda MDA, oksidatif doku hasarını gösteren bir biyobelirteç olarak işlev görmektedir (Muro ve ark., 2024).

Karaciğer, yağ asidi oksidasyonu alkol metabolizması, ilaç metabolizması ve detoksifikasyon süreçleri sebebiyle oksidatif stresin hem üretildiği hem de dengelenmeye çalışıldığı önemli işlevleri olan bir organdır. Steatotik karaciğer hastalığında yağ asidi birikimi endoplazmik retikulum, mitokondri ve peroksizomlar üzerinde oksidatif stres oluşturarak reaktif oksijen türlerini artırır (Hu ve ark., 2025). Bu süreç lipid peroksidasyonunu güçlendirir ve MDA düzeylerini hepatoselüler hasarın biyokimyasal göstergelerinden biri haline getirir (Zelber-Sagi ve ark., 2020).

Göz dokuları, retina ve lens, oksijene ve ışığa devamlı olarak maruz kaldığından oksidatif strese karşı duyarlıdır (Mimura, 2025). Çoklu doymamış yağ asitlerinden zengin olan retinada lipid peroksidasyonu retinal hücrelerde işlevsel kayıplara yol açabilmektedir. MDA düzeylerinin yüksek olması diyabetik retinopatide hiperglisemiye bağlı mikrovasküler hasarın oksidatif stres kaynaklı olduğunu göstermektedir (Jiang ve ark., 2023). Bu nedenle MDA, diyabetik retinopatide retinal iskemi, kapiller hasar, inflamasyon ve perisit kaybı süreçlerinin redoks boyutunu yansıtan bir biyobelirteçtir (Mimura, 2025). Malondialdehit hastalıklar için doğrudan tanı bir parametresi değil göz dokusunun oksidatif maruziyetini gösteren biyokimyasal bir belirteç olarak değerlendirilir (Jiang ve ark., 2023). Göz hastalıklarında retina görüntüleme çıktıları, görme durumu ve göz içi basıncı gibi bulgularla birlikte MDA düzeyi takip edilmelidir (Seven ve ark., 2026).

Böbrek fazla mitokondri içermesi, yüksek kan akımı ve filtrasyon işlevi sebebiyle oksidatif hasara karşı duyarlı bir organdır. Kronik böbrek hastalığında, inflamasyon, üremik toksinler ve hemodiyalizle ilişkili stres oksidatif hasarı artırabilir (Hojs ve ark., 2020). Diyabetik böbrek hastalığında kronik hiperglisemi mezangial hücre, podosit, tübüler epitel ve glomerüler endotel üzerinde oksidatif hasar oluşturur. Oluşan bu hasarda artan MDA düzeyleri lipid peroksidasyonunu ve diyabetik nefropatinin redoks temelli olduğunu gösterir (Jin ve ark., 2023). Kronik böbrek hastalığında oksidatif stres; endotel disfonksiyonu, inflamasyon ve damar sertliği kalp- böbrek ekseninde birlikte ilerler bu durum kardiyovasküler riskle de yakından ilişkilendirilir (Hojs ve ark., 2020).

Erkek infertilitesinde spermatozoonlar çoklu doymamış yağ asitlerinden zengin membran yapıları ve sınırlı sitoplazmik antioksidan kapasiteleri nedeniyle lipid peroksidasyonuna son derece duyarlıdır (Takalani ve ark., 2023). Aşırı reaktif oksijen türleri sperm membran akışkanlığını azaltır, motiliteyi bozar ve DNA fragmentasyonunu artırabilir (Wang ve ark., 2025). Bu süreçte MDA, seminal plazmada oksidatif hasarın ve sperm membran lipidlerinin peroksidasyonunun önemli göstergelerinden biri olarak kullanılır (Nguyen ve ark., 2025).

Kadın üreme hastalıklarında infertilite, PKOS ve endometriozis, gibi hastalıklar oksidatif stresle ilişkilidir (Scutiero ve ark., 2017). Polikistik over sendromunda hiperandrojenizm, inflamasyon ve gelişen insülin direnci ROS üretimini artırarak MDA gibi lipid peroksidasyon ürünlerinin artışına sebep olabilmektedir (Liu ve ark., 2025).

Metabolik hastalıklarda lipid peroksidasyonu diyabet, obezite, MASLD, böbrek hastalıkları ve kardiyovasküler hastalıklar gibi çoklu organ komplikasyonları arasında ortak bir mekanizması oluşturur MDA, bu metabolik hastalıklarda organlar arası oksidatif stres ağının göstergesi olarak görev alır (Wang ve ark., 2026).

Lipid peroksidasyonu ve ürünü MDA, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, inflamatuvar hastalıklar metabolik hastalıklar ve nörolojik bozukluklara kadar geniş yelpazede oksidatif hasara bağlı patolojik tablolar meydana getirir (Ayala ve ark., 2014). Malondialdehitin bu kadar fazla ve farklı hastalıkta görünmesi onun hastalığa özgül bir molekül olmasından kaynaklanmaz oksidatif stresin birçok kronik hastalıkta ortak bir mekanizma olarak yer almasından kaynaklanır. Malondialdehit, tanı koyduran veya prognozu kesin biçimde belirleyen bir test olarak değil, hücre membranı hasarını, redoks dengesizliğini ve inflamatuvar yükü gösteren bir biyobelirteç olarak değerlendirilmelidir (Tsikas, 2017). Yapılan çalışmalar, MDA'nın antioksidan savunma, endotel hasarı, inflamasyon, ferroptoz ve mitokondriyal disfonksiyon gibi oksidatif stresle ilişkili mekanizmalarla birlikte değerlendirilmesinin, lipid peroksidasyonunun sağlık üzerindeki etkilerinin daha bütüncül biçimde anlaşılmasına katkı sağladığını göstermektedir (Wu ve ark., 2025). Malondialdehit, lipid peroksidasyonunun ve oksidatif stresin değerlendirilmesinde yaygın olarak araştırılan bir biyobelirteç olmakla birlikte, rutin klinik uygulamada tanı veya hastalık takibi amacıyla kullanılan standart bir laboratuvar parametresi değildir (Frijhoff ve ark., 2015). Malondialdehit ölçümünde kullanılan yöntemlerin özgüllük ve duyarlılıklarının

farklılık göstermesi, örnek hazırlama ve saklama koşulları gibi preanalitik faktörlerin sonuçları etkileyebilmesi ve farklı çalışmalar arasında elde edilen değerlerin değişkenlik göstermesi, klinik kullanım açısından önemli sınırlılıklar oluşturmaktadır (Tsikas, 2017; Tsikas, 2023). Bu nedenle MDA, günümüzde daha çok araştırmalarda lipid peroksidasyonu ve oksidatif stres düzeyinin değerlendirilmesine yardımcı olan bir biyobelirteç olarak kullanılmaktadır (Frijhoff ve ark., 2015; Tsikas, 2017).

2.5 İn Vitro Sindirim Modeli ve Biyoerişilebilirlik

İn vitro sindirim modelleri, gıdaların ve ilaçların gastrointestinal sistem boyunca nasıl davrandığını incelemek amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. İnsanlar üzerinde gerçekleştirilen beslenme çalışmaları altın standart olmaya devam etse de simüle edilmiş sindirim modelleri; daha hızlı, daha düşük maliyetli ve daha az emek gerektiren yöntemler olmalarının yanı sıra etik kısıtlamalar içermemeleri nedeniyle avantaj sağlamaktadır. Bu modeller, paralel tarama ve belirli bölgelerden kolay örneklemeye imkânı sunarak yüksek düzeyde kontrollü ve tekrarlanabilir mekanistik çalışmaların gerçekleştirilmesine olanak sağlamaktadır (Minekus ve ark., 2014). Simüle edilmiş sindirim yöntemleri tipik olarak ağız, mide ve ince bağırsak aşamalarını ve bazen de kalın bağırsak fermantasyonunu içermektedir. Bu yöntemler, sindirim enzimlerinin varlığı, konsantrasyonları, pH, sindirim süresi ve tuz konsantrasyonları gibi faktörleri dikkate alarak, canlı organizmadaki fizyolojik koşulları taklit etmeye çalışır (Minekus ve ark., 2014; Brodorb ve ark., 2019). Bazı gelişmiş bilgisayar modelleri, sindirilmiş gıdaların taşınması, değişken enzim konsantrasyonları ve zaman içindeki pH değişiklikleri gibi sindirimin dinamik yönlerinin simülasyonuna da olanak tanımaktadır (Hur ve ark., 2011). İnsan sindiriminin statik modelleri; ilaçların, proteinler, karbonhidratlar ve lipitler gibi makro besin maddelerinin sindirilebilirliği ve biyoerişilebilirliği gibi çeşitli bilimsel soruları ele almak için kullanılmıştır (Miller ve ark., 1981). Ayrıca mineraller ve eser elementler gibi mikro besin maddelerinin karotenoidler ve polifenoller dahil olmak üzere sekonder metabolitlerin matristen salınımını incelemek için de kullanılmıştır (Lorrain, ve ark., 2012). Bazı in vitro sindirim yöntemleri sonucunda elde edilen biyoyararlanılabilir fraksiyonlar, Caco-2 hücre modelleri kullanılarak bağırsak epiteli üzerinden taşınma ve emilim gibi mekanistik süreçlerin değerlendirilmesinde kullanılabilir (Vors ve ark., 2012).

Uluslararası INFOGEST konsorsiyumu, özellikle statik *in vitro* sindirim protokollerinin standardizasyonu ve doğrulanmasında ve bu bulguların *in vivo* verilerle ilişkilendirilmesinde bu alanda önemli bir rol oynamıştır. Bu standartlaştırılmış *in vitro* sindirim protokolleri, kontrollü koşullar altında gıdaların gastrointestinal akıbetinin değerlendirilmesi için gereklidir. Besin maddelerinin ve biyoaktiflerin stabilitesi ve biyoyararlanımı ile matris odaklı salınım odaklanmaktadır. Bu yöntemler, besin emilimini etkileyebilecek çok sayıda faktör göz önüne alındığında, faydalı olmaktadır (Bohn ve ark., 2018).

Biyoyararlanım ve biyoerişilebilirlik kavramları, besin bileşenlerinin gastrointestinal sistemdeki davranışlarının ve organizmadaki kullanım süreçlerinin değerlendirilmesinde kullanılan, birbirleriyle ilişkili ancak farklı kapsamı ifade eden iki temel kavramdır. Biyoyararlanım, bir besin bileşeninin gastrointestinal sindirim sonrasında emilimi, metabolik dönüşümleri ve sistemik dolaşıma ulaşan miktarını kapsayan bir süreç olarak tanımlanmaktadır (Fernández-García ve ark., 2009). Bu kapsamda biyoyararlanım; bileşiğin kimyasal yapısı, metabolik dönüşümleri, emilim mekanizmaları ve bireysel fizyolojik özellikler gibi çok sayıda faktör tarafından belirlenmektedir. Yaş, cinsiyet, genetik farklılıklar, hormonal durum, gastrointestinal sistem fonksiyonları ve çeşitli hastalık durumları biyoyararlanımı etkileyebilen başlıca bireysel faktörler arasında yer almaktadır (Manach ve ark., 2005). Yaşlanma sürecinde sindirim enzim aktivitelerinde meydana gelen değişiklikler, bağırsak geçirgenliği ve mikrobiyota kompozisyonundaki farklılıklar besin bileşenlerinin emilim ve metabolizma süreçlerini etkileyebilmektedir (Hurrell ve Egli, 2010). Benzer şekilde gebelik ve laktasyon dönemlerinde ortaya çıkan fizyolojik değişimler, besin bileşenlerinin kullanım süreçlerinde farklılıklara neden olabilmektedir.

Biyoerişilebilirlik ise bir besin bileşeninin gastrointestinal sindirim süreci sırasında gıda matriksinden serbestleşerek bağırsak epitelinden emilebilecek forma ulaşan kısmını ifade etmektedir (Parada ve Aguilera, 2007). Bu nedenle biyoerişilebilirlik, biyoyararlanım sürecinin sindirim aşaması ile ilişkili ilk basamağı olarak değerlendirilmektedir. Biyoerişilebilirlik üzerinde gıdanın fiziksel ve kimyasal özellikleri, matriks yapısı, bileşenler arasındaki etkileşimler, uygulanan işleme yöntemleri ve sindirim koşulları etkili olmaktadır (Carbonell-Capella ve ark., 2014).

In vitro sindirim modelleri, gıda bileşenlerinin sindirim sürecindeki değişimlerinin ve biyoerişilebilirlik düzeylerinin belirlenmesinde kullanılan standartlaştırılmış yaklaşımlar

arasında yer almaktadır. Bu modeller, oral, gastrik ve intestinal sindirim aşamalarını kontrollü laboratuvar koşullarında taklit ederek bileşenlerin sindirim sonrasında potansiyel olarak emilebilir forma geçen miktarlarının değerlendirilmesine olanak sağlamaktadır (Minekus et al., 2014). Bununla birlikte, in vitro sindirim modelleri yalnızca biyoerişilebilirlik düzeyini ortaya koymakta olup, emilim sonrası gerçekleşen metabolizma, hücre-sel taşınma, biyotransformasyon ve atılım süreçlerini içermediğinden biyoyararlanımın tamamını değerlendirmemektedir (Rein et al., 2013).

Biyoerişilebilirlik ve biyoyararlanım arasındaki temel farklılık, değerlendirdikleri biyolojik süreçlerin kapsamından kaynaklanmaktadır. Biyoerişilebilirlik, bir bileşiğin sindirim sistemi içerisinde emilebilir forma ulaşan miktarını ifade ederken; biyoyararlanım, bu bileşiğin emilim sonrasında organizmadaki dağılımını ve metabolik süreçlerini kapsamaktadır. Bu nedenle biyoerişilebilirlik, biyoyararlanımın belirlenmesinde önemli bir ön koşul olmakla birlikte, tek başına biyoyararlanımı temsil eden bir ölçüt değildir (Rodríguez-Roque et al., 2013).

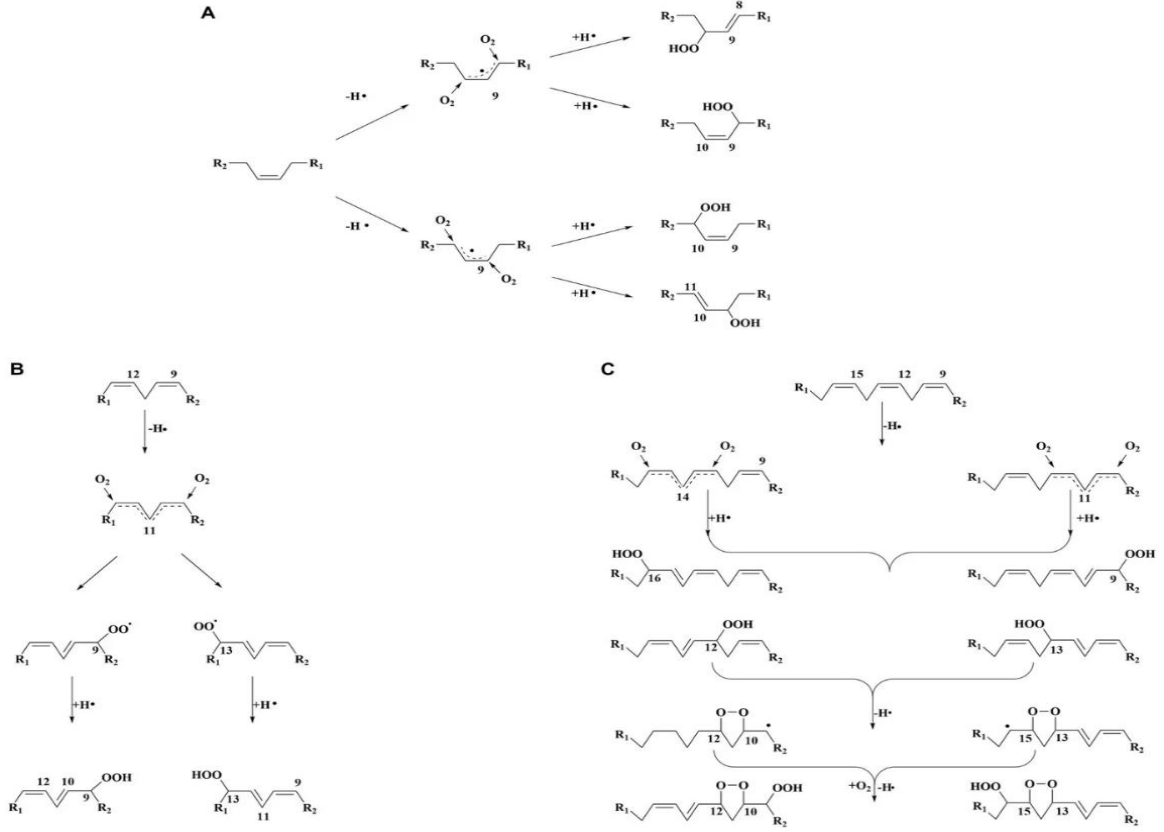
2.6 Isıl İşlemin Et ve Lipid Peroksidasyonuna Etkisi

Beslenme açısından bakıldığında, et yüksek kaliteli protein, temel amino asitler bakımından zengin olup vitamin ve mineraller sağlamada hayati bir rol oynar (Pereira ve Abreu, 2018). Etin güvenli bir şekilde tüketilebilmesi için genellikle ısıl işlemde geçirilmesi gerekir. Isıl işlem, gıda kaynaklı mikroorganizmaların giderilmesinin yanı sıra, etin çeşitli bileşenlerini ve yapılarını etkileyerek duyuşal özelliklerini etkiler (Santé-Lhoutellier ve ark., 2008). Yüksek sıcaklıkta pişirme, kas liflerinin aşırı kasılmasına, daha yüksek pişirme kayıplarına ve daha yüksek sertliğe neden olabilir. Yüksek sıcaklıkta pişirme yöntemlerinin dezavantajları göz önünde bulundurulduğunda, düşük sıcaklıkta uzun süreli vakumlu pişirmenin etin daha homojen şekilde pişmesini sağladığı, su kaybını azaltarak su tutma kapasitesini artırdığı ve böylece daha yumuşak bir ürün elde edilmesine katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Dominguez-Hernandez ve ark., 2019).

Et proteini, insan vücudu için gerekli tüm esansiyel amino asitleri içermesi nedeniyle yüksek kaliteli bir protein kaynağı olarak sınıflandırılmaktadır (Pereira ve Vicente, 2013). Bununla birlikte, et proteinleri; ısıl işlem, taşıma ve depolama süreçlerinde meydana ge-

lebilen oksidatif değişikliklere karşı oldukça duyarlıdır. Bu süreçler proteinlerde agregasyon, çapraz bağlanma, oksidasyon, konformasyonel değişiklikler ve çözünürlükte azalma gibi yapısal ve fonksiyonel modifikasyonlara yol açabilmektedir (Soladoye ve ark., 2015). Pişirme sıcaklığı ve süresine bağlı olarak et proteinlerinde farklı jel yapıları oluşabilmekte; bu değişiklikler etin yalnızca fizikokimyasal ve duyuşal özelliklerini değil, aynı zamanda sindirilebilirliğini ve besin öğelerinin emilimini de etkileyebilmektedir (Wang ve ark., 2023).

Lipid oksidasyonu, et ve et ürünlerinde besinsel değer kayıplarına, duyuşal kalitenin bozulmasına ve raf ömrünün kısalmasına neden olan bir reaksiyondur (Amaral ve ark., 2018). Et kalitesi üzerindeki başlıca etkileri arasında koku oluşumu, renk değişimi, tat ve doku değişiklikleri, protein çözünürlüğü ve su tutma kapasitesi gibi fonksiyonel özelliklerin olumsuz etkilenmesi ve bazı besin maddelerinin biyoerişilebilirliğin düşmesi yer almaktadır (Falowo ve ark., 2014). Oksitlenmiş etteki bozulmalar esas olarak aldehitlerden, özellikle heksanalden kaynaklanmaktadır. Ancak, yağ asitlerinin bileşimine ve ilgili reaksiyonlara bağlı olarak pentanal, heptanal, 2,6-nonadienal, 3,6-nonadienal, 3-metil bütanal ve 4,5-epoksi-2-desenal gibi diğer aldehitler ve ketonlar da çiğ ve pişmiş etlerde bozulmalara neden olmaktadır (Suscan, 2004). Lipid oksidasyonu, et pigmentlerinin oksidasyonuna neden olarak etin renginde bozulmaya yol açar. Ayrıca lipid oksidasyonu protein oksidasyonunu tetikleyerek proteinlerin çözünürlüğünü ve su tutma kapasitesini azaltır (Lund ve ark., 2011; Wu ve ark., 2017). Çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikallerle reaksiyona girmesi sonucu başlayan ısıl işlemlerle tetiklenen bir süreçtir (Pereira ve Abreu, 2018). Pişirme sırasında uygulanan yüksek sıcaklıklar, etin hücresel yapısını bozarak oksijenin dokulara daha kolay nüfuz etmesine ve hem-demir gibi pro-oksidanların serbest kalarak oksidasyonu hızlandırmasına neden olmaktadır (Min ve Ahn, 2005). Isıl işlem sonucunda oluşan 4-hidroksi-2-nonenal (HNE) ve malondialdehit (MDA) gibi oksidasyonun ikincil ürünleri, gıdanın yapısını, tadını ve güvenilirliğini doğrudan etkilemektedir (Sobral ve ark., 2020).



Şekil 2.5 (A) Oleik asidin otooksidasyonu için klasik mekanizma. (B) Linoleik asidin otooksidasyonu için klasik mekanizma. (C) α -Linolenik asidin otooksidasyonu için klasik mekanizma (Geng, 2023).

Bitkisel yağların yağ asidi profili, lipid peroksidasyonuna duyarlılıklarında belirleyici bir faktördür. Zeytinyağı, yüksek tekli doymamış oleik asit içeriği sayesinde çoklu doymamış yağlara göre yüksek oksidatif stabilite sergiler (Revelou ve ark., 2021). Keten tohumu yağı omega-3 yağ asidi olan α -linolenik asit açısından zengindir. Ayçiçek yağında linoleik asit baskın yağ asididir (Lužaić ve ark., 2023). Genel olarak, yağ asitlerinin oksidatif bozulmaya karşı hassasiyeti, çift bağ sayısıyla artar. Bu sebeple, oleik asit bakımından zengin zeytinyağında lipid peroksidasyonunun nispeten düşük, α -linolenik asit bakımından zengin keten tohumu yağında yüksek ve linoleik asit bakımından zengin ayçiçek yağında orta derecede yüksek olduğu görülmektedir (Mortensen ve ark., 2023; Muhović ve ark., 2025).

3. MATERYAL ve METOT

3.1 Araştırmanın Amacı

Çalışmanın amacı, farklı yağ asidi profillerine sahip bitkisel yağlar kullanılarak hazırlanan köftelerin farklı pişirme yöntemleri sonrasında oluşan malondialdehit (MDA) düzeylerinin belirlenmesidir. Bu kapsamda, omega-3 yağ asitleri bakımından zengin keten tohumu yağı, omega-6 yağ asitleri bakımından zengin ayçiçek yağı ve omega-9 yağ asitleri bakımından zengin zeytinyağı kullanılarak hazırlanan köfte örnekleri, ev tipi (konvansiyonel) fırın ve hava fritözü olmak üzere iki farklı pişirme yöntemiyle pişirilmiştir. Pişirme işlemlerinin ardından köfte örneklerindeki lipid oksidasyonunun önemli bir göstergesi olan MDA düzeyleri belirlenmiştir. Çalışmada, farklı yağ asidi profillerine sahip bitkisel yağların köfte formülasyonunda kullanılmasının ve farklı pişirme yöntemlerinin, pişirme ve *in vitro* gastrointestinal sindirim sonrasında oluşan MDA düzeyleri üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

3.2 Araştırma Zamanı, Yeri ve Örnekler

Bu çalışma, 2025–2026 yılları arasında Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı Beslenme Laboratuvarı ile Fen Edebiyat Fakültesi Temel Bilimler Laboratuvarı’nda yürütülmüştür.

Köfte formülasyonlarında, farklı yağ asidi profillerini temsil etmek üzere omega-3 yağ asitleri bakımından zengin keten tohumu yağı, omega-6 yağ asitleri bakımından zengin ayçiçek yağı ve omega-9 yağ asitleri bakımından zengin zeytinyağı kullanılmıştır. Her yağ türü için üç tekrarlı örnek hazırlanmış ve formülasyonlarda protein ve toplam yağ oranları sabit tutulmuştur. Çalışma tasarımı yağ türü ve pişirme yöntemi bağımsız değişkenler olarak ele alınmıştır. Hazırlanan köfte örnekleri, farklı pişirme yöntemlerinin oksidatif stabilite üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla hava fritözü (air fryer; COSORI CAF-L501 KUS) ve geleneksel fırın (BEKO BSUF 5000 MGSI) kullanılarak pişirilmiştir. Pişirme işleminin ardından köfte örneklerinin MDA düzeyleri belirlenmiş ardından aynı örneklere *in vitro* gastrointestinal sindirim uygulanmış ve sindirimin sonrası oluşan MDA düzeyleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, farklı yağ

asidi profiline sahip bitkisel yağların ve pişirme yöntemlerinin MDA oluşumu ve sindirim sonrası MDA biyoerişilebilirliği üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.

3.3 Analizde Kullanılan Kimyasallar

Analizlerde kullanılan kimyasal maddeler ve ticari ürünlere ait bilgiler verilmiştir (Tablo 3.1). Tabloda kimyasalların açık adları, kapalı formülleri, CAS numaraları, marka/ürün kodları ve kalite özellikleri belirtilmiştir. PBS (fosfat tamponlu salin çözeltisi) tabletleri ticari bir karışım ürün olduğundan tek bir CAS numarası verilmemiştir. Kullanılan kimyasalların uygun saflıkta ve analiz kalitesinde olmasına dikkat edilmiştir.

Tablo 3.1. Analizde Kullanılan Kimyasallar

Kimyasal adı	Kapalı formülü	CAS numarası	Marka / ürün kodu	Diğer ayrıntılar
Metanol (MeOH)	CH ₃ OH	67-56-1	Sigma-Aldrich 34860	HPLC kalite
Hidroklorik asit	HCl	7647-01-0	Merck 100317	Analiz kalite / ACS, ISO
Asetonitril (ACN)	CH ₃ CN	75-05-8	Supelco 100030	HPLC kalite
2-Tiyobarbitürik asit (TBA)	C ₄ H ₄ N ₂ O ₂ S	504-17-6	Sigma-Aldrich T5500	≥98% HPLC kalite
1,1,3,3-Tetrametoksipropan (TMP)	C ₇ H ₁₆ O ₄	102-52-3	Sigma-Aldrich 108383	MDA standardı
Phosphate Buffered Saline Tabletleri (PBS)	Karışım ürün	-	Oxoid™ BR0014G	Tampon çözelti
Alfa-amilaz	Enzim / protein	9001-19-8	Sigma 86250	Toz form, 1,5 U/mg
1,1,3,3-Tetraethoxypropane	C ₁₁ H ₂₄ O ₄	122-31-6	Sigma-Aldrich T9889	≥96%, MDA/TBA standart
Pankreatin (Domuz pankreasından elde edilen)	Enzim karışımı / protein	8049-47-6	Sigma-Aldrich P7545	8× USP
Safra özütü (domuzdan elde edilen)	Karışım ürün	8008-63-7	Sigma-Aldrich B8631	Toz form

Pepsin (domuz mide mukozasından)	Enzim / protein	9001-75-6	Sigma-Aldrich P7000	Toz form; ≥ 250 units/mg katı
Sodyum bikarbonat / NaHCO_3	NaHCO_3	144-55-8	Sigma-Aldrich S6014	ACS reagent, $\geq 99.7\%$; toz form
Potasyum dihidrojen fosfat	KH_2PO_4	7778-77-0	-	Monopotasyum fosfat
Perklorik asit	HClO_4	7601-90-3	-	Genellikle çözelti formunda $\geq 70\%$ ACS
Ortofosforik asit / Fosforik asit	H_3PO_4	7664-38-2	-	HPLC kalite

3.4 Numunelerin Hazırlığı

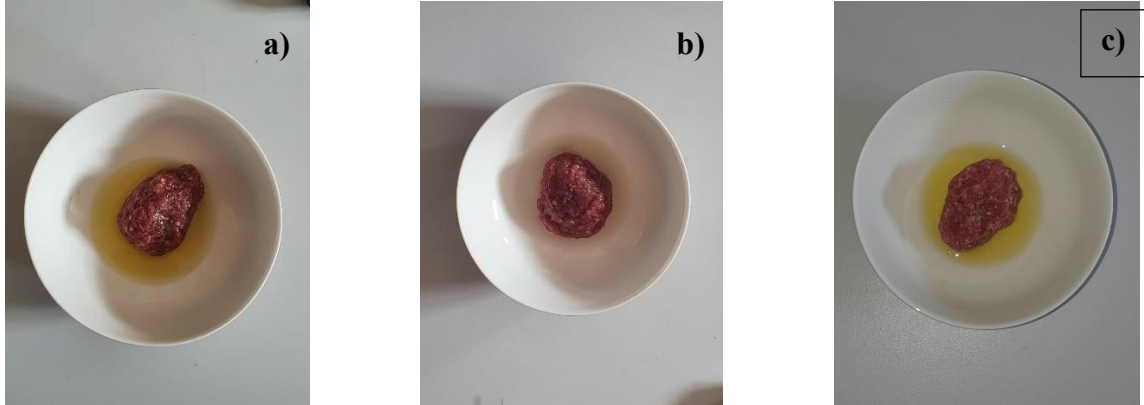
3.4.1 Köfte Formülasyonlarının Hazırlanması

Köfte formülasyonlarının oluşturulmasında keten tohumu yağı, ayçiçek yağı ve zeytin yağı olmak üzere üç farklı bitkisel yağ kullanılmıştır. Her yağ grubu için ayrı ayrı 100 g'lık köfte harçları hazırlanmış ve formülasyona uygun olarak her bir örneğe 16 g bitkisel yağ ilave edilmiştir. Hazırlanan karışımlar, bileşenlerin homojen şekilde dağılmasını sağlamak amacıyla elle yoğrulmuştur.

Tablo 3.2. Köfte formülasyonunda kullanılan bileşenler ve miktarları

Bileşen	Oran (%)	100 g miktarı (g)
Yağsız dana kıyma	%70	70 g
Galeta unu	%7	7 g
Soğan	%4	4 g
Tuz	%2	2 g
Sarımsak	%1	1 g
Bitkisel yağ	%16	16 g
Toplam	%100	100 g

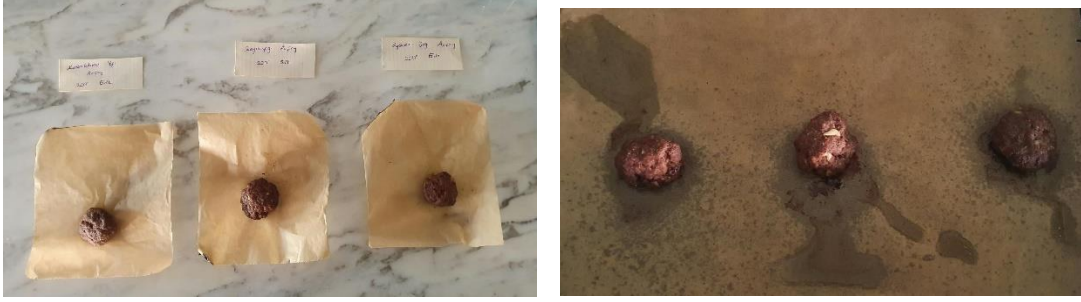
Bu çalışmada kullanılan köfte örnekleri, tabloda belirtilen formülasyona uygun olarak, bileşen oranları ve içerikleri dikkate alınarak hazırlanmıştır. Hazırlık, Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Beslenme İlkeleri mutfağında hijyenik koşullar altında ve standart üretim prosedürlerine uygun şekilde gerçekleştirilmiştir. Tabloda belirtilen hammadde miktarları, tüm hazırlık süreci boyunca her bir köfte türü için korunmuştur. Örnekler, aynı çevresel koşullar altında üretilmiş ve analiz için hazırlanmıştır.



Şekil 3.1. Köftelerin Farklı Yağ Çeşitleriyle Yoğrularak Homojenize Edilmesi: a) zeytin yağlı köfte örneği, b) ayçiçek yağı bulunan köfte örneği, c) keten tohumu yağı bulunan köfte örneği

3.4.2 Köftelerin Pişirilmesi ve Pişirilen Örneklerin Muhafaza Edilmesi

Sığır köfteleri (ıslak numuneler yaklaşık 30 g ağırlığında, 1 cm kalınlığında, 3 cm çapında ve max %1 et yağı oranına sahip) buz kutularında laboratuvara taşınmış ve pişirilene kadar -18 °C'de saklanmıştır. Fırın (BEKO BSUF 5000 MGSI) sıcaklığı 200 °C'de iki tarafı fanlı olacak şekilde ayarlanmış, pişirme süresi köftelerin her iki yüzü için toplam 20 dakika olarak belirlenmiştir. Hava fritözünde (COSORI CAF- L501 KUS) sıcaklık 200 °C'de olacak şekilde ayarlanıp, pişirme süresi köftelerin her iki yüzü için toplam 10 dakika olarak belirlenmiştir. Köftelerin pişme sonunda iç sıcaklıkları (80 °C ± 2) termokupl (Multi – termometre) ile ölçülmüştür.



Şekil 3.2 Pişmiş Köfte Örnekleri



Şekil 3.3 Kullanılan Hava Fritözü ve Köfte Örnekleri

Piştirme işlemi tamamlanan köfte örnekleri oda sıcaklığında kısa süre soğutulduktan sonra, oksijen ve çevresel kontaminasyonla temasın sınırlandırılması amacıyla hava geçirmez, kapaklı polipropilen örnek kaplarına alınmıştır. Örnekler analiz zamanına kadar -18 ± 2 °C sıcaklıkta dondurularak muhafaza edilmiştir. Analiz öncesinde örnekler dondurucudan çıkarılarak 4 ± 2 °C'de kontrollü şekilde çözündürülmüş ve tamamen çözüldükten sonra homojenize edilerek analiz işlemlerine alınmıştır.

3.5 Piştirme Kaybının Belirlenmesi

Köfte örneklerinde piştirme işlemine bağlı kütle değişiminin belirlenmesi amacıyla örneklerin piştirme öncesi ve piştirme sonrası ağırlıkları kaydedilmiştir. Piştirme kaybı, piştirme öncesindeki örnek ağırlığı ile piştirme sonrasındaki örnek ağırlığı arasındaki farkın başlangıç ağırlığına oranlanmasıyla hesaplanmıştır. Piştirme kaybının et ve et ürünlerinde yaygın olarak kullanılan gravimetrik yaklaşım ile hesaplanmıştır (Pang ve ark., 2020).

$$\text{Piştirme kaybı (\%)} = \frac{\text{Pişmemiş örnek ağırlığı (g)} - \text{Pişmiş örnek ağırlığı (g)}}{\text{Pişmemiş örnek ağırlığı (g)}} \times 100$$

Bu değer, pişirme sırasında örnekten uzaklaşan toplam kütlenin başlangıçtaki örnek kütlesine oranını göstermektedir. Pişirme kaybı yalnızca yağ kaybını değil; başta su olmak üzere yağ ve diğer çözünebilir bileşenlerin uzaklaşmasına bağlı toplam kütle değişimini ifade etmektedir.

3.6 Yağ Retansiyonunun Belirlenmesi

Pişirme sonrasında örneklerde kalan toplam yağ miktarının değerlendirilmesinde gerçek retansiyon (true retention) yaklaşımı kullanılmıştır. Gerçek retansiyon, pişmiş üründe kalan besin ögesi miktarının, aynı ürünün pişirme öncesinde içerdiği başlangıç besin ögesi miktarına oranını olarak tanımlanmıştır. Bu yaklaşımda yalnızca çiğ ve pişmiş örneklerin besin ögesi konsantrasyonları değil, pişirme öncesi ve sonrası örnek ağırlıkları da hesaplamaya dahil edilmektedir (Murphy ve ark., 1975).

Köfte rneklerinin yağ retansiyonu, pişmemiş ve pişmiş örneklerde Soxhlet yöntemiyle belirlenen ham yağ yüzdeleri ile örneklerin pişirme öncesi ve sonrası ağırlıkları kullanılarak aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$Yağ \text{ retansiyonu (\%)} = \frac{Pişmiş \text{ örnek ağırlığı (g)} \times Pişmiş \text{ total yağ (\%)}}{Pişmemiş \text{ örnek ağırlığı (g)} \times Pişmemiş \text{ total yağ (\%)}} \times 100$$

Bu hesaplama sonucunda elde edilen yağ retansiyonu değeri, pişirme öncesinde örnekte bulunan toplam yağ miktarının yüzde kaçının pişirme sonrasında üründe kaldığını göstermektedir.

3.7 Proksimat Analizi

3.7.1 Nem Tayini

Pişmemiş köfte örneklerinin nem içerikleri, AOAC Official Method 950.46 – Loss on Drying (Moisture) in Meat yöntemi esas alınarak gravimetrik olarak belirlenmiştir. Homojen hâle getirilen örnekler, darası önceden alınmış kurutma kaplarına eşit bir tabaka oluşturacak şekilde yayılmış ve 100–102 C’de 16–18 saat kurutulmuştur. Kurutma işleminin ardından örnekler desikatörde oda sıcaklığına kadar soğutularak tartılmıştır. Kurutma ncesi ve sonrası örnek ağırlıkları arasındaki fark esas alınarak nem içeriği hesaplanmış ve sonuçlar yüzde (%) olarak ifade edilmiştir (AOAC, 2005).

3.7.2 Kül Tayini

Pişmemiş köfte örneklerinin kül miktarı AOAC (1990) yöntemi esas alınarak belirlenmiştir. Analiz öncesinde porselen krezeler sabit tartıma getirilmiş ve daraları kaydedilmiştir. Homojen hâle getirilen pişmemiş köfte örneklerinden belirli miktarda tartılarak krezeler içerisine alınmıştır. Örnekler kül fırınına yerleştirilmeden önce herhangi bir kurutma veya ön yakma işlemi uygulanmamış ve örnekler doğrudan kül fırınına (Elektromag M1813, Türkiye) yerleştirilerek 550 ± 5 °C’de tamamen külleşinceye kadar yakılmıştır. Yakma işleminin ardından krezeler desikatörde oda sıcaklığına kadar soğutulmuş ve tartılmıştır. Kül miktarı, yakma işlemi sonrasında kalan inorganik kalıntının başlangıçtaki yağ örnek kütlelerine oranlanmasıyla hesaplanmış ve sonuçlar yağ temel üzerinden yüzde kül (%) olarak ifade edilmiştir (AOAC, 1990).

3.7.3 Ham Protein

Protein tayini sonucunda, pişmemiş köfte örneklerinin ham protein içerikleri Kjeldahl yöntemi esas alınarak hesaplanmıştır. Analizde yaklaşık 1 g örnek tartılmış, titrasyon sonucunda harcanan sarfiyat miktarı dikkate alınarak 0,1 N çözelti, 1,02 faktör değeri, 14,007 azot katsayısı ve 6,25 protein dönüşüm faktörü kullanılmıştır (AOAC, 1990).

$$\text{Protein (\%)} = [(\text{Sarfiyat} \times \text{Faktör} \times \text{Normalite} \times 14,007 \times 6,25) / (\text{Tartım} \times 10)]$$

Protein miktarı yukarıda verilen formüle göre hesaplanmıştır.

3.7.4 Ham Yağ

Yağ tayini, Soxhlet ekstraksiyon yöntemi esas alınarak gerçekleştirilmiştir. Homojen hale getirilen pişmemiş köfte örneklerinden 5 g alınarak selüloz kartuş içerisinde tartılmıştır. Hazırlanan kartuşlar Soxhlet ekstraksiyon düzeneğine yerleştirilmiş, ekstraksiyon çözücüsü olarak petrol eteri kullanılmıştır. Ekstraksiyon işlemi sonucunda balonlarda biriken çözücü uzaklaştırılmış ve kalan yağ miktarı gravimetrik olarak belirlenmiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda örneklerin yağ içeriği yüzde yağ % olarak hesaplanmıştır (AOAC 1990).

3.7.5 Doymuş Doymamış Yağ Asitleri

Köfte örneklerinin doymuş yağ, doymamış yağ, tekli doymamış yağ ve çoklu doymamış yağ içerikleri Türkiye için geliştirilen “Bilgisayar Destekli Beslenme Programı, Beslenme Bilgi Sistemi (BeBİS)” kullanılarak hesaplanmıştır. Bu amaçla, her bir köfte grubuna ait formülasyonda yer alan bileşenler ve miktarları programa ayrı ayrı girilmiş, bitkisel yağ ilavesi %16; hayvansal yağ içeriği %1 (yağsız sığır kıyma maksimum yağ içeriği) olacak şekilde tanımlanmıştır. Ayçiçek yağı, zeytinyağı ve keten tohumu yağı kullanılan örnekler için hesaplamalar ayrı gruplar halinde yapılmıştır (BeBİS-9.0).

Programdan elde edilen veriler doğrultusunda örneklerin doymuş yağ, tekli doymamış yağ ve çoklu doymamış yağ miktarları yüzde (%) olarak belirlenmiştir. Toplam doymamış yağ miktarı ise tekli doymamış yağ ve çoklu doymamış yağ değerlerinin toplamı olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmada verilen doymuş, tekli doymamış ve çoklu doymamış yağ asidi değerleri doğrudan deneysel yağ asidi analizi sonucu değil, ürün formülasyonu esas alınarak BEBİS (BeBİS-9.0) programı üzerinden hesaplanan tahmini besinsel değerler olarak değerlendirilmiştir (BeBİS-9.0).

3.7.6 Toplam Karbonhidrat

Karbonhidrat içeriği, fark yöntemi kullanılarak; nem, protein, yağ, kül ve formülasyona eklenen tuz miktarının toplamının 100'den çıkarılmasıyla hesaplanmıştır. Karbonhidrat değerleri % bileşimden gidilerek analizle bulunan nem, kül, protein, yağ ve tuz miktarlarının toplam değerinden 100 çıkartılarak hesaplanmıştır (FAO, 2003).

3.7.7 Toplam Enerji

Örneklerin enerji değerleri Atwater katsayıları metodu kullanılarak hesaplanmıştır (FAO, 2003).

$$[(\text{karbonhidrat} \times 4) + (\text{protein} \times 4) + (\text{yağ} \times 9)]$$

3.8 Malondialdehit (MDA) Tayini

3.8.1 HPLC Analizi İçin Numune Hazırlama

Köfte örnekleri, homojen bir yapı elde edilinceye kadar blender (Waring 8001 ES SET1) kullanılarak homojenize edilmiştir. Köfte örneklerinden 1 g alınarak 50 mL'lik bir santrifüj tüpüne konulup üzerine 40 mL metanol-su karışımı (80:20, v:v) ilave edilmiş ve 30 dakika boyunca orbital çalkalayıcıda çalkalanmıştır. Ardından örnekler 13.900 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Üst sıvı 0,45 µm membran filtreden geçirilerek HPLC analizine tabi tutulmuştur (Zhang ve ark., 2015).

3.8.2 Malondialdehit (MDA) Stok Çözeltisinin Hazırlanması

1,1,3,3-Tetrametoksipropan (TMP) malondialdehit stok çözeltisi hazırlamak için kullanılmıştır. 17 µL TMP alınarak 0.1 N HCl (10 mL) ile seyreltilmiş ve TMP'yi malondialdehite (MDA) dönüştürmek için 40 °C'de 60 dakika inkübe edilmiştir. Malondialdehit konsantrasyonu, 245 nm'de ($\epsilon = 13\,700\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$) absorbansı ölçülerek belirlenmiştir. Bu stok çözelti 4 °C 'de saklandı ve analiz için haftalık (7 gün) olacak şekilde taze olarak hazırlanmıştır (Zhang ve ark., 2015).

3.8.3 2-Tiyobarbitürik Asit Çözeltisinin Hazırlanması

%0.6 (w/v) tiyobarbitürik asit (TBA) çözeltisi, yaklaşık 80 mL saf su içerisinde 0.6 g TBA çözündürülerek ve 50–55 °C'ye ayarlanmış manyetik karıştırıcılı ısıtıcı üzerinde karıştırılarak hazırlanmıştır. Çözelti oda sıcaklığına soğutulduktan sonra hacmi saf su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır (Zhang ve ark., 2015).

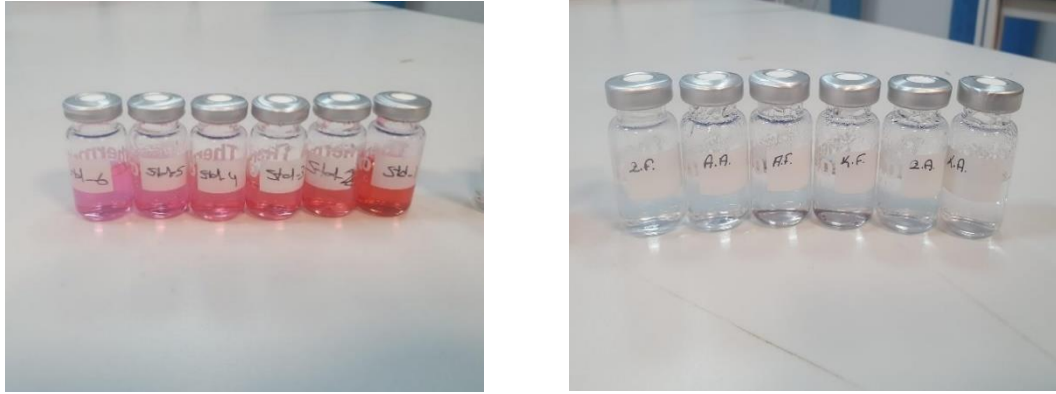
3.8.4 Örneklerin Türevlendirilmesi

HPLC ile analiz öncesinde örneklerin ve standartların TBA ile türevlendirilmesi yapılmıştır. Her bir örnekten 0.5 mL, 3 mL %1 (v/v) H₃PO₄ çözeltisi içeren cam tüplere alınmış ve üzerine 1.0 mL saf su ve 1.0 mL TBA reaktifi eklenmiştir. Protein çöktürülmesi amacıyla %3.86'lık perklorik asit çözeltisi hazırlanmış, bu çözeltiden her tüpe 0.6 mL ilave edilmiştir. Tüpler kapakları kapalı olarak 105 °C'ye ayarlanmış etüvde 1 saat inkübe edil-

miştir. İnkübasyon süresi sonunda tüpler etüvden çıkarılarak buzlu su ile hızla soğutulmuş, ardından karışımlar 0.45 µm membran filtreden geçirilmiş ve elde edilen filtratlar HPLC viallerine alınarak analize tabi tutulmuştur (Zhang ve ark., 2015).

3.8.5 Standart Çözeltilerin Hazırlanması ve Kalibrasyon

Örneklerin ölçümünde kullanılmak üzere MDA standartları aşağıdaki şekilde hazırlanmıştır. Öncelikle stok MDA çözeltisi hazırlamak için 17 µL TMP, 0.1 M HCl ile hacim 10 mL'ye tamamlanarak çözülmüştür. Bu stoktan 10 µL alınarak 0.1 M HCl ile 100 mL'ye tamamlanmış ve çalışma standart çözeltisi elde edilmiştir. Çalışma standart çözeltisinden yararlanılarak, seyreltici olarak 0.1 M HCl kullanılıp her biri toplam 750 µL olacak şekilde altı farklı standart hazırlanmıştır.

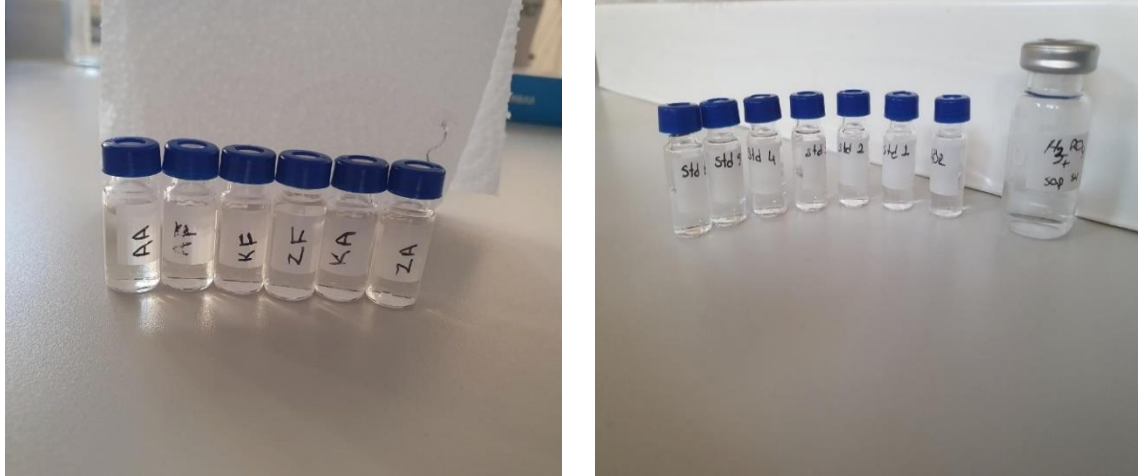


Şekil 3.4 Türevlendirilmesi Yapılmış Standart ve Örnekler

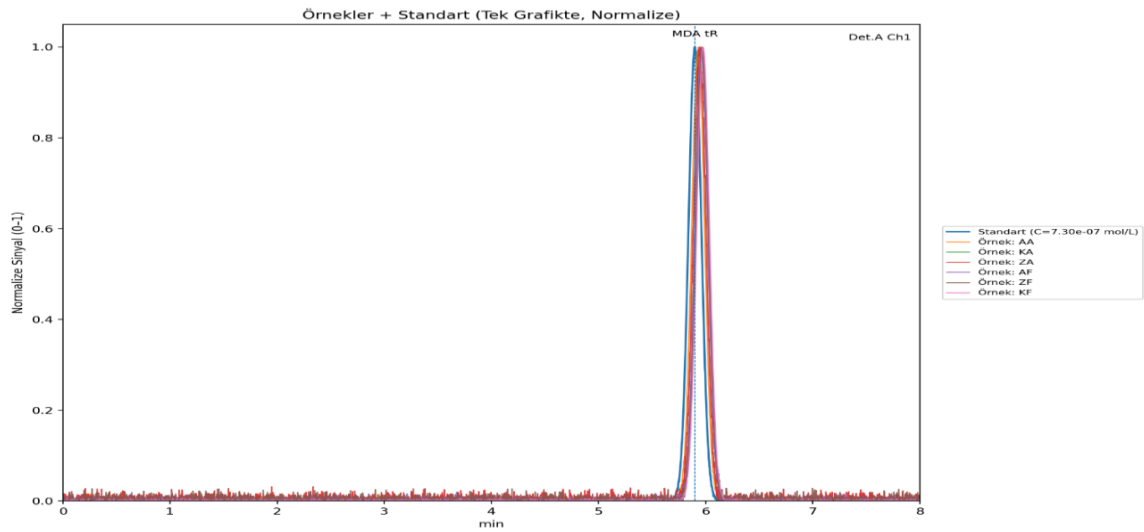
3.8.6 HPLC Koşulları

HPLC ile MDA tayini, floresan dedektör ile donatılmış HPLC sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Thermo Scientific Dionex UltiMate 3000, Thermo Fisher Scientific). Hareketli faz olarak çözücü A (asetonitril) ve çözücü B (saf su) kullanılmış ve doğrusal gradyan koşulları uygulanmıştır. Buna göre, 0–20 dakika arasında çözücü A'nın çözücü B içerisindeki oranı %5'ten %35'e yükseltilmiş ve akış hızı 1.0 mL/dakika olarak ayarlanmıştır. Tüm örnekler 0.45 µm gözenek çapına sahip membran filtreden geçirilmiş ve 25 µL enjeksiyon hacmi ile sisteme yüklenmiştir. Analizler, Waters Symmetry C18 (4.6 × 100 mm, 3.5 µm) kolonu ve C18 koruyucu kolon (5 µm, 3.9 × 20 mm) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. MDA'nın tespiti ve miktar tayini için floresans dedektöründe uyarma

dalga boyu 515 nm, emisyon dalga boyu ise 550 nm olarak belirlenmiştir. Belirtilen HPLC koşullarında MDA'nın tutulma süresi 11.3 dakika olarak belirlenmiştir (Zhang ve ark., 2015).



Şekil 3.5 Standart ve Örneklerin HPLC İçin Viallere Alınması



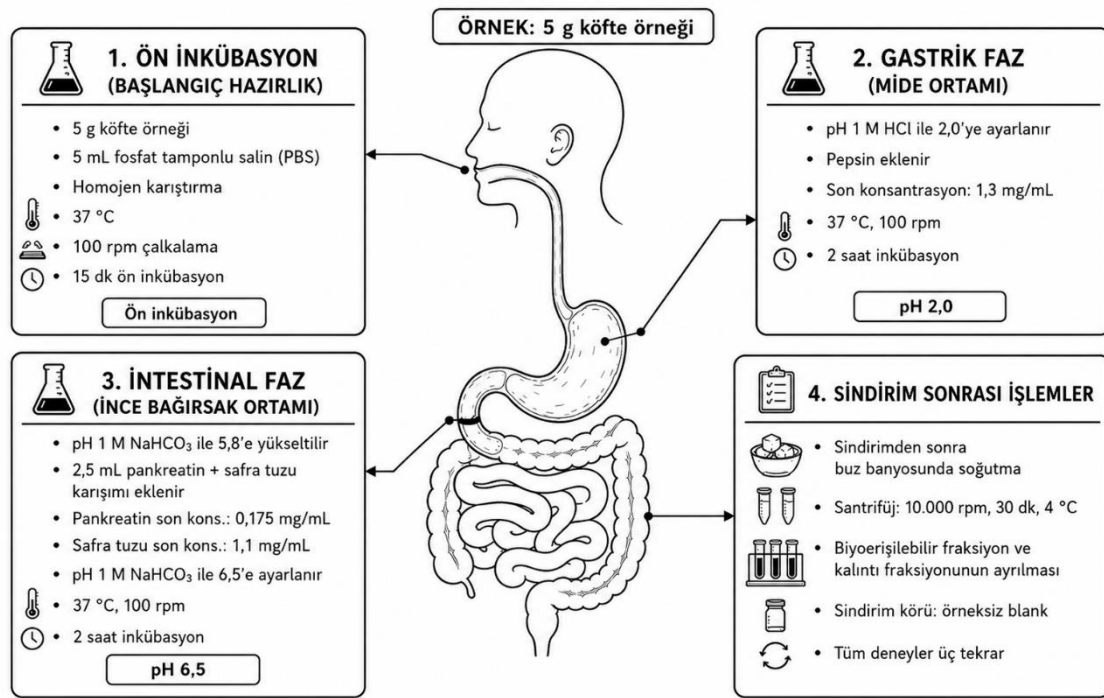
Şekil 3.6 Standartlar ve Örneklerin HPLC Kromatogramı

Kalibrasyon eğrisi, MDA standart çözeltilerine ait pik alanları ile standart konsantrasyonları arasındaki doğrusal ilişki esas alınarak oluşturulmuştur. Doğrusallık, en az beş farklı konsantrasyon düzeyinde hazırlanan standart çözeltilerin HPLC analizinden elde edilen

pik alanlarının konsantrasyona karşı grafiğe geçirilmesiyle değerlendirilmiştir. Kalibrasyon denklemi doğrusal regresyon analizi ile hesaplanmış ve korelasyon katsayısı/ R^2 değeri raporlanmıştır. Örneklerdeki MDA miktarı, elde edilen kalibrasyon denklemi kullanılarak hesaplanmış ve sonuçlar mg MDA/kg örnek olarak ifade edilmiştir (ICH, 2023; FDA, 2018).

3.9 İn Vitro Analiz

İn vitro gastrointestinal sindirim, Sessa ve ark. (2011) tarafından tanımlanan yöntem esas alınarak bazı modifikasyonlarla gerçekleştirilmiştir. Bu prosedür iki aşamalı olarak uygulanmıştır. İlk aşamada pepsin enzimi kullanılarak gastrik sindirim koşulları, ikinci aşamada ise safra tuzları/pankreatin kullanılarak intestinal sindirim koşulları simüle edilmiştir (Sessa ve ark., 2011; Ozkan ve ark., 2022).



Şekil 3.7 Sindirim Sistemi Simülasyonu

Ön inkübasyon: Sindirim işlemi öncesinde 5 g köfte örneği, 5 mL fosfat tamponlu salin (PBS) ile homojen şekilde karıştırılmıştır. Hazırlanan karışım, 37 °C'de ve 100 rpm çalkalama hızında 15 dakika süreyle ön inkübasyona tabi tutulmuştur (Sessa ve ark., 2011; Ozkan ve ark., 2022).

Gastrik faz: Mide sindirimini simüle etmek amacıyla ön inkübasyonu tamamlanan örneklerin pH'ı 1 M HCl kullanılarak 2.0'ye ayarlanmıştır. Ardından, karışımdaki son konsantrasyonu 1.3 mg/mL olacak şekilde domuz kaynaklı pepsin ilave edilmiştir. Örnekler, gastrik sindirim koşullarının oluşturulması amacıyla 37 °C'de ve 100 rpm çalkalama hızında 2 saat süreyle inkübe edilmiştir (Sessa ve ark., 2011; Ozkan ve ark., 2022).

İnce bağırsak fazı: Gastrik sindirim tamamlandıktan sonra oluşan mide içeriğinin pH'ı, 1 M NaHCO₃ kullanılarak 5.8'e yükseltilmiştir. Daha sonra karışıma 2.5 mL pankreatin-safra tuzu karışımı ilave edilerek pankreatin ve safra tuzlarının son konsantrasyonları sırasıyla 0.175 mg/mL ve 1.1 mg/mL olacak şekilde ayarlanmıştır. Enzim ve safra tuzlarının eklenmesinin ardından pH, 1 M NaHCO₃ kullanılarak 6.5'e ayarlanmıştır. Hazırlanan örnekler, intestinal sindirimin simüle edilmesi amacıyla 37 °C'de ve 100 rpm çalkalama hızında 2 saat süreyle inkübe edilmiştir (Sessa ve ark., 2011; Ozkan ve ark., 2022).

Sindirim sonrası işlemler: Gastrointestinal sindirim işleminin tamamlanmasının ardından enzimatik reaksiyonların sonlandırılması amacıyla örnekler derhal buz banyosunda soğutulmuştur. Daha sonra biyoerişilebilir fraksiyonun sindirilemeyen kalıntı fraksiyonundan ayrılması amacıyla örnekler 4 °C'de, 10.000 rpm'de 30 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonucunda elde edilen süpernatant biyoerişilebilir fraksiyon, çökelti ise kalıntı fraksiyonu olarak değerlendirilmiştir (Sessa ve ark., 2011; Ozkan ve ark., 2022).

Sindirim işleminde kullanılan enzim ve tampon çözeltilerinden kaynaklanabilecek olası girişimlerin ortadan kaldırılması amacıyla, örnek eklenmeksizin aynı gastrointestinal sindirim koşullarına tabi tutulan bir sindirim körü hazırlanmıştır. Tüm gastrointestinal sindirim uygulamaları üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.8 Sindirim Sonrası Elde Edilen Süpernatant/Biyoerişilebilir Fraksiyonlar

3.10 Biyoerişilebilirliğin hesaplanması

Gastrointestinal sindirim sırasında MDA'nın biyoerişilebilirliği, biyoerişilebilirlik indeksi (BI) kullanılarak hesaplanmıştır. BI, bağırsak fazında elde edilen biyoerişilebilir fraksiyondaki MDA konsantrasyonunun (CF), sindirim uygulanmamış köfte örneklerindeki başlangıç MDA konsantrasyonuna (CI) oranlanmasıyla belirlenmiştir (Ortega ve ark., 2011).

$$BI (\%) = 100 * CF / CI$$

3.11 İstatistiksel Analizler

Çalışmadan elde edilen veriler, IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) paket programı kullanılarak analiz edilmiştir.

Pişmemiş köfte örneklerinin protein, ham yağ, nem ve kül analizleri üç paralel olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma (Ort. $\pm$ SS) şeklinde ifade edilmiştir.

Yağ türü ve pişirme yönteminin MDA düzeyleri üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla iki yönlü varyans analizi (Two-Way ANOVA) uygulanmıştır. Analizde yağ türü (keten tohumu yağı, ayçiçek yağı ve zeytinyağı) ve pişirme yöntemi (hava fritözü ve fırın) bağımsız faktörler olarak ele alınmıştır. Sindirim öncesi MDA düzeyi, sindirim sonrası MDA düzeyi ve MDA biyoerişilebilirliği (%) ayrı ayrı bağımlı değişkenler olarak değerlendirilmiştir.

İki yönlü ANOVA ile yağ türünün ana etkisi, pişirme yönteminin ana etkisi ve yağ türü $\times$ pişirme yöntemi etkileşimi incelenmiştir. Yağ türüne ilişkin anlamlı ana etkinin saptandığı durumlarda gruplar arasındaki farklılıkların değerlendirilmesinde Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Etkileşim etkisinin anlamlı olduğu durumlarda, pişirme yönteminin etkisinin yağ türlerine göre değişebileceği dikkate alınarak sonuçlar ilgili grup ortalamaları ile birlikte değerlendirilmiştir.

Tüm istatistiksel analizlerde anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1 Pişmemiş köftelerin genel bileşimi

Farklı bitkisel yağlar kullanılarak hazırlanan pişmemiş köfte örneklerinin kimyasal bileşimlerine ilişkin bulgular sunulmuştur. Protein, ham yağ, nem ve kül analizleri üç paralel olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

Tablo 4.1 Pişmemiş Köftelerin Genel Bileşimi

Grup	Karbonhidrat (%)	Protein (%)	Ham Yağ (%)	Nem (%)	Kül (%)	Tuz (%)
Keten						
tohumu	9,17 $\pm$ 0,07	16,25 $\pm$ 0,05	16,68 $\pm$ 0,04	55,60 $\pm$ 0,10	2,30 $\pm$ 0,03	2,00
yağı (n-3)						
Ayçiçek						
yağı	10,11 $\pm$ 0,10	16,49 $\pm$ 0,04	16,40 $\pm$ 0,05	54,30 $\pm$ 0,10	2,70 $\pm$ 0,04	2,00
(n-6)						
Zeytinyağı						
(n-9)	10,79 $\pm$ 0,12	15,61 $\pm$ 0,06	17,10 $\pm$ 0,04	53,70 $\pm$ 0,10	2,80 $\pm$ 0,03	2,00

Keten tohumu yağı içeren köfte örneklerinde karbonhidrat miktarı %9.17, protein miktarı %16.25, ham yağ miktarı %16.68, nem miktarı %55.60 ve kül miktarı %2.30 olarak belirlenmiştir. Bu grup, incelenen örnekler içerisinde en yüksek nem içeriğine sahip grup olurken, karbonhidrat ve kül içeriği bakımından diğer gruplara kıyasla daha düşük değerlere sahip olmuştur.

Ayçiçek yağı içeren köfte örneklerinde karbonhidrat miktarı %10.11, protein miktarı %16.49, ham yağ miktarı %16.40, nem miktarı %54.30 ve kül miktarı %2.70 olarak saptanmıştır. Ayçiçek yağı grubunda belirlenen %16.49'luk protein değeri, incelenen üç grup arasındaki en yüksek protein düzeyini oluşturmuştur. Buna karşılık ham yağ içeriği %16.40 ile gruplar içerisindeki en düşük değer olarak belirlenmiştir.

Zeytinyağı içeren köfte örneklerinde ise karbonhidrat miktarı %10.79, protein miktarı %15.61, ham yağ miktarı %17.10, nem miktarı %53.70 ve kül miktarı %2.80 olarak bulunmuştur. Zeytinyağı içeren örnekler, %17.10 ile en yüksek ham yağ, %10.79 ile en yüksek hesaplanan karbonhidrat ve %2.80 ile en yüksek kül içeriğine sahip grup olarak belirlenmiştir. Buna karşılık bu grupta protein ve nem değerleri sırasıyla %15.61 ve %53.70 olup diğer gruplardan daha düşük bulunmuştur.

Gruplar genel olarak değerlendirildiğinde, ham yağ miktarlarının %16.40–17.10, protein miktarlarının %15.61–16.49, nem miktarlarının %53.70–55.60, kül miktarlarının %2.30–2.80 ve hesaplanan karbonhidrat miktarlarının %9.17–10.79 aralığında değiştiği görülmüştür. Bununla birlikte zeytinyağı grubunda ham yağ içeriğinin diğer gruplardan bir miktar yüksek, ayçiçek yağı grubunda ise daha düşük olduğu belirlenmiştir.

Nem içeriği açısından keten tohumu yağı grubunun en yüksek, zeytinyağı grubunun ise en düşük değere sahip olduğu görülmüştür. Nem miktarındaki bu farklılıklar, yüzde bileşim esasına göre ifade edilen diğer besin öğelerinin oranlarını da etkileyebilmektedir. Nitekim zeytinyağı grubunda nem oranının daha düşük olmasıyla birlikte ham yağ, kül ve hesaplanan karbonhidrat yüzdelerinin görece daha yüksek olduğu görülmüştür.

Analizlerin üç paralel olarak gerçekleştirilmesi sonucunda protein, ham yağ, nem ve kül değerlerine ait standart sapmaların düşük düzeyde olduğu görülmüştür. Bu durum, aynı grup içerisindeki paralel ölçümlerin birbirine yakın olduğunu ve analitik ölçümlerin tekrarlanabilirliğinin yüksek olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde, fark yöntemiyle hesaplanan karbonhidrat değerlerinde de paraleller arasında sınırlı değişkenlik gözlenmiştir.

Sonuç olarak, farklı yağ kaynaklarıyla hazırlanan köfte örneklerinin temel kimyasal bileşimlerinin genel olarak birbirine yakın olduğu; buna karşın kullanılan yağ türüne bağlı olarak özellikle ham yağ, nem, kül ve hesaplanan karbonhidrat düzeylerinde sınırlı sayısal farklılıklar olduğu belirlenmiştir.

4.2 Hazırlanan Pişmemiş Köftelerin Yağ Yüzdeleri

Farklı bitkisel yağlar kullanılarak hazırlanan köfte örneklerinin ham yağ, doymuş yağ, toplam doymamış yağ, tekli doymamış yağ (MUFA) ve çoklu doymamış yağ (PUFA)

içerikleri sunulmuştur (Tablo 4.2). Ham yağ miktarı üç paralel Soxhlet analizi sonucunda belirlenmiş ve ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edilmiştir. Doymuş yağ, toplam doymamış yağ, MUFA ve PUFA miktarları ise örneklerin formülasyonu esas alınarak BE-BİS (BeBİS-9.0) programı aracılığıyla hesaplanmıştır.

Tablo 4.2. Hazırlanan Pişmemiş Köftelerin Yağ Yüzdeleri

Grup	Ham yağ (%)	Doymuş Yağ (%)	Doymamış Yağ (%)	Tekli Doymamış Yağ (%)	Çoklu Doymamış Yağ (%)
Keten					
Tohumu yağı (n-3)	16.68 $\pm$ 0.04	3.44	13.24	4.5	8.74
Ayçiçek Yağı (n-6)	16.40 $\pm$ 0.05	3.23	11.18	4.97	6.21
Zeytinyağı (n-9)	17.10 $\pm$ 0.04	3.86	12.11	10.82	1.29

Keten tohumu yağı içeren köfte örneklerinde ham yağ miktarı %16.68 olarak belirlenmiştir. Bu grupta doymuş yağ miktarı %3.44, toplam doymamış yağ miktarı %13.24, MUFA miktarı %4.50 ve PUFA miktarı %8.74 olarak hesaplanmıştır. PUFA miktarının MUFA miktarından 4.24 yüzde puan daha yüksek olduğu belirlenmiş ve keten tohumu yağı grubu, incelenen üç grup içerisinde en yüksek PUFA içeriğine sahip grup olmuştur.

Ayçiçek yağı içeren köfte örneklerinde ham yağ miktarı %16.40 olarak saptanmış ve bu değer gruplar arasındaki en düşük ham yağ düzeyini oluşturmuştur. Bu grupta doymuş yağ miktarı %3.23, toplam doymamış yağ miktarı %11.18, MUFA miktarı %4.97 ve PUFA miktarı %6.21 olarak hesaplanmıştır. PUFA miktarının MUFA miktarından 1.24 yüzde puan daha yüksek olduğu görülmüş; PUFA içeriği keten tohumu yağı grubundan 2.53 yüzde puan daha düşük, zeytinyağı grubundan ise 4.92 yüzde puan daha yüksek bulunmuştur.

Zeytinyağı içeren köfte örneklerinde ham yağ miktarı %17.10 ile gruplar arasındaki en yüksek değere sahip olmuştur. Bu grupta doymuş yağ miktarı %3.86, toplam doymamış

yağ miktarı %12.11, MUFA miktarı %10.82 ve PUFA miktarı %1.29 olarak hesaplanmıştır. Zeytinyağı grubu özellikle MUFA içeriği bakımından diğer gruplardan ayrılmış; MUFA miktarı keten tohumu yağı grubundan 6.32, ayçiçek yağı grubundan ise 5.85 yüzde puan daha yüksek bulunmuştur. Buna karşılık %1.29'luk PUFA içeriği ile gruplar arasındaki en düşük değere sahip olmuştur.

Gruplar ham yağ içerikleri açısından karşılaştırıldığında değerlerin %16.40–17.10 arasında değiştiği ve en yüksek ile en düşük değer arasındaki farkın yalnızca 0.70 yüzde puan olduğu görülmüştür. Ham yağ miktarlarının birbirine yakın olmasına karşın yağ asidi sınıflarının dağılımı kullanılan yağ türüne göre belirgin farklılık göstermiştir. PUFA içeriği keten tohumu yağı, ayçiçek yağı ve zeytinyağı gruplarında sırasıyla %8.74, %6.21 ve %1.29 olarak belirlenirken; MUFA içeriği aynı gruplarda sırasıyla %4.50, %4.97 ve %10.82 olarak hesaplanmıştır. Buna göre keten tohumu yağı grubu PUFA, zeytinyağı grubu ise MUFA bakımından en yüksek içeriğe sahip olmuştur. Ayçiçek yağı grubu ise MUFA ve PUFA dağılımı bakımından bu iki grup arasında yer almıştır.

Doymuş yağ miktarları gruplar arasında daha dar bir aralıkta değişmiş; keten tohumu yağı, ayçiçek yağı ve zeytinyağı gruplarında sırasıyla %3.44, %3.23 ve %3.86 olarak hesaplanmıştır. En yüksek ve en düşük doymuş yağ miktarı arasındaki fark 0.63 yüzde puan olarak belirlenmiştir. Genel olarak köfte gruplarının toplam yağ miktarları birbirine yakın olmakla birlikte, özellikle MUFA ve PUFA dağılımlarının kullanılan bitkisel yağ türüne bağlı olarak farklılaştığı görülmüştür. Bu farklılıklar, çalışmanın devamında değerlendirilen lipid oksidasyonu ve MDA düzeylerinin yorumlanması açısından grupların başlangıç yağ kompozisyonunu ortaya koymaktadır.

Tabloda yer alan MUFA, PUFA, doymuş ve toplam doymamış yağ değerleri BEBİS (BEBİS-9.0) programından hesaplanan değerler olduğundan bu parametreler için standart sapma verilmemiş; standart sapma yalnızca üç paralel laboratuvar analizi ile belirlenen ham yağ miktarları için gösterilmiştir.

4.3 Köfte Örneklerinin Pişirme Kaybı, Ham Yağ İçeriği ve Yağ Retansiyonu

Farklı yağ türleri kullanılarak hazırlanan ve hava fritözü veya fırında pişirilen köfte örneklerinin pişmiş ağırlıkları, pişirme kayıpları, pişirme sonrası ham yağ içerikleri ve hesaplanan yağ retansiyonu değerleri Tablo 4.3'te sunulmuştur. Yağ retansiyonu hesaplamalarında kullanılan pişmemiş örneklere ait ham yağ değerleri ise Tablo 4.3'de verilmiştir.

Tablo 4.3. Pişirme yöntemi ve yağ türüne göre köftelerin ağırlık kaybı, ham yağ içeriği ve yağ retansiyonu

Yağ türü	Pişirme yöntemi	Pişmiş ağırlık (g)	Pişirme kaybı (%)	Pişmiş ham yağ (%)	Yağ retansiyonu (%)
Keten tohumu yağı	Hava fritözü	22.50 ± 0.59	25.00 ± 1.97	11.56 ± 0.01	51.98 ± 1.36
Keten tohumu yağı	Fırın	20.00 ± 0.27	33.33 ± 0.90	12.93 ± 0.04	51.68 ± 0.72
Ayçiçek yağı	Hava fritözü	25.00 ± 0.18	16.67 ± 0.60	11.57 ± 0.03	58.79 ± 0.45
Ayçiçek yağı	Fırın	21.50 ± 0.73	28.33 ± 2.43	13.70 ± 0.21	59.87 ± 2.23
Zeytinyağı	Hava fritözü	23.50 ± 0.71	21.67 ± 2.37	11.20 ± 0.28	51.31 ± 2.01
Zeytinyağı	Fırın	21.00 ± 0.21	30.00 ± 0.70	12.13 ± 0.05	49.65 ± 0.54

Pişirme işlemi sonrasında tüm örneklerde ağırlık kaybı meydana gelmiş ve pişirme kaybı oranlarının yağ türü ile uygulanan pişirme yöntemine göre değiştiği görülmüştür. Hava fritözünde pişirilen örneklerde pişirme kaybı keten tohumu yağı grubunda %25.00, ayçiçek yağı grubunda %16.67 ve zeytinyağı grubunda %21.67 olarak belirlenmiştir. Fırında pişirilen örneklerde ise bu oranlar sırasıyla %33.33, %28.33 ve %30.00 olarak saptanmış-

tır. Her üç yağ grubunda da fırında pişirmenin hava fritözünde pişirmeye göre daha yüksek pişirme kaybıyla sonuçlandığı görülmüştür. En yüksek pişirme kaybı %33.33 ile keten tohumu yağı içeren ve fırında pişirilen köftelerde, en düşük pişirme kaybı ise %16.67 ile ayçiçek yağı içeren ve hava fritözünde pişirilen köftelerde belirlenmiştir.

Pişirme sonrasında örneklerin total yağ içerikleri %11.20 ile %13.70 arasında değişmiştir. Keten tohumu yağı içeren köftelerde total yağ oranı hava fritözünde %11.56, fırında ise %12.93 olarak belirlenmiştir. Ayçiçek yağı içeren örneklerde bu değerler sırasıyla %11.57 ve %13.70, zeytinyağı içeren örneklerde ise %11.20 ve %12.13 olarak saptanmıştır. Tüm yağ gruplarında fırında pişirilen örneklerin total yağ oranlarının hava fritözünde pişirilen örneklerden daha yüksek olduğu görülmüştür. Pişmiş örnekler arasında en yüksek total yağ oranı %13.70 ile ayçiçek yağı–fırın grubunda, en düşük oran ise %11.20 ile zeytinyağı–hava fritözü grubunda belirlenmiştir.

Yağ retansiyonu açısından değerlendirildiğinde, keten tohumu yağı içeren örneklerde hava fritözü ve fırın uygulamalarında sırasıyla %51.98 ve %51.68 değerleri elde edilmiş ve iki pişirme yöntemi arasında oldukça yakın sonuçlar gözlenmiştir. Ayçiçek yağı grubunda yağ retansiyonu hava fritözünde %58.79, fırında ise %59.87 olarak belirlenmiş ve her iki yöntemde de diğer yağ gruplarına göre daha yüksek değerler elde edilmiştir. Zeytinyağı içeren örneklerde ise yağ retansiyonu hava fritözünde %51.31, fırında %49.65 olarak saptanmıştır. Genel olarak değerlendirildiğinde, pişirme yöntemi pişirme kaybı ve pişmiş ürünün total yağ oranında belirgin sayısal farklılıklar oluştururken, yağ retansiyonunun yağ türüne bağlı olarak farklı bir dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Özellikle ayçiçek yağı içeren örneklerin her iki pişirme yönteminde de yağın ürün içerisinde tutulması açısından daha yüksek retansiyon değerlerine sahip olduğu görülmüştür.

4.4 Köfte Örneklerinin MDA Düzeyleri ve Biyoerişilebilirliği

Keten tohumu (omega-3), ayçiçek yağı (omega-6) ve zeytinyağı (omega-9) gruplarına ait fırın ve hava fritözü uygulamaları sonrasında belirlenen sindirim öncesi, sindirim sonrası ve biyoerişilebilirlik değerleri verilmiştir (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Köfte Örneklerinin Sindirim Öncesi ve Sonrası MDA Miktarları ve Biyoerişilebilirliği

Yağ grubu	Piştirme yöntemi	Sindirim öncesi MDA mg/100 g	Sindirim sonrası MDA mg/100 g	Biyoerişilebilirlik %
Keten tohumu yağı	Hava fritözü	0,869 ± 0,226 ^a	1,521 ± 0,441 ^a	174,9 ± 5,7 ^a
Keten tohumu yağı	Fırın	1,171 ± 0,281 ^a	2,149 ± 0,602 ^a	183,2 ± 7,9 ^a
Ayçiçek yağı	Hava fritözü	0,521 ± 0,167 ^b	0,739 ± 0,274 ^b	142,3 ± 8,0 ^b
Ayçiçek yağı	Fırın	0,680 ± 0,204 ^b	1,121 ± 0,381 ^b	165,6 ± 7,3 ^a
Zeytinyağı	Hava fritözü	0,430 ± 0,150 ^b	0,191 ± 0,097 ^c	44,4 ± 8,2 ^c
Zeytinyağı	Fırın	0,691 ± 0,193 ^b	0,219 ± 0,105 ^c	31,8 ± 7,0 ^c

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir (n=3). Aynı sütunda farklı üst simge harfleri taşıyan gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır (Tukey HSD, $p<0,05$).

Tablo 4.5. Yağ türü ve piştirme yönteminin MDA düzeyleri ve MDA biyoerişilebilirliği üzerine etkisi

Etki	Sindirim öncesi MDA	Sindirim sonrası MDA	MDA biyoerişilebilirliği
Yağ türü	0,004*	<0,001*	<0,001*
Piştirme yöntemi	0,030*	0,067	0,086
Yağ türü × piştirme yöntemi	0,831	0,388	0,005*

Değerler iki yönlü varyans analizi (Two-Way ANOVA) sonucunda elde edilen p değerleridir. $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Farklı yağ türleri kullanılarak hazırlanan ve hava fritözü veya fırında pişirilen köfte örneklerinin sindirim öncesi ve sindirim sonrası MDA düzeyleri ile MDA biyoerişilebilirlik oranları Tablo 4.4'te gösterilmiştir. Yağ türü ve piştirme yönteminin bu değişkenler üzerindeki ana etkileri ile yağ türü × piştirme yöntemi etkileşimine ilişkin iki yönlü varyans analizi sonuçları ise Tablo 4.5'te sunulmuştur.

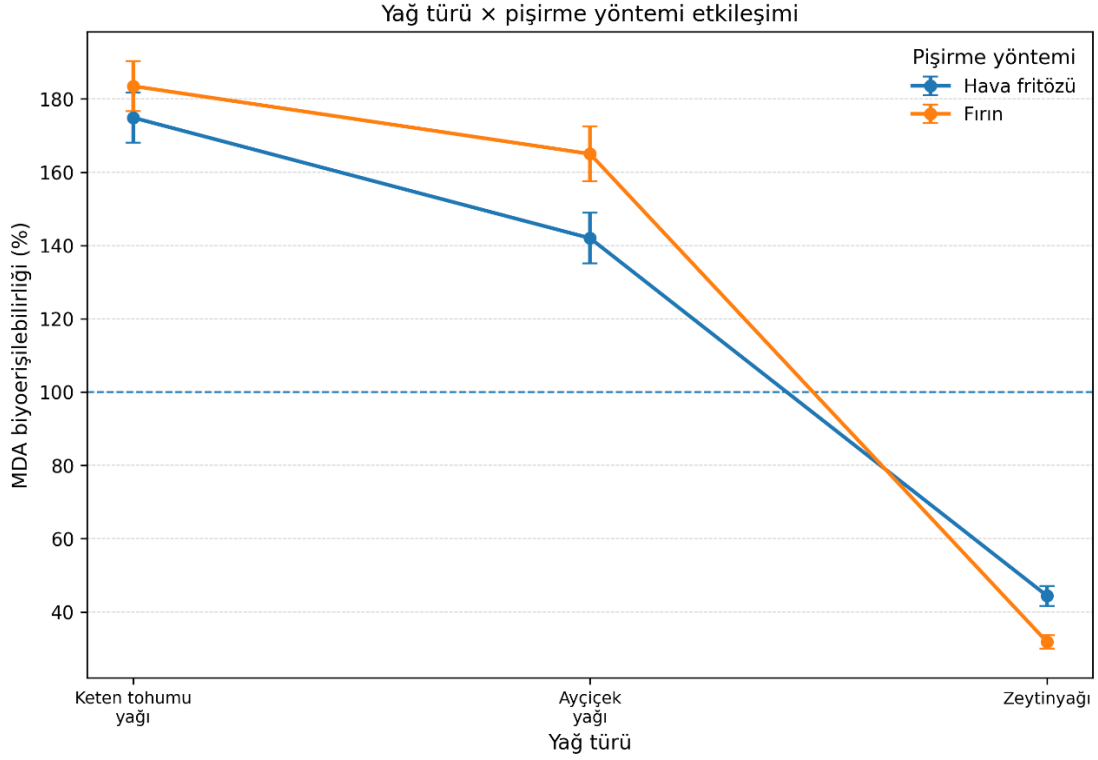
Sindirim öncesi MDA düzeyleri incelendiğinde, keten tohumu yağı içeren örneklerde MDA düzeyi hava fritözünde 0.869 mg/100 g, fırında ise 1.171 mg/100 g olarak belirlenmiştir. Ayçiçek yağı içeren örneklerde bu değerler hava fritözü ve fırın için sırasıyla 0.521 mg/100 g ve 0.680 mg/100 g olarak saptanmıştır. Zeytinyağı içeren örneklerde ise sindirim öncesi MDA düzeyleri hava fritözünde 0.430 mg/100 g, fırında 0.691 mg/100 g olarak bulunmuştur. Sindirim öncesi en yüksek MDA düzeyi fırında pişirilen keten tohumu yağı içeren örneklerde, en düşük MDA düzeyi ise hava fritözünde pişirilen zeytinyağı içeren örneklerde belirlenmiştir. İki yönlü varyans analizi sonucunda sindirim öncesi MDA düzeyi üzerinde yağ türünün ($p=0.004$) ve pişirme yönteminin ($p=0.030$) ana etkilerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir. Buna karşılık yağ türü $\times$ pişirme yöntemi etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.831$). Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre, keten tohumu yağı içeren hava fritözü ve fırın grupları aynı istatistiksel grupta yer alırken, ayçiçek yağı ve zeytinyağı içeren gruplardan anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p<0.05$). Ayçiçek yağı ve zeytinyağı içeren örneklerin sindirim öncesi MDA düzeyleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Sindirim sonrası MDA düzeyleri değerlendirildiğinde, keten tohumu yağı içeren örneklerde MDA düzeyi hava fritözünde 1.521 mg/100 g, fırında ise 2.149 mg/100 g olarak belirlenmiştir. Ayçiçek yağı içeren örneklerde sindirim sonrası MDA düzeyleri hava fritözü ve fırın için sırasıyla 0.739 mg/100 g ve 1.121 mg/100 g olarak saptanmıştır. Zeytinyağı içeren örneklerde ise bu değerler sırasıyla 0.191 mg/100 g ve 0.219 mg/100 g olarak bulunmuştur. Sindirim sonrası en yüksek MDA düzeyi fırında pişirilen keten tohumu yağı içeren örneklerde, en düşük MDA düzeyi ise hava fritözünde pişirilen zeytinyağı içeren örneklerde belirlenmiştir. Sindirim sonrası MDA düzeyi üzerinde yağ türünün ana etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$). Buna karşılık pişirme yönteminin ana etkisi ($p=0.067$) ve yağ türü $\times$ pişirme yöntemi etkileşimi ($p=0.388$) istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Tukey HSD çoklu karşılaştırma sonuçlarına göre, keten tohumu yağı içeren grupların sindirim sonrası MDA düzeyleri en yüksek istatistiksel grubu oluştururken, ayçiçek yağı içeren gruplar daha düşük, zeytinyağı içeren gruplar ise en düşük istatistiksel grupta yer almıştır. Buna göre keten tohumu

yağı, ayçiçek yağı ve zeytinyağı içeren örneklerin sindirim sonrası MDA düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunduğu belirlenmiştir ($p<0.05$).

MDA biyoerişilebilirliği değerlendirildiğinde, keten tohumu yağı içeren örneklerde biyoerişilebilirlik hava fritözünde %174.9, fırında ise %183.2 olarak belirlenmiştir. Ayçiçek yağı içeren örneklerde MDA biyoerişilebilirliği hava fritözünde %142.3, fırında ise %165.6 olarak saptanmıştır. Zeytinyağı içeren örneklerde ise MDA biyoerişilebilirliği hava fritözünde %44.4, fırında %31.8 olarak bulunmuştur. En yüksek MDA biyoerişilebilirliği fırında pişirilen keten tohumu yağı içeren örneklerde, en düşük MDA biyoerişilebilirliği ise fırında pişirilen zeytinyağı içeren örneklerde belirlenmiştir. İki yönlü varyans analizi sonucunda MDA biyoerişilebilirliği üzerinde yağ türünün ana etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$). Pişirme yönteminin ana etkisi ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.086$). Bununla birlikte, yağ türü $\times$ pişirme yöntemi etkileşiminin MDA biyoerişilebilirliği üzerinde istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($p=0.005$). Tukey HSD çoklu karşılaştırma sonuçlarına göre, keten tohumu yağı–hava fritözü (%174.9), keten tohumu yağı–fırın (%183.2) ve ayçiçek yağı–fırın (%165.6) grupları aynı istatistiksel grupta yer almış ve bu gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). Ayçiçek yağı–hava fritözü grubunun MDA biyoerişilebilirliği (%142.3) bu gruplardan anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p<0.05$). Zeytinyağı–hava fritözü (%44.4) ve zeytinyağı–fırın (%31.8) grupları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$). Her iki zeytinyağı grubunun MDA biyoerişilebilirlik değerleri keten tohumu yağı ve ayçiçek yağı içeren gruplardan anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p<0.05$).

Genel olarak değerlendirildiğinde, yağ türünün sindirim öncesi MDA düzeyi, sindirim sonrası MDA düzeyi ve MDA biyoerişilebilirliği üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir faktör olduğu belirlenmiştir. Pişirme yönteminin ana etkisi yalnızca sindirim öncesi MDA düzeyi açısından anlamlı bulunurken, sindirim sonrası MDA düzeyi ve MDA biyoerişilebilirliği üzerinde anlamlı bir ana etki saptanmamıştır. Ayrıca MDA biyoerişilebilirliği açısından yağ türü ile pişirme yöntemi arasında anlamlı bir etkileşim bulunması, pişirme yönteminin MDA biyoerişilebilirliği üzerindeki etkisinin kullanılan yağ türüne göre farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur.



Şekil 4.1. Yağ Türü × Piştirme Yöntemi Etkileşim Grafiğı

Şekil 4.1’te MDA biyoerişilebilirliğı üzerinde yağ türü ve piştirme yöntemi arasındaki etkileşim gösterilmiştir. Keten tohumu yağı ve ayçiçek yağı gruplarında fırın uygulamasının hava fritözüne göre daha yüksek MDA biyoerişilebilirliğı oluşturduğu görülmektedir. Buna karşılık zeytinyağı grubunda ters bir eğilim ortaya çıkmış; hava fritöz uygulamasında MDA biyoerişilebilirliğı fırın uygulamasına göre daha yüksek bulunmuştur. Bu farklı yönlü eğilim, MDA biyoerişilebilirliğinin yalnızca piştirme yöntemine bağlı olmadığını, kullanılan yağın yağ asidi profili ve olası antioksidan bileşenleriyle birlikte değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada; farklı yağ asidi sahip bitkisel yağlar kullanılarak formüle edilen köfte örneklerinde, pişirme yöntemleri ve yağ türlerinin MDA oluşumuna etkileri ile in vitro gastrointestinal sindirim sonrası MDA biyoerişilebilirliği üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.

5.1 Yağ Türünün MDA Üzerindeki Etkisi

Malondialdehit, özellikle çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif parçalanması sonucunda oluşan ikincil lipid oksidasyon ürünlerinden biridir. Bu nedenle kullanılan yağın doymamışlık derecesi arttıkça MDA oluşum potansiyelinin de artması beklenmektedir (Bulur ve ark., 1995).

Yağ grupları karşılaştırıldığında, sindirim sonrası en yüksek MDA düzeyleri keten tohumu yağı içeren köftelerde belirlenmiştir. Keten tohumu yağı grubunda gözlenen yüksek MDA düzeyleri, bu yağın alfa-linolenik asit bakımından zengin ve çoklu doymamış yağ asidi oranının yüksek olmasıyla ilişkilendirilebilir. Keten tohumu yağı grubunda doymamış yağ oranı %13.24 ve çoklu doymamış yağ oranı %8.74 olarak belirlenmiştir (Tablo 4.2). Bu değerler, keten tohumu yağının oksidasyona duyarlı bir lipid matriksi oluşturduğunu desteklemektedir. Elfeky ve arkadaşları (2024), keten tohumu yağında alfa-linolenik asidin %55.34 oranında baskın yağ asidi olduğunu bildirmiştir. Alfa-linolenik asit, omega-3 yağ asidi zenginleştirmesi açısından değerli bir bileşen olmakla birlikte, çift bağ sayısının fazla olması nedeniyle ısı, ışık ve oksijene karşı duyarlı bir yapı göstermektedir (Al-Madhagy ve ark., 2023). Domuz etiyle yapılan bir çalışmada da keten tohumu diyetiyle omega-3 çoklu doymamış yağ asidi içeriğinin arttığı, ancak pirzola örneklerinde oksidatif stabilitenin azaldığı bildirilmiştir (Guillevic ve ark., 2009). Bu bulgular, çalışmamızda keten tohumu yağı içeren köftelerde gözlenen yüksek MDA oluşumunu desteklemektedir.

Ayçiçek yağı grubu, MDA oluşumu açısından keten tohumu yağı ile zeytinyağı arasında yer almıştır. Ayçiçek yağı, omega-6 yağ asitleri ve özellikle linoleik asit bakımından zen-

gin bir yağdır. Elfeky ve arkadaşları (2024), ayçiçek yağında linoleik asidin %53.33 oranında baskın yağ asidi olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada ayçiçek yağı içeren köftelerde sindirim öncesi MDA düzeyi hava fritözünde 0.521 mg/100 g, fırında ise 0.680 mg/100 g olarak belirlenmiştir. Sindirim sonrası MDA düzeyi hava fritözünde 0.739 mg/100 g'a, fırında ise 1.121 mg/100 g'a yükselmiştir. Biyoerişilebilirlik değerleri hava fritözünde %142.3, fırında ise %165.6 olarak hesaplanmıştır. Ayçiçek yağı grubunda MDA'nın sindirim sonrası artması, linoleik asit bakımından zengin lipid fraksiyonunun sindirim koşullarında daha fazla serbestleşmesi veya oksidatif yıkım ürünlerinin ölçülebilir hâle gelmesiyle açıklanabilir. Linoleik asit gibi omega-6 yağ asitlerinin oksidasyonu sonucunda MDA'nın yanı sıra HNE gibi reaktif aldehytler de oluşabilmektedir (Guéraud ve ark., 2010). Hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda, ayçiçek yağı gibi çoklu doymamış yağ asidi içeriği yüksek yağların plazma, karaciğer ve damar çeperinde lipid peroksidasyonunu artırabildiği; zeytinyağı gibi tekli doymamış yağ asitlerinden zengin yağların ise bu etkiyi daha sınırlı gösterdiği bildirilmiştir (Bulur ve ark., 1995).

Zeytinyağı grubundaki düşük MDA biyoerişilebilirliği, bu yağın oleik asit ağırlıklı tekli doymamış yağ asidi yapısı ve olası doğal antioksidan bileşenleriyle ilişkilendirilebilir. Tablo 4.2'de zeytinyağı grubunda tekli doymamış yağ oranı %10.82 ile en yüksek, çoklu doymamış yağ oranı ise %1.29 ile en düşük düzeyde bulunmuştur. Oleik asit, linoleik ve alfa-linolenik asit gibi çoklu doymamış yağ asitlerine göre oksidasyona daha dirençlidir (Min ve Ahn, 2005). Ayrıca zeytinyağı fenoliklerinin lipid peroksidasyonunu baskılayıcı ve LDL oksidasyonuna karşı koruyucu etkileri çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Marrugat ve ark., 2004; Deiana ve ark., 2010). DeJong ve Lanari (2009) de zeytin kaynaklı fenolik ekstraktların pişmiş et ürünlerinde lipid stabilitesini artırabildiğini ve TBARS oluşumunu azaltabildiğini bildirmiştir. Bununla birlikte, bu çalışmada kullanılan zeytinyağının fenolik madde ve tokoferol içeriği analiz edilmemiştir. Bu durum, zeytinyağı grubunda tespit edilen düşük MDA biyoerişilebilirliğinin doğrudan antioksidan bileşenlere dayandırılmasını sınırlandırmaktadır. Bununla birlikte, zeytinyağının düşük çoklu doymamış yağ asidi içeriği ve oleik asit baskın yapısı, söz konusu matraste sindirim esnasında MDA oluşumunun sınırlı kalmasında birincil etken olarak değerlendirilebilir.

Genel olarak değerlendirildiğinde, sindirim sonrası MDA düzeyi ve biyoerişilebilirlik açısından en yüksek değerler keten tohumu yağı grubunda, en düşük değerler ise zeytin yağı grubunda belirlenmiştir. Keten tohumu yağı omega-3 yağ asitleri bakımından fonksiyonel bir katkı sağlamakla birlikte, yüksek çoklu doymamış yağ asidi içeriği nedeniyle oksidatif açıdan en duyarlı yağ grubu olarak öne çıkmıştır. Ayçiçek yağı omega-6 yağ asitleri bakımından zengin olması nedeniyle orta düzeyde oksidatif davranış göstermiştir. Zeytinyağı ise yüksek tekli doymamış yağ asidi ve düşük çoklu doymamış yağ asidi içeriğiyle daha sınırlı MDA oluşumu ve biyoerişilebilirliği göstermiştir. Bu sonuçlar, fonksiyonel et ürünü geliştirilirken yalnızca omega yağ asidi içeriğinin değil, oksidatif stabilitenin de dikkate alınması gerektiğini göstermektedir.

5.2 Pişirme Kaybı ve Yağ Retansiyonunun Değerlendirilmesi

Bu çalışmada farklı bitkisel yağlarla hazırlanan köfte örneklerinde ısıl işlem sonrasında total yağ miktarlarının pişmemiş örneklere göre azaldığı belirlenmiştir. Pişmemiş örneklerde %16.40–17.10 arasında değişen total yağ miktarı, pişirme sonrasında %11.20–13.70 aralığına gerilemiştir. Benzer bir bulgu Şişlioğlu (2012) tarafından incelenen köfte örneklerinde de bildirilmiştir. Söz konusu çalışmada üç farklı köfte örneğinde çiğ halde %16.72–18.36 arasında olan lipit miktarlarının pişirme sonrasında %13.35–15.67 düzeylerine gerilediği belirlenmiştir. Mevcut çalışmadaki pişmemiş köftelerin total yağ miktarlarının yaklaşık %16–17 düzeyinde olması, Şişlioğlu'nun köfte örnekleriyle benzer başlangıç yağ içeriğine sahip olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde Ansorena ve Astiasarán (2024), kıyılmış et köftelerinde pişirme sonrasında yağ miktarının çiğ örneklere kıyasla azaldığını bildirmiştir.

Pişirme sonrasında total yağ miktarında meydana gelen azalma, ısıl işlem sırasında et matriksinde gerçekleşen yapısal değişikliklerle ilişkilendirilebilir. Isı uygulaması miyofibriler proteinlerde denatürasyona ve kas liflerinde büzülmeye neden olmakta; bunun sonucunda protein yapısı içerisinde tutulan suyun bir bölümü serbestleşerek üründen uzaklaşmaktadır. Purslow ve ark. (2016), sığır etinde pişirme sıcaklığının yükselmesiyle kas liflerinde meydana gelen yapısal büzülmenin sıvı kaybıyla ilişkili olduğunu göstermiştir. Benzer şekilde Vaskoska ve ark. (2021), protein denatürasyonundaki değişimin incelenen kaslarda pişirme kaybındaki değişkenliğin önemli bir bölümünü açıklayabildiğini bildirmiştir. Bununla birlikte pişirme sırasında meydana gelen yağ azalması yalnızca

su kaybına bağılı göreceli bir değişim olarak değerlendirilmemelidir. Isıl işlemle birlikte yağ dokusunun erimesi ve lipit fazının akışkanlığının artması, yağın köfte matriksinden ayrılarak damlama veya sızıntı yoluyla pişirme ortamına geçmesine neden olabilmektedir. Şişlioğlu (2012) da köfte örneklerindeki lipit azalmasını, suyun buharlaşmasının yanı sıra yağ fazının ısıyla daha akışkan hâle gelerek ürün yapısından uzaklaşmasıyla açıklamıştır. Dolayısıyla mevcut çalışmada pişmiş köftelerde belirlenen total yağ azalmasının, pişirme sırasında üründen uzaklaşan suya eşlik eden yağ kaybı ve eriyen yağın doğrudan ürün matriksinden ayrılması sonucunda ortaya çıktığı düşünülmektedir.

Bununla birlikte pişirme kaybı ile yağ kaybının birbirinden ayrılarak değerlendirilmesi gerekmektedir. Pişirme kaybı yalnızca yağ kaybını değil; başta su olmak üzere yağ, çözünen proteinler, mineraller ve diğer bileşenlerin pişirme sırasında üründen uzaklaşması sonucu meydana gelen toplam kütle kaybını ifade etmektedir. Dilek ve Babaoğlu (2025) da köftelerde pişirme kaybını toplam sıvı kaybı üzerinden tanımlamış ve yüksek pişirme kaybının özellikle daha yüksek nem kaybıyla ilişkili olduğunu belirtmiştir. Şişlioğlu (2012) tarafından da et ürünlerinde pişirme sırasındaki ağırlık azalmasının büyük ölçüde nem kaybindan, daha düşük oranda ise yağ kaybindan kaynaklandığı ifade edilmiştir. Bununla birlikte yağın ısıl işlem sonucunda eriyerek üründen ayrılması ve pişirme ortamına geçmesi de toplam kütle kaybına doğrudan katkıda bulunmaktadır. Bu nedenle mevcut çalışmada belirlenen pişirme kaybının önemli bir bölümünün su kaybindan kaynaklandığı, ancak yağın pişirme sırasında eriyerek ve akışkan hâle gelerek üründen uzaklaşmasının da toplam ağırlık kaybına katkı sağlayan önemli bir unsur olduğu değerlendirilmektedir.

Pişirme yöntemleri açısından değerlendirildiğinde, fırın ve hava fritözünün farklı ısı ve kütle transfer koşulları oluşturması hem nem kaybını hem de yağın ürün içerisinde tutulmasını etkileyebilmektedir. Mevcut çalışmada her üç yağ grubunda da fırında pişirilen örneklerin pişirme kaybı hava fritözünde pişirilen örneklerden daha yüksek bulunmuştur. Pişirme kaybı hava fritözünde %16.67–25.00 arasında değişirken, fırında %28.33–33.33 arasında belirlenmiştir. Dilek ve Babaoğlu (2025), Tekirdağ köftelerinde fırın, hava fritöz, ızgara ve sous-vide yöntemlerini karşılaştırmış ve pişirme kaybını fırında %41.45, hava fritözünde ise %39.65 olarak belirlemiştir. Her iki yöntemde de yüksek pişirme

kaybı gözlenmiş ve araştırmacılar artan pişirme kaybını özellikle nemin üründen uzaklaşmasıyla ilişkilendirmiştir. Bu bulgular, pişirme yönteminin toplam kütle kaybı üzerinde etkili olabileceğini ve pişirme kaybının yalnızca üründen uzaklaşan yağ miktarı üzerinden değerlendirilmemesi gerektiğini desteklemektedir.

Yağ retansiyonu açısından ise pişirme yöntemlerinin etkisi yağ türlerine göre farklılık göstermiştir. Pişirme sırasında sıcaklığın etkisiyle kas proteinlerinin denatüre olması ve kas dokusunun büzülmesi, köfte içerisinde bulunan su ve yağın serbestleşmesine neden olmaktadır. Serbestleşen yağ, eriyerek ürünün iç kısmından yüzeye doğru çıkmaktadır ve buradan pişirme ortamına geçmektedir. Fırında pişirme sırasında yüzeye çıkan yağın bir kısmı köfteden sızarak veya damlayarak fırın tepsisine geçebilir, bir kısmı ise pişirme sırasında açığa çıkan su ile birlikte pişirme sıvısı içerisinde birikebilmektedir. Hava fritözünde ise benzer şekilde eriyerek yüzeye çıkan yağ köfteden ayrılarak sepetin delikli yapısından alt hazneye damlayabilir, güçlü sıcak hava dolaşımı da bu durumu daha da kolaylaştırabilmektedir. Bu nedenle her iki pişirme yönteminde de yağın üründen uzaklaşması, pişmiş köftede kalan toplam yağ miktarının ve yağ retansiyonunun azalmasına neden olabilmektedir. Bununla birlikte pişirme sırasında eş zamanlı olarak meydana gelen su kaybı, ürünün toplam ağırlığını azalttığından, yağ miktarındaki değişimin değerlendirilmesinde yalnızca yüzde yağ değerinin değil, pişirme kaybı ve yağ retansiyonunun da birlikte dikkate alınması gerekmektedir. Keten tohumu yağı içeren köftelerde yağ retansiyonu hava fritözünde %51.98 ve fırında %51.68 ile birbirine oldukça yakın bulunmuştur. Ayçiçek yağı grubunda bu değerler sırasıyla %58.79 ve %59.87 olarak belirlenirken, zeytinyağı grubunda hava fritözünde %51.31 ve fırında %49.65 olarak saptanmıştır. Bu sonuçlar, fırında daha yüksek toplam pişirme kaybı gözlenmesine rağmen yağ kaybının aynı yönde ve aynı büyüklükte gerçekleşmediğini göstermektedir. Başka bir ifadeyle, toplam ağırlık kaybındaki artışın doğrudan daha fazla yağ kaybı anlamına gelmediği; su kaybının yanı sıra kullanılan yağın özellikleri ve pişirme sırasında yağın üründen ayrılma davranışının da yağ retansiyonunu etkilediği görülmektedir.

Selçuk ve ark. (2026), sığır etinde sıcak hava hızının ve sıcaklığın artmasına bağlı olarak yağ içeriği ile yağ tutma kapasitesinin azalabildiğini, ayrıca su kaybının arttığı koşullarda lipidlerin de ürün yapısından uzaklaşabildiğini bildirmiştir. Hava fritözünde yüksek hızlı sıcak hava dolaşımı ürün yüzeyinde hızlı ısı ve kütle transferi oluştururken, cihazın delikli

sepet yapısı ısıtıl işlemle akışkan hâle gelen ve köfte matriksinden ayrılan yağın alt hazneye süzülerek ürünle yeniden temasını sınırlandırabilir. Fırında ise üründen ayrılan yağın pişirme yüzeyinde köftenin çevresinde daha uzun süre bulunabilmesi söz konusu olabilir. Bununla birlikte mevcut çalışmada yağ retansiyonunun pişirme yöntemine göre tüm yağ gruplarında aynı yönde değişmemesi, bu mekanizmanın tek başına yeterli bir açıklama olmadığını ve yağ türünün özelliklerinin de dikkate alınması gerektiğini göstermektedir. Dolayısıyla pişirme kaybı ve yağ retansiyonu birlikte değerlendirildiğinde, ısıtıl işlem sırasında gerçekleşen su kaybı ile yağın ürün matriksinden fiziksel olarak uzaklaşmasının birbirinden ilişkili ancak farklı süreçler olduğu söylenebilir.

5.3 Isıl İşlemin Lipid Peroksidasyonuna Etkisi

Isıl işlem et ve et ürünlerinde lipid oksidasyonunun gelişimini belirleyen temel faktörlerden biridir. Pişirme sırasında hücre membranlarının ve kas dokusunun yapısının bozulması, membran fosfolipitlerinin oksidasyona açık hale gelmesi, prooksidan bileşenlerin serbestleşmesi ve doymamış yağ asitlerinin oksijenle temasının artması lipid hidroperoksitlerinin oluşumunu hızlandırmakta; bu hidroperoksitlerin parçalanması sonucunda MDA gibi ikincil oksidasyon ürünleri meydana gelmektedir. Pişirme tekniği, sıcaklık ve özellikle sıcaklığa maruz kalma süresi bu sürecin şiddetini belirlemektedir (Min ve Ahn, 2005; Domínguez ve ark., 2019).

Bu çalışmada pişirme yönteminin sindirim öncesi MDA düzeyi üzerindeki ana etkisinin anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p=0.030$). Her üç yağ türünde de fırında pişirilen örneklerin ortalama MDA değerleri hava fritözünde pişirilen örneklerden daha yüksek bulunmuştur. Keten tohumu yağında MDA düzeyi hava fritözünde 0.869 mg/100 g iken fırında 1.171 mg/100 g; ayçiçek yağında sırasıyla 0.521 ve 0.680 mg/100 g; zeytinyağında ise 0.430 ve 0.691 mg/100 g olarak belirlenmiştir. Buna karşılık yağ türü $\times$ pişirme yöntemi etkileşiminin sindirim öncesi MDA için anlamlı bulunmaması ($p=0.831$), pişirme yönteminin başlangıç MDA düzeyi üzerindeki genel etkisinin belirli bir yağ türüyle sınırlı olmadığını göstermektedir.

Mevcut çalışmada fırın ve hava fritözü uygulamaları 200 °C'de gerçekleştirilmiş olmakla birlikte pişirme süreleri birbirinden farklıdır; fırın uygulaması 20 dakika, hava fritözü uy-

gulaması ise 10 dakika sürmüştür. Bu nedenle fırında elde edilen daha yüksek MDA düzeyleri, aynı sıcaklığa karşın köftelerin yüksek sıcaklık ve oksijen içeren ortama daha uzun süre maruz kalmasıyla ilişkilendirilebilir. Lipid oksidasyonunun yalnızca uygulanan sıcaklıktan değil, sıcaklık ve sürenin birlikte oluşturduğu toplam termal yükten etkilendiği; daha kısa ve homojen ısıtma süreçlerinin lipid hasarını azaltabildiği bildirilmektedir (Liu ve ark., 2023).

Hava fritözü, yüksek sıcaklıktaki havanın hızlı sirkülasyonu yoluyla gıdaya yoğun konvektif ısı transferi sağlamakta ve bu özellik hedef iç sıcaklığa daha kısa sürede ulaşılmasına olanak verebilmektedir (Zaghi ve ark., 2019; Wang ve ark., 2023). Bununla birlikte hava fritözünün lipid oksidasyonunu tamamen önleyen bir pişirme yöntemi olmadığı, yüksek sıcaklıkta hava ile temasın omega-3 yağ asitlerinde kayba ve farklı ikincil oksidasyon ürünlerinin oluşumuna neden olabileceği de bildirilmektedir (Ferreira ve ark., 2017). Bu nedenle mevcut çalışmadaki daha düşük MDA değerleri hava fritözünün mutlak olarak “oksidasyon oluşturmayan” bir yöntem olduğunu değil, uygulanan 200 °C/10 dakika koşulunun 200 °C/20 dakika fırın uygulamasına göre daha düşük toplam oksidatif yük oluşturduğunu düşündürmektedir.

Bu durum et ve balık ürünlerinde daha hızlı ısı aktarımı sağlayan pişirme teknolojileriyle yapılan çalışmalarla da desteklenmektedir. Konveksiyonel fırın ile aşırı ısıtılmış buhar fırınının karşılaştırıldığı bir çalışmada daha hızlı ve etkin ısı transferi sağlayan sistemde hamburger, sığır eti, domuz eti ve somonda TBARS düzeyleri konveksiyonel fırından daha düşük bulunmuştur (Amaral ve ark., 2018). Benzer şekilde hava jetli yüksek hızlı konveksiyonla pişirmede daha kısa pişirme süresi ve daha düşük kümülatif termal yükün sığır ve tavuk etinde lipid oksidasyonunu sınırlayabildiği bildirilmiştir (Selçuk ve ark., 2026).

Pişirme sırasında yağ asitlerinin doymamışlık derecesi de oksidatif yanıtı önemli ölçüde değiştirmektedir. Han ve ark. (2023), tavuk yağından elde edilen doymuş ve doymamış yağ fraksiyonlarını 140 °C'de 1 ve 2 saat ısıtma işlemine tabi tutmuş ve başlangıçta doymamış yağ fraksiyonunun TBARS değerinin 1.18 mg MDA/kg yağ, doymuş yağ fraksiyonunun ise 0.21 mg MDA/kg yağ olduğunu belirlemiştir. Isıl işlem süresi uzadıkça her iki fraksiyonda da TBARS değerleri anlamlı olarak artmış, ancak doymamış yağ fraksiyonundaki değerler 1 ve 2 saatlik ısıtmanın her ikisinde de doymuş fraksiyondan anlamlı olarak daha

yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Araştırmacılar bu farklılığı doymamış yağ asitlerinin ısıtılma işlem koşullarında oksidasyona daha yatkın olmasıyla açıklamıştır. Bu durum, mevcut çalışmada özellikle yüksek PUFA içeriğine sahip keten tohumu yağlı köftelerde fırın sonrasında en yüksek sindirim öncesi MDA değerinin elde edilmesini açıklamaktadır. Aynı zamanda fırın uygulamasında daha uzun ısıtılma maruziyetinin özellikle PUFA bakımından zengin yağ fraksiyonlarında MDA oluşumunu artırmış olabileceği düşünülmektedir. Nitekim mevcut çalışmada sindirim öncesi MDA üzerinde pişirme yönteminin anlamlı etkisi bulunmuş ($p=0.030$) ve en yüksek MDA değeri omega-3 PUFA bakımından zengin keten tohumu yağı içeren fırın grubunda 1.171 mg/100 g olarak belirlenmiştir.

Sindirim sonrası MDA açısından ise fırın gruplarının ortalamaları keten tohumu ve ayçiçek yağlarında hava fritözünden daha yüksek olmakla birlikte pişirme yönteminin ana etkisi istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır ($p=0.067$). Yağ türü $\times$ pişirme yöntemi etkileşimi de sindirim sonrası MDA için anlamlı değildir ($p=0.388$). Bu nedenle sindirim sonrası mutlak MDA düzeyi bakımından fırın uygulamasında daha yüksek bir sayısal eğilim bulunduğu, ancak gastrointestinal sindirim tamamlandığında MDA düzeyini belirleyen baskın faktörün pişirme yönteminden çok yağ türü olduğu söylenebilir.

Bu sonuç aynı zamanda pişirme sırasında oluşmuş oksidatif durumun sindirim sırasında yeniden şekillendiğini göstermektedir. Başka bir ifadeyle pişirme MDA oluşumunun başlangıç noktasını belirlerken, gastrointestinal ortamda yağın doymamışlık derecesi, hem bileşikler, sindirim sıvıları ve antioksidan kapasite gibi faktörler devreye girerek nihai MDA düzeyini belirlemektedir. Pişirme ve gastrointestinal sindirimin birlikte değerlendirildiği tavuk burgerlerinde de MDA, karbonil ve Schiff bazı oluşumunun sindirim sonrasında arttığı gösterilmiştir (Sobral ve ark., 2020).

TBARS/MDA ölçümlerinin yorumlanmasında analitik yöntemin özellikleri de dikkate alınmalıdır. TBARS yöntemi tiyobarbitürik asit ile reaksiyona giren bileşikler ölçtüğünden yalnızca MDA'ya özgü değildir; gıda matriksindeki bazı aldehitler, şeker parçalanma ürünleri, protein oksidasyon ürünleri ve diğer reaktif bileşikler de sonuca katkı verebilir (Singh ve ark., 2014). Bununla birlikte, MDA'nın TBA ile türevlendirilerek HPLC ile belirlenmesi, spektrofotometrik TBARS yöntemine göre daha seçici bir analitik yaklaşım sağlamaktadır (Moselhy ve ark., 2013). Bu nedenle bu çalışmada elde edilen MDA değerleri lipid oksidasyonunun güçlü bir göstergesi olarak değerlendirilmekle birlikte, et

matriksindeki tüm oksidatif değişimleri tek başına açıklayan bir parametre olarak ele alınmamalıdır.

Sonuç olarak, bu çalışmada pişirme yöntemi ile yağ türü arasında belirgin bir etkileşim olduğu görülmüştür. Fırın uygulaması, özellikle keten tohumu yağı ve ayçiçek yağı gibi çoklu doymamış yağ asitlerinden zengin gruplarda daha yüksek MDA oluşumu ve biyo-erişilebilirliği ile ilişkilendirilmiştir. Hava fritözü ise daha kısa pişirme süresi nedeniyle bazı gruplarda oksidatif reaksiyonların ilerlemesini sınırlamış olabilir. Ancak hava fritözünün etkisi kullanılan yağ türü, ürün matriksi, pişirme süresi ve sıcaklıkla birlikte değerlendirilmelidir. Bu nedenle fonksiyonel yağ asitleriyle zenginleştirilmiş et ürünlerinde yalnızca yağ seçimi değil, uygun pişirme yönteminin belirlenmesi de oksidatif kalite açısından önem taşımaktadır.

5.4 Sindirim Kanalında Oksidasyon ve Etin Yapısındaki Bozunma

Gastrointestinal sindirim süreci lipid oksidasyonu açısından pasif bir ortam değildir. Sindirim sırasında lipitler düşük mide pH'sı, çözülmüş oksijen, safra tuzları, pankreatik lipaz, metal iyonları ve et matriksinden serbestleşen hem-demir gibi prooksidan bileşiklerle karşılaşmaktadır. Bu koşullar, pişirme sırasında oluşan hidroperoksitlerin parçalanmasına, MDA gibi aldehitlerin serbestleşmesine veya sindirim boyunca yeni oksidatif ürünlerin oluşmasına neden olabilir (Lavado ve ark., 2021).

Bu çalışmada MDA düzeyi yalnızca pişirme sonrasında değil, *in vitro* gastrointestinal sindirim sonrasında da değerlendirilmiştir. Uygulanan sindirim modelinde gastrik faz pH 2.0 koşullarında gerçekleştirilmiş, intestinal faza geçişte pH önce 5.8'e yükseltilmiş ve pankreatin-safra tuzu karışımının eklenmesinin ardından pH 6.5'e ayarlanmıştır. Gastrik ve intestinal fazlarda değişen pH koşulları, enzim aktivitesi ve safra tuzlarının etkisiyle köfte matriksindeki lipid ve protein yapıları parçalanmakta; yağ asitleri, oksidasyon ürünleri ve matrikse bağlı bileşikler daha erişilebilir hale gelmektedir. Bu nedenle sindirim sonrası MDA ölçümü, yalnızca pişirme sırasında oluşan oksidatif ürünleri değil, tüketim sonrası sindirim koşullarında oluşabilecek oksidatif aldehit yükünü de değerlendirmeye olanak sağlamaktadır.

Özellikle gastrik ortam lipid oksidasyonu açısından önemlidir. Düşük pH koşullarında hemoproteinlerin yapısında değişiklik meydana gelebilmekte, hem grubu proteinden ayrılabilen ve serbest hemin lipid peroksidasyonunu katalizleyebilmesini sağlamaktadır. Wu ve ark. (2022), sığır ve alabalık hemoglobininin statik *in vitro* gastrointestinal sindirimi sırasında gastrik asidifikasyonun hemoglobinin yapısal bozunmasını ve hem kaybını artırdığını; hemoglobin varlığının MDA, HHE ve HNE oluşumunu güçlü biçimde yükselttiğini göstermiştir (Wu ve ark., 2022).

Mevcut çalışmada dana kıyma kullanılması bu mekanizma açısından önem taşımaktadır. Dana eti kaynaklı hem-demir ile keten tohumu ve ayçiçek yağından gelen oksidasyona duyarlı PUFA'ların aynı matrikste bulunması, gastrointestinal ortamda yeni lipid peroksidasyon reaksiyonları için uygun bir sistem oluşturmuş olabilir. Steppeler ve ark. (2016) de etin gastrointestinal sindirimi sırasında MDA, HNE ve HHE oluşumunun devam ettiğini ve doymamış yağ miktarı arttıkça aldehit oluşumunun yükseldiğini göstermiştir.

Keten tohumu yağı içeren köftelerde sindirim öncesinden sindirim sonrasına MDA düzeyi hava fritözünde 0.869'dan 1.521 mg/100 g'a, fırında ise 1.171'den 2.149 mg/100 g'a yükselmiştir. Ortalama değerler üzerinden değerlendirildiğinde artış yaklaşık olarak sırasıyla %75 ve %84 düzeyindedir. Ayçiçek yağında da hava fritözünde MDA 0.521'den 0,739 mg/100 g'a, fırında ise 0.680'den 1.121 mg/100 g'a yükselmiş ve yaklaşık %42 ve %65 oranlarında artış göstermiştir. Bu belirgin yükselişler, sindirimin yalnızca önceden oluşmuş MDA'yı serbestleştirmede, aynı zamanda gastrointestinal koşullarda yeni MDA oluşumunun devam ettiğini göstermektedir.

Bu sonuç et ürünleri üzerinde gerçekleştirilen sindirim çalışmalarında gözlenen bulgularla uyumludur. Sobral ve ark. (2020), tavuk burgerlerinde farklı pişirme uygulamalarından sonra gerçekleştirilen gastrointestinal sindirim sonucunda MDA, protein karbonilleri ve Schiff bazlarının arttığını bildirmiştir. Steppeler ve ark. (2016) ise pişmiş sığır, domuz, tavuk ve somon etlerinin sindirimi sırasında lipid kaynaklı aldehit oluşumunun devam ettiğini göstermiştir (Steppeler ve ark., 2016).

Sabuncular ve ark. (2025) tarafından sığır ve tavuk etlerinin *in vitro* gastrointestinal sindiriminin incelendiği güncel çalışmada da HPLC ile ölçülen MDA'nın sindirim koşullarından belirgin biçimde etkilendiği ve antioksidan bileşenlerin sindirim sırasında MDA

oluşumunu önemli ölçüde azaltabildiği gösterilmiştir. Bu sonuç, gastrointestinal ortamda MDA oluşumunun dinamik bir süreç olduğunu ve sindirim ortamının bileşimine göre artırılabilirdiğini veya baskılanabildiğini ortaya koymaktadır.

Azqueta ve ark. (2026) tarafından domuz ve tavuk burgerlerinde yapılan çalışmada gastrointestinal sindirim sonrasında bütün örneklerde lipid oksidasyonunun anlamlı şekilde arttığı ve artışın özellikle fırında pişirilen burgerlerde belirgin olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar ayrıca oksidasyon ürünlerinin biyolojik olarak erişilebilir fraksiyonda residual fraksiyona göre daha yüksek olduğunu göstermiştir (Azqueta ve ark., 2026). Bu bulgu, mevcut çalışmada gastrointestinal sindirim sonrasında keten tohumu ve ayçiçek yağı gruplarında gözlenen yüksek MDA düzeylerinin fizyolojik açıdan dikkate değer olduğunu desteklemektedir.

Literatürde et ve et ürünlerinde *in vitro* sindirim sonrası MDA/TBARS değerlerinin artabildiği bildirilmiştir. Sığır ve domuz eti temelli yemeklerde *in vitro* sindirim sonrası TBARS değerlerinin genel olarak arttığını ve bu artışın bazı örneklerde %31 ile %609 arasında değiştiğini belirtilmiştir. Aynı çalışmada kavrulmuş domuz köftesinde MDA değerinin sindirim öncesi 4.65 mg/kg iken sindirim sonrası 33.01 mg/kg'a yükseldiği bildirilmiştir (Ariz-Hernandez ve ark., 2025). Benzer şekilde Lavado ve arkadaşları (2021), kuru kürlenmiş et örneklerinde *in vitro* gastrointestinal sindirim sırasında konjuge dien, MDA ve protein karbonil düzeylerinin arttığını; tiol düzeylerinin ise azaldığını bildirmiştir. Bu sonuçlar, sindirim sürecinin yalnızca mekanik ve enzimatik parçalanmadan ibaret olmadığını, aynı zamanda lipid ve protein oksidasyon reaksiyonlarının da devam ettiği kimyasal olarak aktif bir süreç olduğunu göstermektedir.

Sindirim sırasında gerçekleşen lipid oksidasyonu yalnızca lipid fraksiyonuyla sınırlı değildir; oluşan reaktif aldehytler et proteinleriyle de etkileşebilmektedir. MDA iki reaktif karbonil grubuna sahip olduğundan proteinlerin özellikle lizin kalıntılarındaki amino gruplarıyla reaksiyona girebilmekte, karbonil–amin bağları ve Schiff bazı oluşumuna yol açabilmektedir. Bu reaksiyonlar proteinlerin yapısal özelliklerini, agregasyon durumunu ve enzimatik sindirilebilirliğini değiştirebilmektedir (Yin ve ark., 2022).

Yin ve ark. (2022), MDA'nın sığır miyofibriler proteinleri üzerindeki doğrudan etkisini incelemiş ve artan MDA konsantrasyonlarının protein karbonilasyonu ile Schiff bazı oluşumunu artırdığını, miyofibriler proteinlerin agregasyonuna neden olduğunu ve hem gastrik hem de toplam gastrointestinal protein sindirilebilirliğini anlamlı biçimde azalttığını göstermiştir. Proteomik analizde özellikle miyozin kuyruğunun MDA saldırısına duyarlı olduğu ve lizin kalıntılarının temel modifikasyon bölgeleri arasında yer aldığı belirlenmiştir.

Çalışmamızda da keten tohumu ve ayçiçek yağlarında sindirim sonrasında yüksek MDA düzeylerinin ortaya çıkması yalnızca lipid oksidasyonunun bir göstergesi olarak değerlendirilmemelidir. Yüksek reaktif aldehit yükü aynı zamanda protein oksidasyonu, protein-lipid çapraz reaksiyonları ve kas proteinlerinin yapısal değişimleri açısından da önem taşımaktadır. Nitekim farklı hayvan kaslarının gastrointestinal sindiriminde lipid oksidasyon göstergeleri ile protein karbonilasyonu arasında ilişki bulunduğu gösterilmiştir (Van Hecke ve De Smet, 2021). Böylece lipid oksidasyonu ile protein bozunmasının sindirim sırasında birbirinden bağımsız değil, birbiriyle bağlantılı süreçler olduğu söylenebilmektedir.

Zeytinyağı grubunda farklı bir tablo ortaya çıkmıştır. MDA düzeyi hava fritözünde sindirim öncesindeki 0.430 mg/100 g'dan 0.191 mg/100 g'a, fırında ise 0.691 mg/100 g'dan 0.219 mg/100 g'a düşmüştür. Ortalama değerler üzerinden bu azalma sırasıyla yaklaşık %56 ve %68 düzeyindedir. Bu durum zeytinyağının oleik asitten zengin, oksidasyona daha dirençli yağ asidi profiliyle uyumludur. Zeytinyağı ile birlikte et sindiriminde MDA oluşumunun azaldığını gösteren Tirosh ve ark. (2015) ile zeytinyağı polifenollerinin sığır eti sindiriminde MDA, HNE ve HHE oluşumunu baskıladığını gösteren Han ve ark. (2022) bulguları mevcut sonucu güçlü biçimde desteklemektedir (Tirosh ve ark., 2015; Han ve ark., 2022).

Bu sonuçlar gastrointestinal sindirim sırasında MDA oluşumunun başlangıç MDA konsantrasyonuna bağlı basit bir salınım süreci olmadığını göstermektedir. Aynı sindirim koşullarında keten tohumu ve ayçiçek yağlarında MDA artarken zeytinyağında azalması; yağ asidi kompozisyonunun sindirim sürecindeki yeni oksidatif reaksiyonların yönünü belirleyen temel faktörlerden biri olduğunu ortaya koymaktadır.

5.5 Malondialdehit Biyoerişilebilirliği ve Yağ Türü × Pişirme Yöntemi Etkileşimi

Bu çalışmada MDA biyoerişilebilirliği üzerinde yağ türünün etkisi ileri düzeyde anlamlı bulunmuştur ($p<0.001$). Keten tohumu yağı içeren köftelerde MDA biyoerişilebilirliği hava fritözünde %174.9, fırında %183.2 olarak belirlenmiştir. Ayçiçek yağında bu değerler sırasıyla %142.3 ve %165.6, zeytinyağında ise %44.4 ve %31.8 olarak bulunmuştur. Sonuçlar, gastrointestinal sindirim sonrasında ölçülebilir MDA yükünün yağ türüne bağlı olarak çok farklı düzeylere ulaştığını göstermektedir.

Keten tohumu ve ayçiçek yağlarında biyoerişilebilirliğin %100'ün üzerinde bulunması, sindirim sonrası MDA miktarının sindirim öncesindeki miktarı aştığını göstermektedir. Bu durum yalnızca pişirme sırasında oluşmuş MDA'nın gıda matriksinden serbestleşmesiyle açıklamamak gereklidir. Gastrointestinal sindirim sırasında lipidlerin emülsifiye olması, lipaz aktivitesi sonucunda lipid yapısının değişmesi, oksidasyona duyarlı yağ asitlerinin açığa çıkması ve hem-demir gibi prooksidanların etkisiyle yeni lipid peroksidasyon reaksiyonlarının meydana gelmesi, sindirim sırasında MDA oluşumuna neden olabilmektedir (Steppeler ve ark., 2016; Nieva-Echevarría ve ark., 2018).

PUFA'dan zengin yağların gastrointestinal ortamda yüksek oksidasyona duyarlılık göstermesi farklı deneysel modellerde de gösterilmiştir. Omega-3 bakımından zengin morina karaciğeri yağının *in vitro* sindiriminde TBARS oluşumunun hem gastrik hem de intestinal fazda arttığı ve hemoglobin ilavesinin oksidasyonu daha da hızlandırdığı bildirilmiştir (Larsson ve ark., 2012). Steppeler ve ark. (2016) tarafından et modellerinde doymamış yağ miktarının yükselmesiyle sindirim sırasında aldehit oluşumunun artması da mevcut çalışmada keten tohumu yağında elde edilen %174.9–183.2 düzeyindeki biyoerişilebilirliği desteklemektedir (Steppeler ve ark., 2016).

Buna karşılık zeytinyağı grubunda biyoerişilebilirliğin %44.4 ve %31.8 düzeylerinde kalması, sindirim sırasında yeni MDA oluşumunun baskın hale gelmediğini ve ölçülebilir MDA miktarının başlangıç düzeyinin altında kaldığını göstermektedir. Tirosh ve ark. (2015) tarafından oleik asitten zengin zeytinyağının kırmızı etin gastrik ortamda lipid peroksidasyonunu belirgin biçimde azaltması ve Han ve ark. (2022) tarafından zeytin poli-

fenollerinin yüksek yağlı sığır etinin sindiriminde MDA oluşumunu inhibe etmesi, mevcut çalışmada zeytinyağı grubunda gözlenen düşük biyoerişilebilirlik değerleriyle uyumludur.

Bu çalışmada pişirme yönteminin sindirim öncesi MDA düzeyi üzerindeki ana etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p=0.030$). Buna karşılık, sindirim sonrası MDA düzeylerinde pişirme yönteminin ana etkisi istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmamıştır ($p=0.067$). Bu bulgular birbiriyle çelişmemekte; pişirme yönteminin MDA düzeyleri üzerindeki etkisinin sindirim öncesi ve sindirim sonrası aşamalarda farklılık gösterebildiğine işaret etmektedir. Başka bir ifadeyle, pişirme koşullarına bağlı olarak başlangıçta oluşan MDA farklılıklarının gastrointestinal sindirim sürecinde meydana gelen oksidatif reaksiyonlar ve matriks değişiklikleri sonucunda kısmen değişebileceği düşünülmektedir.

Malondialdehit biyoerişilebilirliği açısından değerlendirildiğinde ise yağ türü $\times$ pişirme yöntemi etkileşiminin anlamlı bulunması ($p=0.005$), pişirme yönteminin etkisinin kullanılan yağ türüne bağlı olarak değiştiğini göstermektedir. Buna karşılık, pişirme yönteminin tek başına ana etkisinin anlamlı bulunmaması ($p=0.086$), tüm yağ grupları birlikte değerlendirildiğinde hava fritözü ve fırın arasında biyoerişilebilirlik bakımından genel ve tek yönlü bir farklılık bulunmadığını göstermektedir.

Literatürde zeytinyağı veya ayçiçek yağı kullanılarak hazırlanan domuz ve tavuk burgerlerinde gerçekleştirilen çalışma, pişirme ile gastrointestinal sindirim arasındaki bu etkileşimi desteklemektedir. Çalışmada gastrointestinal sindirim sırasında bütün örneklerde lipid oksidasyonunun arttığını, ancak artışın özellikle fırında pişirilen burgerlerde daha belirgin olduğunu ve oksidasyon ürünlerinin biyolojik olarak erişilebilir fraksiyonda yoğunlaştığını bildirilmiştir (Azqueta ve ark., 2026). Bu sonuç, pişirme aşamasında oluşan lipid yapısındaki değişikliklerin gastrointestinal sindirim sırasında ortaya çıkacak oksidatif yanıtı etkileyebileceğini göstermektedir.

Bulgular bütün olarak değerlendirildiğinde, sindirim öncesi MDA oluşumunun hem yağ türünden ($p=0.004$) hem de pişirme yönteminden ($p=0.030$) etkilendiği; gastrointestinal sindirim sonrasında ise yağ türünün etkisinin daha belirgin hale geldiği ($p<0.001$) görülmektedir. Biyoerişilebilirlikte yağ türü ana etkisinin yanı sıra yağ türü $\times$ pişirme yöntemi

etkileşiminin de anlamlı olması ($p=0.005$), oksidatif yanıtın yalnızca kullanılan yağ veya pişirme yöntemiyle tek başına açıklanamayacağını göstermektedir.

En yüksek sindirim sonrası MDA değerinin keten tohumu yağı–fırın grubunda 2.149 mg/100 g, en yüksek biyoerişilebilirliğin de aynı grupta %183.2 olarak belirlenmesi; yüksek omega-3 PUFA içeriği ile daha uzun ısıl maruziyetin gastrointestinal oksidasyon açısından elverişli bir lipid matrisi oluşturmuş olabileceğini düşündürmektedir. Keten tohumu yağlı sığır burgerlerinin yüksek oksidasyon duyarlılığını gösteren Onopiuk ve ark. (2022) ile doymamış yağ miktarının et sindirimi sırasında aldehit oluşumunu artırdığını gösteren Steppeler ve ark. (2016) bulguları bu sonucu desteklemektedir.

Buna karşılık zeytinyağında sindirim sonrası MDA'nın hava fritözünde 0.191 mg/100 g, fırında 0.219 mg/100 g düzeyinde kalması ve biyoerişilebilirliğin sırasıyla %44.4 ve %31.8 olarak belirlenmesi, oleik asit ağırlıklı yağ profilinin gastrointestinal lipid peroksidasyonuna karşı daha stabil bir yapı oluşturduğunu düşündürmektedir. Zeytinyağının simüle mide ortamında et kaynaklı MDA oluşumunu azaltabildiğini gösteren Tirosh ve ark. (2015) ve zeytinyağı polifenollerinin et sindiriminde lipid oksidasyon ürünlerini baskıladığını gösteren Han ve ark. (2022) sonuçları bu bulguyu desteklemektedir (Tirosh ve ark., 2015; Han ve ark., 2022).

Zeytinyağı grubunda MDA biyoerişilebilirliğinin %100'ün altında kalması, bu grubun sindirim sırasında farklı bir oksidatif davranış gösterdiğini ortaya koymaktadır. Zeytinyağının oleik asit ağırlıklı tekli doymamış yağ asidi yapısı, düşük çoklu doymamış yağ asidi oranı ve olası doğal antioksidan bileşenleri, sindirim sırasında yeni MDA oluşumunu sınırlamış olabilir. Ancak bu çalışmada zeytinyağının fenolik madde ve tokoferol içeriği belirlenmediğinden, bu etkinin kesin olarak antioksidan bileşenlere bağlanmaması gerekmektedir. Bu nedenle zeytinyağı grubundaki düşük MDA biyoerişilebilirliği, öncelikle daha stabil yağ asidi profiliyle ilişkilendirilmeli; fenolik bileşenlerin katkısı ise olası bir açıklama olarak değerlendirilmelidir.

Sonuç olarak mevcut çalışma, fonksiyonel yağ asitleriyle zenginleştirilen et ürünlerinde yalnızca besinsel yağ asidi profilinin değil, oksidatif stabilitenin de birlikte değerlendirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır. Keten tohumu yağı kullanımı omega-3 yağ asidi içeriğinin artırılması açısından önemli olmakla birlikte yüksek PUFA içeriği pişirme ve

gastrointestinal sindirim sırasında MDA oluşumuna yatkınlığı artırmıştır. Ayçiçek yağı omega-6 ağırlıklı yapısıyla ara düzeyde oksidatif yanıt oluştururken, zeytinyağı özellikle gastrointestinal sindirim sonrasında düşük MDA düzeyiyle daha stabil bir profil göstermiştir. Bu nedenle omega-3 ve omega-6 PUFA bakımından zenginleştirilmiş et ürünlerinin geliştirilmesinde yağ seçiminin yanı sıra pişirme koşullarının optimize edilmesi ve doğal antioksidanlarla oksidatif stabilitenin desteklenmesi, ürünün fonksiyonel değerinin korunması açısından önemli görünmektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, farklı yağ asidi kompozisyonlarına sahip keten tohumu yağı, ayçiçek yağı ve zeytinyağı kullanılarak hazırlanan köftelerde pişirme yöntemi ve in vitro gastrointestinal sindirim sürecinin MDA düzeyleri üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Bulgular, lipid oksidasyonunun yalnızca pişirme koşullarına değil, kullanılan yağın türüne ve yağ asidi yapısına da bağlı olduğunu göstermiştir.

Keten tohumu yağı içeren köftelerde MDA düzeylerinin genel olarak daha yüksek olması, bu yağın çoklu doymamış yağ asitlerince zengin yapısıyla ilişkilendirilebilir. Ayçiçek yağı grubunda da sindirim sonrası MDA artışı gözlenirken, zeytinyağı grubunda farklı bir değişim paterni ortaya çıkmıştır. Bu durum, farklı yağların sindirim sürecinde aynı oksidatif davranışı göstermediğini düşündürmektedir.

Pişirme yönteminin etkisinin ise değerlendirme aşamasına göre değiştiği belirlenmiştir. Sindirim öncesinde pişirme yöntemine bağlı farklılıklar görülürken, sindirim sonrasında bu etkinin tek başına belirleyici olmadığı saptanmıştır. Ayrıca MDA biyoerişilebilirliği üzerinde yağ türü ile pişirme yöntemi arasındaki etkileşimin önemli olması, pişirme etkisinin kullanılan yağ türüne bağlı olarak değişebildiğini göstermektedir.

Sonuç olarak, et ürünlerinde lipid oksidasyonunun değerlendirilmesinde yağ türü, pişirme yöntemi ve gastrointestinal sindirim sürecinin birlikte ele alınması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır. Çalışmanın analitik tekrarlarla yürütülmüş olması, MDA düzeylerinin doğrudan kromatografik yöntemlerle belirlenmemesi ve in vitro model kullanılması sonuçların genellenmesinde dikkate alınmalıdır. Gelecekte daha fazla bağımsız örnekle ve ileri sindirim modelleriyle yapılacak çalışmalar mevcut bulguların desteklenmesine katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Ahmed, S., Shah, P., and Ahmed, O. (2023). Biochemistry, lipids. İçinde *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- Akkaya, M. R. (2018). Prediction of fatty acid composition of sunflower seeds by near-infrared reflectance spectroscopy. *Journal of Food Science and Technology*, 55(6), 2318–2325.
- Al-Madhagy, S., Ashmawy, N. S., Mamdouh, A., Eldahshan, O. A., Farag, M. A., and Gad, H. A. (2023). A comprehensive review of the health benefits of flaxseed oil in relation to its chemical composition and comparison with other omega-3-rich oils. *European Journal of Medical Research*, 28, 240.
- Amaral, A. B., Silva, M. V., and Lannes, S. C. (2018). Lipid oxidation in meat: Mechanisms and protective factors – a review. *Food Science and Technology*, 38(1), 1–15.
- Ansorena, D. and Astiasarán, I. (2024). Natural antioxidants (rosemary and parsley) in microwaved ground meat patties: effects of *in vitro* digestion. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 104(7), 4465–4472.
- AOAC. (1990). *Official Methods of Analysis (15th ed.)*. Association of Official Analytical Chemists.
- Aoki, T., and Narumiya, S. (2012). Prostaglandins and chronic inflammation. *Trends in Pharmacological Sciences*, 33(6), 304–311.
- Argüelles, S., García, S., Maldonado, M., Machado, A., and Ayala, A. (2004). Do the serum oxidative stress biomarkers provide a reasonable index of the general oxidative stress status? *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1674(3), 251–259.
- Argüelles, S., Gómez, A., Machado, A., and Ayala, A. (2007). A preliminary analysis of within-subject variation in human serum oxidative stress parameters as a function of time. *Rejuvenation Research*, 10(4), 621–636.
- Ariz-Hernandez, I., Schulz, P., Garayoa, R., Ansorena, D., and Astiasaran, I. (2025). Beef- and pork-based dishes from catering services: Composition and *in vitro* digestion effects on digestibility and lipid oxidation. *Foods*, 14(5), 789.
- Awada, M., Soulage, C. O., Meynier, A., Debard, C., Plaisancié, P., Benoit, B., ... and Michalski, M. C. (2012). Dietary oxidized omega-3 PUFA induce oxidative stress and inflammation: role of intestinal absorption of 4-HHE and reactivity in intestinal cells. *Journal of lipid research*, 53(10), 2069–2080.
- Ayala, A., Muñoz, M. F., and Argüelles, S. (2014). Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 360438.
- Azqueta, A., Astiasaran, I., and Ansorena, D. (2026). *In vitro* genotoxicity screening and lipid oxidation in pork and chicken burgers: Effect of cooking and gastrointestinal digestion. *International Journal of Molecular Sciences*, 27(9), 3985.

- Bacellar, I. O., and Baptista, M. S. (2019). Mechanisms of photosensitized lipid oxidation and membrane permeabilization. *ACS omega*, 4(26), 21636–21646.
- Baron, C. P., and Andersen, H. J. (2002). Myoglobin-induced lipid oxidation: A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(14), 3887–3897.
- Baysal, T., and Demirdöven, A. (2007). Lipoxygenase in fruits and vegetables: A review. *Enzyme and microbial technology*, 40(4), 491–496.
- Beslenme Bilgi Sistemi (BeBiS). (2021). *Beslenme Bilgi Sistemi (Versiyon 9)*. İstanbul.
- Bohn, T., Carriere, F., Day, L., Deglaire, A., Egger, L., Freitas, D., and Dupont, D. (2018). Correlation between *in vitro* and *in vivo* data on food digestion. What can we predict with static *in vitro* digestion models? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(13), 2239–2261.
- Brodkorb, A., Egger, L., Alminger, M., et al. (2019). INFOGEST static *in vitro* simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols*, 14, 991–1014.
- Brownlee, M. (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 414, 813–820.
- Bulur, H., Özdemirler, G., Öz, B., Toker, G., Öztürk, M., and Uysal, M. (1995). High cholesterol diet supplemented with sunflower seed oil but not olive oil stimulates lipid peroxidation in plasma, liver, and aorta of rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 6(10), 547–550.
- Burcham, P. C. (1998). Genotoxic lipid peroxidation products: Their DNA damaging properties and role in formation of endogenous DNA adducts. *Mutagenesis*, 13(3), 287–305.
- Carbonell-Capella, J. M., Buniowska, M., Barba, F. J., Esteve, M. J., and Frígola, A. (2014). Analytical methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(2), 155–171.
- Carlsen, C. U., Møller, J. K. S., and Skibsted, L. H. (2005). Heme-iron in lipid oxidation. *Coordination Chemistry Reviews*, 249(3–4), 485–498.
- Casares, D., Escribá, P. V., and Rosselló, C. A. (2019). Membrane lipid composition: Effect on membrane and organelle structure, function and compartmentalization and therapeutic avenues. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(9), 2167.
- Cheeseman, K. H. (1993). Mechanisms and effects of lipid peroxidation. *Molecular Aspects of Medicine*, 14(3), 191–197.
- Chelh, I., Gatellier, P., and Santé-Lhoutellier, V. (2007). Characterisation of fluorescent Schiff bases formed during oxidation of pig myofibrils. *Meat Science*, 76(2), 210–215.
- Chen, B., McClements, D. J., and Decker, E. A. (2011). Minor components in food oils: A critical review of their roles on lipid oxidation chemistry in bulk oils and emulsions. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51, 901–916.
- Chirico, S. (1994). High-performance liquid chromatography-based thiobarbituric acid tests. İçinde *Methods in Enzymology* (C. 233, ss. 314–318). Academic Press.

- Choe, E., and Min, D. B. (2006). Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5(4), 169–186.
- Ciaccia, M., and Di Stefano, S. (2015). Mechanisms of imine exchange reactions in organic solvents. *Organic and Biomolecular Chemistry*, 13, 646–654.
- De Leon, J. A. D., and Borges, C. R. (2020). Evaluation of oxidative stress in biological samples using the thiobarbituric acid reactive substances assay. *Journal of Visualized Experiments*, 2020(159), e61122.
- Deiana, M., Corona, G., Incani, A., Loru, D., Rosa, A., Atzeri, A., ... and Dessì, M. A. (2010). Protective effect of simple phenols from extravirgin olive oil against lipid peroxidation in intestinal Caco-2 cells. *Food and Chemical Toxicology*, 48(10), 3008–3016.
- DeJong, S., and Lanari, M. C. (2009). Extracts of olive polyphenols improve lipid stability in cooked beef and pork: Contribution of individual phenolics to the antioxidant activity of the extract. *Food Chemistry*, 116(4), 892–897.
- Del Rio, D., Stewart, A. J., and Pellegrini, N. (2005). A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 15(4), 316–328.
- Dilek, N. M. and Babaoğlu, A. S. (2025). Comparative effects of innovative and traditional cooking methods on quality attributes of Tekirdağ meatballs. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 13(8), 2172–2178.
- Domínguez, R., Pateiro, M., Gagaoua, M., Barba, F. J., Zhang, W., and Lorenzo, J. M. (2019). A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. *Antioxidants*, 8(10), 429.
- Dominguez-Hernandez, E., Salaseviciene, A., and Ertbjerg, P. (2018). Low-temperature long-time cooking of meat: Eating quality and underlying mechanisms. *Meat Science*, 143, 104–113.
- Draper, H. H., and Hadley, M. (1990). [43] Malondialdehyde determination as index of lipid Peroxidation. In *Methods in enzymology* (Vol. 186, pp. 421–431). Academic press.
- Dubois, R. N., Abramson, S. B., Crofford, L., Gupta, R. A., Simon, L. S., Van De Putte, L. B., and Lipsky, P. E. (1998). Cyclooxygenase in biology and disease. *The FASEB journal*, 12(12), 1063–1073.
- Elfeky, A., Ali, E., Hammam, M. A., Sakr, A. A., and Abozid, M. (2024). Evaluation of sunflower, flaxseed and olive oils in terms of chemical composition and their physical and chemical properties. *Menoufia Journal of Agricultural Biotechnology*, 9(1), 11–18.
- Endale, H. T., Tesfaye, W., and Mengstie, T. A. (2023). ROS induced lipid peroxidation and their role in ferroptosis. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 11, 1226044.
- Erickson, M. C. (1998). Lipid oxidation of muscle foods. *FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY-NEW YORK-MARCEL DEKKER-*, 297-332.

- Esterbauer, H. (1993). Cytotoxicity and genotoxicity of lipid-oxidation products. *American Journal of Clinical Nutrition*, 57(5 Suppl), 779S-785S.
- Esterbauer, H., Schaur, R. J., and Zollner, H. (1991). Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malondialdehyde and related aldehydes. *Free Radical Biology and Medicine*, 11(1), 81–128.
- Falowo, A. B., Fayemi, P. O., and Muchenje, V. (2014). Natural antioxidants against lipid–protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. *Food Research International*, 64, 171–181.
- Fenaille, F., Mottier, P., Turesky, R. J., Ali, S., and Guy, P. A. (2001). Comparison of analytical techniques to quantify malondialdehyde in milk powders. *Journal of Chromatography A*, 921(2), 237–245.
- Fernández-García, E., Carvajal-Lérida, I., and Pérez-Gálvez, A. (2009). *In vitro* bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. *Nutrition Research*, 29(11), 751–760.
- Ferreira, F. S., Sampaio, G. R., Keller, L. M., Sawaya, A. C. H. F., Chávez, D. W. H., Torres, E. A. F. S., and Saldanha, T. (2017). Impact of air frying on cholesterol and fatty acids oxidation in sardines: Protective effects of aromatic herbs. *Journal of Food Science*, 82(12), 2823–2831.
- Food, F. A. O. (2003). Agriculture Organization of the United Nations: Food Energy—Methods of Analysis and Conversion Factors. *FAO Food and Nutrition Paper*, 77.
- Frijhoff, J., Winyard, P. G., Zarkovic, N., Davies, S. S., Stocker, R., Cheng, D., et al. (2015). Clinical relevance of biomarkers of oxidative stress. *Antioxidants and Redox Signaling*, 23(14), 1144–1170.
- Geng, L., Liu, K., Zhang, H., and Zhang, H. (2023). Lipid oxidation in foods and its implications on proteins. *Frontiers in Nutrition*, 10, 1192199.
- Ghnimi, S., Budilarto, E., and Kamal-Eldin, A. (2017). The new paradigm for lipid oxidation and insights to microencapsulation of omega-3 fatty acids. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16, 1206–1218.
- Girotti, A. W. (1998). Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *Journal of Lipid Research*, 39(8), 1529–1542.
- Goycheva, P., Terzieva, D., Miteva, L., Todorova, M., Gavrilov, G., Popova, T., and Bivolarska, A. (2023). Biomarkers of oxidative stress in diabetes mellitus with diabetic nephropathy. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(17), 13541.
- Gromkowska-Kępka, K. J., Puścion-Jakubik, A., Markiewicz-Żukowska, R., and Socha, K. (2021). The impact of ultraviolet radiation on skin photoaging—Review of *in vitro* studies. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 20(11), 3427–3431.
- Guéraud, F., Atalay, M., Bresgen, N., Cipak, A., Eckl, P. M., Huc, L., Jouanin, I., Siems, W., and Uchida, K. (2010). Chemistry and biochemistry of lipid peroxidation products. *Free Radical Research*, 44(10), 1098–1124.

- Guillevic, M., Kouba, M., and Mourot, J. (2009). Effect of a linseed diet on lipid composition, lipid peroxidation and consumer evaluation of French fresh and cooked pork meats. *Meat Science*, 81, 612–618.
- Guyon, C., Meynier, A., and de Lamballerie, M. (2016). Protein and lipid oxidation in meat: A review with emphasis on high-pressure treatments. *Trends in Food Science and Technology*, 50, 131–143.
- Hadi, N., Ali Zaidi, I., Husain, N., and Sultana, S. (2024). Estimation of serum malondialdehyde as a marker of oxidative stress and predictive biomarker for the severity of coronary artery disease and cardiovascular outcomes. *Cureus*, 16, e69756.
- Hajeyah, A. A., Griffiths, W. J., Wang, Y., Finch, A. J., and O'Donnell, V. B. (2020). The biosynthesis of enzymatically oxidized lipids: Lipoxygenase, cyclooxygenase, and cytochrome P450 pathways. *Frontiers in Endocrinology*, 11, 591819.
- Halliwell, B., and Whiteman, M. (2004). Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: How should you do it and what do the results mean? *British Journal of Pharmacology*, 142(2), 231–255.
- Han, D., Deng, S., Wang, H., Huang, F., Fauconnier, M.-L., Li, H., Zheng, J., Meng, L., Zhang, C., and Li, X. (2023). Lipid oxidation and flavor changes in saturated and unsaturated fat fractions from chicken fat during a thermal process. *Food and Function*, 14(14), 6554–6569.
- Han, S., Wang, Y., Fang, Z., Zhang, Y., Zeng, W., Karrar, E., Zhang, H., Jin, Q., Wu, G., and Wang, X. (2022). Effect of olive polyphenols on lipid oxidation of high-fat beef during digestion. *Food Research International*, 161, 111843.
- Hannun, Y. A., and Obeid, L. M. (2008). Principles of bioactive lipid signalling: lessons from sphingolipids. *Nature reviews Molecular cell biology*, 9(2), 139–150.
- Hojs, N. V., Bevc, S., Ekart, R., Hojs, R., and Kanič, V. (2020). Oxidative stress markers in chronic kidney disease with emphasis on diabetic nephropathy. *Antioxidants*, 9(10), 925.
- Hu, Z., Feng, Y., Jiang, X., and Li, S. (2025). Diet, oxidative stress and MAFLD: A mini review. *Frontiers in Nutrition*.
- Huang, X., Ahn, D. U., and Kong, F. (2019). Lipid oxidation and its implications to meat quality. *Food Quality and Safety*, 3(1), 19–27.
- Hur, S. J., Lim, B. O., Decker, E. A., and McClements, D. J. (2011). *In vitro* human digestion models for food applications. *Food Chemistry*, 125(1), 1–12.
- Hurrell, R., and Egli, I. (2010). Iron bioavailability and dietary reference values. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 91(5), 1461S–1467S.
- International Council for Harmonisation. (2023). *ICH harmonised guideline: Validation of analytical procedures Q2(R2)*. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use.
- Ioannidou, S., Tsolaki, M., Karacostas, D., and Grigoriadis, N. (2025). Serum and cerebrospinal fluid malondialdehyde levels in mild cognitive impairment. *Journal of Clinical Medicine*.

- Jadhav, H. B., Annapure, U. S., and Deshmukh, R. R. (2022). Triglycerides of medium-chain fatty acids: A concise review. *Journal of Food Science and Technology*, 59(6), 2143–2152.
- Janero, D. R. (1990). Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radical Biology and Medicine*, 9(6), 515–540.
- Jiang, F., Zhou, L., Zhang, C., Jiang, H., and Xu, Z. (2023). Malondialdehyde levels in diabetic retinopathy patients: A systematic review and meta-analysis. *Chinese Medical Journal*, 136(11), 1311–1321.
- Jiang, N., Ma, Y., Chen, H., and Li, C. (2026). 4-HNE-induced cellular dysfunction from lipid peroxidation: A potential therapeutic target in diabetic cardiomyopathy. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 13, 1663094.
- Jimenez-Lopez, C., Carpena, M., Lourenço-Lopes, C., Gallardo-Gomez, M., Lorenzo, J. M., Barba, F. J., Prieto, M. A., and Simal-Gandara, J. (2020). Bioactive compounds and quality of extra virgin olive oil. *Foods*, 9(8), 1014.
- Jin, Q., Liu, T., Qiao, Y., Liu, D., Yang, L., Mao, H., Ma, F., and Zhan, Y. (2023). Oxidative stress and inflammation in diabetic nephropathy. *Frontiers in Immunology*, 14, 1185317.
- Kalinski, P. (2012). Regulation of immune responses by prostaglandin E2. *The Journal of Immunology*, 188(1), 21–28.
- Kennedy, L., Sandhu, J. K., Harper, M.-E., and Cuperlovic-Culf, M. (2020). Role of glutathione in cancer: From mechanisms to therapies. *Biomolecules*, 10(10), 1429.
- Abu Khadra, K. M., Bataineh, M. I., Khalil, A., and Saleh, J. (2024). Oxidative stress and type 2 diabetes: the development and the pathogenesis, Jordanian cross-sectional study. *European Journal of Medical Research*, 29(1), 370.
- Khoubnasabjafari, M., Ansarin, K., and Jouyban, A. (2015). Reliability of malondialdehyde as a biomarker of oxidative stress. *BioImpacts*, 5(3), 123–127.
- Knight, J. A., Pieper, R. K., and McClellan, L. (1988). Specificity of the thiobarbituric acid reaction: Its use in studies of lipid peroxidation. *Clinical Chemistry*, 34(12), 2433–2438.
- Kumar, M., Padmini, T., and Ponnuvel, K. (2017). Synthesis, characterization and antioxidant activities of Schiff bases of cholesterol. *Journal of Saudi Chemical Society*, 21, S322–S328.
- Larsson, K., Cavonius, L., Alminger, M., and Undeland, I. (2012). Oxidation of cod liver oil during gastrointestinal *in vitro* digestion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(30), 7556–7564.
- Lavado, G., Higuero, N., León-Camacho, M., and Cava, R. (2021). Formation of lipid and protein oxidation products during *in vitro* gastrointestinal digestion of dry-cured loins with different contents of nitrate/nitrite added. *Foods*, 10(8), 1748.
- Lee, R. F. (2003). Photo-oxidation and photo-toxicity of crude and refined oils. *Spill Science and Technology Bulletin*, 8, 157–162.

- Liu, H., Jin, L., Wang, X., Shi, J., He, Y., Sun, N., and Yang, F. (2025). Reactive oxygen species in polycystic ovary syndrome: Mechanistic insights into pathogenesis and therapeutic opportunities. *Redox biology*, 103776.
- Liu, W., Luo, X., Huang, Y., Zhao, M., Liu, T., Wang, J., and Feng, F. (2023). Influence of cooking techniques on food quality, digestibility, and health risks regarding lipid oxidation. *Food Research International*, 167, 112685.
- Long, E. K., and Picklo, M. J., Sr. (2010). Trans-4-hydroxy-2-hexenal, a product of omega-3 fatty acid peroxidation: Make some room HNE. *Free Radical Biology and Medicine*, 49(1), 1–8.
- Lorrain, B., Dangles, O., Loonis, M., Armand, M., and Dufour, C. (2012). Dietary iron-initiated lipid oxidation and its inhibition by polyphenols in gastric conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(36), 9074–9081.
- Lund, M. N., Heinonen, M., Baron, C. P., and Estévez, M. (2011). Protein oxidation in muscle foods: A review. *Molecular Nutrition and Food Research*, 55(1), 83–95.
- Lužaić, T., Kravić, S., Stojanović, Z., Grahovac, N., Jocić, S., Cvejić, S., ... and Romanić, R. (2023). Investigation of oxidative characteristics, fatty acid composition and bioactive compounds content in cold pressed oils of sunflower grown in Serbia and Argentina. *Heliyon*, 9(7).
- Ma, B., Villalta, P. W., Balbo, S., and Stepanov, I. (2014). Analysis of a malondialdehyde–deoxyguanosine adduct in human leukocyte DNA by liquid chromatography nanoelectrospray–high-resolution tandem mass spectrometry. *Chemical research in toxicology*, 27(10), 1829–1836.
- Ma, J., Wang, X., Li, Q., Zhang, L., Wang, Z., Han, L., and Yu, Q. (2021). Myofibrillar protein oxidation and cross-linking behavior during processing of traditional air-dried yak (*Bos grunniens*) meat and its relationship with digestibility. *LWT*, 142, 110984.
- Macho-González, A., Bastida, S., Garcimartín, A., López-Oliva, M. E., González, P., Benedití, J., González-Muñoz, M. J., and Sánchez-Muniz, F. J. (2021). Functional meat products as oxidative stress modulators: A review. *Advances in Nutrition*, 12(4), 1514–1539.
- Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., and Rémésy, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), 230S–242S.
- Marnett, L. J. (1999). Lipid peroxidation—DNA damage by malondialdehyde. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 424(1–2), 83–95.
- Marrugat, J., Covas, M. I., Fitó, M., Schröder, H., Miró-Casas, E., Gimeno, E., ... and members of the SOLOS Investigators\.. (2004). Effects of differing phenolic content in dietary olive oils on lipids and LDL oxidation: A randomized controlled trial. *European journal of nutrition*, 43(3), 140–147.
- Mattson, M. P. (Ed.). (2003). *Membrane Lipid Signaling in Aging and Age-Related Disease*. *Advances in Cell Aging and Gerontology, Volume 12*. Elsevier Science and Technology.

- Milkovic, L., Zarkovic, N., Marusic, Z., Zarkovic, K., and Jaganjac, M. (2023). The 4-hydroxynonenal–protein adducts and their biological relevance: Are some proteins preferred targets? *Antioxidants*, 12(4), 856.
- Miller, D. D., Schriker, B. R., Rasmussen, R. R., and Van Campen, D. (1981). An *in vitro* method for estimation of iron availability from meals. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 34(10), 2248–2256.
- Mimura, T., and Noma, H. (2025). Oxidative stress in diabetic retinopathy: A comprehensive review of mechanisms, biomarkers, and therapeutic perspectives. *Antioxidants*, 14(10), 1204.
- Min, B., and Ahn, D. U. (2005). Mechanism of lipid peroxidation in meat and meat products: A review. *Food Science and Biotechnology*, 14(1), 152–163.
- Min, D. B., and Boff, J. B. (2002). Chemistry and reaction of singlet oxygen in foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 1(2), 58–72.
- Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., et al. (2014). A standardized static *in vitro* digestion method suitable for food—An international consensus. *Food and Function*, 5(6), 1113–1124.
- Moldovan, L., and Moldovan, N. I. (2004). Oxygen free radicals and redox biology of organelles. *Histochemistry and cell biology*, 122(4), 395–412.
- Morales, M., and Munné-Bosch, S. (2019). Malondialdehyde: facts and artifacts. *Plant physiology*, 180(3), 1246–1250.
- Mortensen, M. S., Ruiz, J., and Watts, J. L. (2023). Polyunsaturated fatty acids drive lipid peroxidation during ferroptosis. *Cells*, 12(5), 804.
- Moselhy, H. F., Reid, R. G., Yousef, S., and Boyle, S. P. (2013). A specific, accurate and sensitive measure of ham plasma malondialdehyde by HPLC. *Journal of Lipid Research*, 54(3), 852–858.
- Muhović, D., Cvijanović, G., Bajagić, M., Pezo, L., Pejić, L., and Rabrenović, B. (2025). Enhancing oxidative stability and nutritional quality of flaxseed oil using apricot, sesame, and black cumin oil blends. *Foods*, 14(11), 2000.
- Muro, P., Zhang, L., Li, S., Zhao, Z., Jin, T., Mao, F., and Mao, Z. (2024). The emerging role of oxidative stress in inflammatory bowel disease. *Frontiers in endocrinology*, 15, 1390351.
- Murphy, E. W., Criner, P. E., and Gray, B. C. (1975). Comparisons of methods for calculating retentions of nutrients in cooked foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 23(6), 1153–1157.
- Myszko, M., Strączyńska, A., Kochanowicz, J., Kułakowska, A., and Lewko, J. (2025). The dual role of oxidative stress in atherosclerosis and coronary artery disease. *Antioxidants*, 14(3), 275.
- Nair, V., O’Neil, C. L., and Wang, P. G. (2001). Malondialdehyde. İçinde *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*. John Wiley and Sons.

- Nguyen, H. D. K., Kuroda, S., Nguyen, N. T., Yumura, Y., and Takeshima, T. (2025). Redox imbalance in male infertility: From empirical antioxidant therapy to precision medicine and epigenetic insights. *Reproductive Medicine and Biology*, 24(1), e12693.
- Niedernhofer, L. J., Daniels, J. S., Rouzer, C. A., Greene, R. E., and Marnett, L. J. (2003). Malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, is mutagenic in human cells. *Journal of Biological Chemistry*, 278(33), 31426–31433.
- Nieva, J., Song, B.-D., Rogel, J. K., Kujawara, D., Altobel, L., Izharudin, A., Boldt, G. E., Grover, R. K., Wentworth, A. D., and Wentworth, P., Jr. (2011). Cholesterol secosteroid aldehydes induce amyloidogenesis and dysfunction of wild-type tumor protein p53. *Chemistry and Biology*, 18(8), 920–927.
- Nieva-Echevarría, B., Goicoechea, E., and Guillén, M. D. (2020). Food lipid oxidation under gastrointestinal digestion conditions: A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 60(3), 461–478.
- Niki, E. (2014). Biomarkers of lipid peroxidation in clinical material. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1840(2), 809–817.
- Onopiuk, A., Kołodziejczak, K., Szpicer, A., Marcinkowska-Lesiak, M., Wojtasik-Kalinowska, I., Stelmasiak, A., and Półtorak, A. (2022). The effect of partial substitution of beef tallow on selected physicochemical properties, fatty acid profile and PAH content of grilled beef burgers. *Foods*, 11(13), 1986.
- Ortega, N., Macià, A., Romero, M. P., Reguant, J., and Motilva, M. J. (2011). Matrix composition effect on the digestibility of carob flour phenols by an in-vitro digestion model. *Food Chemistry*, 124(1), 65–71.
- Ozkan, G., Kostka, T., Draeger, G., Capanoglu, E., and Esatbeyoglu, T. (2022). Bioaccessibility and transepithelial transportation of cranberrybush (*Viburnum opulus*) phenolics: Effects of non-thermal processing and food matrix. *Food Chemistry*, 380, 132036.
- Palamutoğlu, R. (2021). Replacement of beef fat in meatball with oleogels (black cumin seed oil/sunflower oil). *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 72(3), 3031–3040.
- Pang, B., Bowker, B. C., Zhuang, H., Yang, Y., and Zhang, J. (2020). Research note: Comparison of 3 methods used for estimating cook loss in broiler breast meat. *Poultry Science*, 99(11), 6287–6290.
- Parada, J., and Aguilera, J. M. (2007). Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients. *Journal of Food Science*, 72(2), R21–R32.
- Pereira, A. L. F., and Abreu, V. K. G. (2018). Lipid peroxidation in meat and meat products. İçinde M. A. Mansour (Ed.), *Lipid Peroxidation Research*. IntechOpen.
- Pereira, P. M. D. C. C., and Vicente, A. F. D. R. B. (2013). Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet. *Meat science*, 93(3), 586–592.
- Perkovic, M. N., Jaganjac, M., Milkovic, L., Horvat, T., Rojo, D., Zarkovic, K., Coric, M., Hudolin, T., Waeg, G., and Orehovec, B. (2023). Relationship between 4-hydroxynonenal (4-HNE) as systemic biomarker of lipid peroxidation and metabolomic profiling of patients with prostate cancer. *Biomolecules*, 13(1), 145.

- Pluchino, N., Russo, M., Santoro, A. N., Litta, P., Cela, V., and Genazzani, A. R. (2013). Steroid hormones and BDNF. *Neuroscience*, 239, 271–279.
- Poljšak, B., Šuput, D., and Milisav, I. (2025). The importance of multifaceted approach for accurate and comprehensive evaluation of oxidative stress status in biological systems. *Antioxidants*, 14(9), 1083.
- Porter, N. A. (1995). Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. *Accounts of Chemical Research*, 28(4), 141–148.
- Purslow, P. P., Oiseth, S., Hughes, J. and Warner, R. D. (2016). The structural basis of cooking loss in beef: Variations with temperature and ageing. *Food Research International*, 89, 739–748.
- Raharjo, S., and Sofos, J. N. (1993). Methodology for measuring malonaldehyde as a product of lipid peroxidation in muscle tissues: A review. *Meat Science*, 35(2), 145–169.
- Rein, M. J., Renouf, M., Cruz-Hernandez, C., Actis-Goretta, L., Thakkar, S. K., and da Silva Pinto, M. (2013). Bioavailability of bioactive food compounds: A challenging journey to bioefficacy. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 75(3), 588–602.
- Reis, A., and Spickett, C. M. (2012). Chemistry of phospholipid oxidation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)–Biomembranes*, 1818(10), 2374–2387.
- Reitznerová, A., Šuleková, M., Nagy, J., Marcinčák, S., Semjon, B., Čertík, M., and Klempová, T. (2017). Lipid peroxidation process in meat and meat products: A comparison study of malondialdehyde determination between modified 2-thiobarbituric acid spectrophotometric method and reverse-phase high-performance liquid chromatography. *Molecules*, 22(11), 1988.
- Revelou, P.-K., Xagoraris, M., Alexandropoulou, A., Kanakis, C. D., Papadopoulos, G. K., and Pappas, C. S. (2021). Chemometric study of fatty acid composition of virgin olive oil from four widespread Greek cultivars. *Molecules*, 26(14), 4151.
- Rouzer, C. A., and Marnett, L. J. (2009). Lipoxygenases: Structure and reaction mechanism. *Progress in Lipid Research*, 48(5), 273–297.
- Rouzer, C. A., and Marnett, L. J. (2020). Cyclooxygenases: Structural, mechanistic, and regulatory aspects. *Chemical Reviews*, 120(14), 7269–7311.
- Sabitha, S., Hegde, S. V., Agarwal, S., Sagar, M. K., Ranjith, G., and Bhat, M. (2024). Biomarkers of oxidative stress and their clinical relevance in type 2 diabetes mellitus patients: A systematic review. *Cureus*, 16(8), e66570.
- Sabuncular, G., Akbulut, G., and Yaman, M. (2025). Effects of beverages and salads on lipid oxidation and glycation during *in vitro* meat digestion. *Scientific Reports*, 15, 17005.
- Santé-Lhoutellier, V., Astruc, T., Marinova, P., Greve, E., and Gatellier, P. (2008). Effect of meat cooking on physicochemical state and *in vitro* digestibility of myofibrillar proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(4), 1488–1494.
- Schopfer, F. J., Cipollina, C., and Freeman, B. A. (2011). Formation and signaling actions of electrophilic lipids. *Chemical Reviews*, 111, 5997–6021.

- Scutiero, G., Iannone, P., Bernardi, G., Bonaccorsi, G., Spadaro, S., Volta, C. A., Greco, P., and Nappi, L. (2017). Oxidative stress and endometriosis: A systematic review of the literature. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 7265238.
- Selçuk, E., Altay, Ö., Filiz, Ö., et al. (2026). Innovative cooking with air jet impingement: Enhancing beef and chicken quality, safety, and efficiency. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 20, 6750–6770.
- Sessa, M., Tsao, R., Liu, R., Ferrari, G., and Donsì, F. (2011). Evaluation of the stability and antioxidant activity of nanoencapsulated resveratrol during *in vitro* digestion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(23), 12352–12360.
- Seven, E., Tekin, S., Demir, C., Demir, H., Batur, M., Ozer, M. D., and Yasar, T. (2026). Altered serum biomarkers of oxidative stress and antioxidant capacity in primary open-angle glaucoma. *Scientific Reports*, 16(1), 12307.
- Shahidi, F., and Zhong, Y. (2010). Lipid oxidation and improving the oxidative stability. *Chemical Society Reviews*, 39(11), 4067–4079.
- Shichiri, M. (2014). The role of lipid peroxidation in neurological disorders. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 54(3), 151–160.
- Singh, Z., Karthigesu, I. P., Singh, P., and Kaur, R. (2014). Use of malondialdehyde as a biomarker for assessing oxidative stress in different disease pathologies: A review. *Iranian Journal of Public Health*, 43(Suppl. 3), 7–16.
- Sobral, M. M. C., Casal, S., Faria, M. A., Cunha, S. C., and Ferreira, I. M. (2020). Influence of culinary practices on protein and lipid oxidation of chicken meat burgers during cooking and *in vitro* gastrointestinal digestion. *Food and Chemical Toxicology*, 141, 111401.
- Soladoye, O., Juárez, M., Aalhus, J., Shand, P., and Estévez, M. (2015). Protein oxidation in processed meat: Mechanisms and potential implications on human health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(2), 106–122.
- Soulage, C. O., Pelletier, C. C., Florens, N., Lemoine, S., Dubourg, L., Juillard, L., and Guebre-Egziabher, F. (2020). Two toxic lipid aldehydes, 4-hydroxy-2-hexenal and 4-hydroxy-2-nonenal, accumulate in patients with chronic kidney disease. *Toxins*, 12(9), 567.
- Steppeler, C., Haugen, J.-E., Rødbotten, R., and Kirkhus, B. (2016). Formation of malondialdehyde, 4-hydroxynonenal, and 4-hydroxyhexenal during *in vitro* digestion of cooked beef, pork, chicken, and salmon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(2), 487–496.
- Suscan, M. K. (2004). Identifying and preventing off-flavors. *Food Technology*.
- Şişlioğlu, K. (2012). *Isıl İşlem Gören Bazı Et Ürünlerinin Lipit Fraksiyonlarında Meydana Gelen Bazı Değişimlerin Belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
- Takalani, N. B., Monageng, E., Mohlala, K., Monsees, T. K., and Henkel, R. (2023). Role of oxidative stress in male infertility. *Reproduction and Fertility*, 4(3), RAF-23–0024.

- Tanabe, T., and Tohnai, N. (2002). Cyclooxygenase isozymes and their gene structures and expression. *Prostaglandins and other lipid mediators*, 68, 95–114.
- Tirosh, O., Shpaizer, A., and Kanner, J. (2015). Lipid peroxidation in a stomach medium is affected by dietary oils (olive/fish) and antioxidants: The Mediterranean versus Western diet. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(31), 7016–7023.
- Tratenšek, A., Locatelli, I., Grabnar, I., Drobne, D., and Vovk, T. (2024). Oxidative stress-related biomarkers as promising indicators of inflammatory bowel disease activity: A systematic review and meta-analysis. *Redox biology*, 77, 103380.
- Tsikak, D. (2017). Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. *Analytical Biochemistry*, 524, 13–30.
- Tsikak, D. (2023). GC–MS and GC–MS/MS measurement of malondialdehyde (MDA) in clinical studies: Pre-analytical and clinical considerations. *Journal of Mass Spectrometry and Advances in the Clinical Lab*, 30, 10–24.
- Utrera, M., Morcuende, D., and Estévez, M. (2014). Fat content has a significant impact on protein oxidation occurred during frozen storage of beef patties. *LWT – Food Science and Technology*, 56(1), 62–68.
- Valaitienė, J., and Laučytė-Cibulskienė, A. (2024). Oxidative stress and its biomarkers in cardiovascular diseases. *Artery Research*, 30(1), 18.
- Van Hecke, T., and De Smet, S. (2021). The influence of butter and oils on oxidative reactions during *in vitro* gastrointestinal digestion of meat and fish. *Foods*, 10(11), 2832.
- Van Meer, G., Voelker, D. R., and Feigenson, G. W. (2008). Membrane lipids: Where they are and how they behave. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9(2), 112–124.
- Vaskoska, R., Ha, M., Ong, L., Chen, G., White, J. D., Gras, S., and Warner, R. D. (2021). Myosin sensitivity to thermal denaturation explains differences in water loss and shrinkage during cooking in muscles of distinct fibre types. *Meat Science*, 179, 108521.
- Venero, J. L., Revuelta, M., Atiki, L., Santiago, M., Toms-Camardiel, M. C., Cano, J., and Machado, A. (2003). Evidence for dopamine-derived hydroxyl radical formation in the nigrostriatal system in response to axotomy. *Free Radical Biology and Medicine*, 34(1), 111–123.
- Villeneuve, P., Laguerre, M., Decker, E. A., and McClements, D. J. (2023). Lipid oxidation in emulsions and bulk oils: Factors influencing reaction kinetics and potential strategies for control. *Food and Function*, 14(1), 3–26.
- Vistoli, G. A., De Maddis, D., Cipak, A., Zarkovic, N., Carini, M., and Aldini, G. (2013). Advanced glycoxidation and lipoxidation end products (AGEs and ALEs): an overview of their mechanisms of formation. *Free radical research*, 47(sup1), 3–27.
- Vors, C., Capolino, P., Guérin, C., Meugnier, E., Pesenti, S., Chauvin, M. A., and Michalski, M. C. (2012). Coupling *in vitro* gastrointestinal lipolysis and Caco-2 cell cultures for testing the absorption of different food emulsions. *Food and Function*, 3(5), 537–546.

- Voulgaridou, G. P., Anastopoulos, I., Franco, R., Panayiotidis, M. I., and Pappa, A. (2011). DNA damage induced by endogenous aldehydes: Current state of knowledge. *Mutation Research*, 711(1–2), 13–27.
- Wang, J., Li, H., She, Y., Xu, C., Peng, K., and Ding, W. (2026). Research progress on the damage of lipid peroxidation to the body and its correlation with metabolic diseases. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 13, 1793466.
- Wang, Y., Fu, X., and Li, H. (2025). Mechanisms of oxidative stress-induced sperm dysfunction. *Frontiers in Endocrinology*, 16, 1520835.
- Wang, Y., Tian, X., Liu, X., Zhang, Y., Zhao, K., Zhang, K., and Wang, W. (2023). Effects of different cooking methods on physicochemical, textural properties of yak meat and its changes with intramuscular connective tissue during *in vitro* digestion. *Food Chemistry*, 422, 136188.
- Wang, Z. Y., Wu, Z. X., Zhao, G. H., Li, D. Y., Liu, Y. X., Qin, L., Jiang, P. F., and Zhou, D. Y. (2023). Effect of air frying and baking on physicochemical properties and digestive properties of scallop (*Patinopecten yessoensis*) adductor muscle. *Food Bioscience*, 52, 102460.
- Wąsowicz, E., Gramza, A., Heś, M., Jeleń, H. H., Korczak, J., Małecka, M., ... and Zawirska-Wojtasiak, R. (2004). Oxidation of lipids in food. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 54(1s), 87–100.
- Wu, H., Tullberg, C., Ghirmai, S., and Undeland, I. (2022). Pro-oxidative activity of trout and bovine hemoglobin during digestion using a static *in vitro* gastrointestinal model. *Food Chemistry*, 393, 133356.
- Wu, H., Yin, J., Zhang, J., and Richards, M. P. (2017). Factors affecting lipid oxidation due to pig and turkey hemolysate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(36), 8011–8017.
- Wu, Y., Li, H., Yue, K., Jing, C., and Duan, Y. (2025). Ferroptosis in cancer: metabolism, mechanisms and therapeutic prospects. *Molecular cancer*, 24(1), 303.
- Yagi, K. (1976). A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochemical Medicine*, 15(2), 212–216.
- Yang, D., Lee, Y.-Y., Lu, Y., Wang, Y., and Zhang, Z. (2024). Internal factors affecting the crystallization of the lipid system: Triacylglycerol structure, composition, and minor components. *Molecules*, 29(8), 1847.
- Yin, H., Xu, L., and Porter, N. A. (2011). Free radical lipid peroxidation: Mechanisms and analysis. *Chemical Reviews*, 111(10), 5944–5972.
- Yin, Y., Zhou, L., Cai, J., Feng, F., Xing, L., and Zhang, W. (2022). Effect of malondialdehyde on the digestibility of beef myofibrillar protein: Potential mechanisms from structure to modification site. *Foods*, 11(15), 2176.
- Zaghi, A. N., Barbalho, S. M., Guiguer, E. L., and Otoboni, A. M. (2019). Frying process: From conventional to air frying technology. *Food Reviews International*, 35(8), 763–777.
- Zarkovic, N. (2003). 4-Hydroxynonenal as a bioactive marker of pathophysiological processes. *Molecular Aspects of Medicine*, 24(4–5), 281–291.

- Zelbar-Sagi, S., Ivancovsky-Wajcman, D., Fliss-Isakov, N., Webb, M., Agur, T., Kariv, R., and Shibolet, O. (2020). Serum malondialdehyde is associated with non-alcoholic fatty liver disease and markers of NASH or fibrosis among men. *Antioxidants*, 9(11), 1071.
- Zhang, H., Forman, H. J., and Choi, J. (2013). Apoptosis induced by 4-hydroxynonenal is regulated by glutathione and Bcl-2 family proteins. *Free Radical Biology and Medicine*, 61, 61–70.
- Zhang, W., Xiao, S., and Ahn, D. U. (2013). Protein oxidation: Basic principles and implications for meat quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(11), 1191–1201.
- Zhang, X., Hou, L., Guo, Z., Wang, G., Xu, J., Zheng, Z., Sun, K., and Guo, F. (2023). Lipid peroxidation in osteoarthritis: Focusing on 4-hydroxynonenal, malondialdehyde, and ferroptosis. *Cell Death Discovery*, 9, 320.
- Zhang, Y., Henning, S. M., Lee, R. P., Huang, J., Zerlin, A., Li, Z., and Heber, D. (2015). Turmeric and black pepper spices decrease lipid peroxidation in meat patties during cooking. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 66(3), 260–265.
- Zhou, L., Zhang, W., and Wang, J. (2022). Recent advances in modified cellulose in meat products: Cellulose modification method, meat quality improvement, and safety concern. *Trends in Food Science and Technology*, 122, 140–156.
- Zhou, W., Aripova, N., Johnson, H. J., England, B. R., Schmidt, C. M., Anderson, D. R., ... and Mikuls, T. R. (2025). Malondialdehyde-acetaldehyde modified macromolecules and resulting autoantibodies in rheumatoid arthritis pathogenesis: a Systematic Literature Review. *Frontiers in Immunology*, 16, 1648290.
- Zoroddu, S., Sedda, S., Mangoni, A. A., Carru, C., and Zinellu, A. (2025). Malondialdehyde in cognitive impairment: A systematic review and meta-analysis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 181, 106531.

ÖZGEÇMİŞ

Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Beslenme ve Diyetetik bölümünden mezun olmuştur. Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Sağlık Bilimleri Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalında yüksek lisansa ve aynı üniversitede Fen Edebiyat Fakültesi Kimya bölümü lisansına devam etmektedir. Gıda kimyası, sporcu beslenmesi ve sağlıklı beslenme eğitimleri alanlarında çalışmalara devam etmektedir.