

Sütlü veya Sütsüz Hazırlanan Bebek Bisküvilerindeki Malondialdehit Biyoerişilebilirliğinin *In Vitro* Gastrointestinal Sistem ile İncelenmesi

Halime UĞUR^{1*}

¹Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, 43100, Kütahya

¹<https://orcid.org/0000-0002-2932-4215>

*Sorumlu yazar: halime.halimeugur@gmail.com

Araştırma Makalesi

Makale Tarihiçesi:

Geliş tarihi: 14.08.2022

Kabul tarihi:22.01.2023

Online Yayınlanma: 05.07.2023

Anahtar Kelimeler:

Bebek bisküvisi

İnek sütü

Oksidasyon

Malondialdehit

Biyoerişilebilirlik

ÖZ

Malondialdehit (MDA); oksidatif stres belirteci olarak en yaygın kullanılan ve ikincil oksidasyon ürünü olarak da en fazla rastlanan bileşenlerden biridir. Özellikle uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu sırasında üretilen lipid hidroperoksitlerinin ayrışması sonucu oluşmaktadır. Mutajenik ve genotoksik özellik gösteren bu bileşenin, besinlerin içeriğine ve uygulanan işlemlere göre miktarı ve biyoerişilebilirliği değişebilmektedir. Bu çalışma endüstriyel olarak işlenmiş gıdalardan biri olan bebek bisküvilerinin başlangıçtaki MDA miktarını tespit etmenin yanı sıra; sütlü ve sütsüz tüketiminin *in vitro* gastrointestinal sindirim koşullarındaki MDA miktarına etkisinin belirlenerek biyoerişilebilirliklerinin değerlendirilmesini amaçlamaktadır. Çalışmamızda İstanbul'daki farklı marketlerden toplanan 6 çeşit bebek bisküvisi ve 1 adet UHT inek sütü kullanılmıştır. Bisküviler ve inek sütünün başlangıçtaki MDA içerikleri ile *in vitro* sindirim sonrasındaki MDA içerikleri HPLC cihazı ile tespit edilmiştir. Analizi yapılan bebek bisküvilerindeki MDA miktarı 147,5-334,5 µg/20 g aralığında, inek sütünde ise 3,5 µg/30 ml olarak bulunmuştur. Ortamın pH'nın farklı olduğu (pH 1,5 ve 4) *in vitro* sindirim ortamında, inek sütü hariç sütlü ve sütsüz hazırlanan tüm bebek bisküvilerinde MDA miktarının azaldığı (p <0,05), süt ilave edilen bebek bisküvilerinde de sütsüz olanlara göre genel olarak daha düşük olduğu saptanmıştır (p <0,05) (pH 1,5'ta 1 numaralı, pH 4'te 3 numaralı bebek bisküvisi hariç). Her iki pH ortamı için ürünlerin sütlü ve sütsüz olarak MDA biyoerişilebilirliklerine bakıldığında ise, pH 4 ortamında süt ilave edilmiş bebek bisküvilerindeki değerlerin en düşük olduğu görülmüştür (%7,5-18,5). Bu bulgular, inek sütünün gastrointestinal sistemde meydana gelen lipid oksidasyonunu azaltıcı potansiyelde olabileceğini göstermektedir.

Investigation of Malondialdehyde Bioaccessibility in Baby Biscuits Prepared with or without Milk by *In Vitro* Gastrointestinal System

Research Article

Article History:

Received: 14.08.2022

Accepted: 22.01.2023

Published online: 05.07.2023

Keywords:

Baby biscuit

Cow milk

Oxidation

Malondialdehyde

Bioaccessibility

ABSTRACT

Malondialdehyde (MDA) is one of the most commonly used components as an oxidative stress marker and the most common as a secondary oxidation product. It is formed as a result of the decomposition of lipid hydroperoxides produced especially during the peroxidation of long chain polyunsaturated fatty acids. The amount and bioaccessibility of this component, which has mutagenic and genotoxic properties, may vary depending on the content of the foods and the processes applied. This study aims to determine the initial MDA amount of baby biscuits, which is one of the industrially processed foods. In addition, it also aims to evaluate the bioaccessibility of these products by determining the effect of milk and without milk consumption on the amount of MDA in *in vitro* gastrointestinal digestion conditions. In our

study, 6 types of baby biscuits and 1 UHT cow's milk collected from different markets in Istanbul were used. Initial MDA contents of biscuits and cow's milk, and MDA contents after *in vitro* digestion were determined by HPLC device. The amount of MDA in the analyzed baby biscuits was found to be between 147.5-334.5 µg/20 g, and 3.5 µg/30 ml in cow's milk. The amount of MDA in the *in vitro* digestion medium where the pH of the medium is different (pH 1.5 and 4) was examined. It was determined that MDA decreased in all products (with milk and without milk) except cow's milk ($p < 0.05$), and the amount was generally lower in baby biscuits with added milk compared to those without milk ($p < 0.05$) (Except for baby biscuits number 1 at pH 1.5 and number 3 at pH 4). When examining the MDA bioaccessibility of the products with and without milk for both pH environments, it was observed that the values in baby biscuits with added milk in pH 4 environment were the lowest (7.5-18.5%). These findings show that cow's milk may have the potential to reduce lipid oxidation occurring in the gastrointestinal tract.

To Cite: Uğur H. Sütü veya Sütsüz Hazırlanan Bebek Bisküvilerindeki Malondialdehit Biyoerişilebilirliğinin *İn Vitro* Gastrointestinal Sistem ile İncelenmesi. *Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2023; 6(2): 1369-1383.

1. Giriş

Lipid oksidasyonu; metallere, prooksidanlar ve antioksidanların seviyesi gibi içsel faktörler ile doğrama, işleme, pişirme, paketleme ve depolama gibi dışsal faktörlerin etkisiyle özellikle çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) oranı yüksek gıdalarda oluşmaktadır (Schröder ve ark., 2019; Ahmed ve ark., 2016). Besinlerin gastrointestinal sindirimi sırasında da ortamdaki PUFA'larda peroksidasyon meydana gelerek, lipid oksidasyonu son ürünleri gibi insan sağlığını olumsuz etkileyebilecek toksik bileşikler ortaya çıkmaktadır. PUFA, oksidasyona karşı hassastır ve gıdalarda renk değişiklikleri, istenmeyen tat ve koku gibi kalite bozulmalarından sorumlu tutulmaktadır (Aksoy ve ark., 2022). Lipid içeriği, miktarı ve PUFA'lar ile doymuş yağ asitleri arasındaki oran başta olmak üzere, gıdalara uygulanan ısı işlemler ve uzun depolama süreçleri lipid oksidasyonu miktarını artırmaktadır (Bertolin ve ark., 2019).

Birçok besinde doğal olarak bulunan veya eksojen olarak eklenen yağlar, besinlerin işlenmesi sırasında ısının transfer olmasını sağlamasının yanı sıra, arzu edilen doku ve lezzetin elde edilmesi için de gereklidir. Kullanılan yağlar genellikle mısır, palm, pamuk, kanola, ayçiçek ve zeytinyağını içermektedir (Difonzo ve ark., 2018). Lipid oksidasyonu, esansiyel çoklu doymamış yağ asitlerinin özelliğini kaybetmesine neden olarak birçok farklı besinsel ürünün raf ömrünü ve besleyici değerini azaltmaktadır (Ahmed ve ark., 2016).

Bisküviler; düşük maliyet ve uzun raf ömürleri nedeniyle tüketime hazır gıdalar arasında oldukça popüler olup temel olarak un, yağ, şeker, su, süt, tuz ve kimyasal kabartıcılardan oluşan bir içeriğe sahiptir. Bunlara ek olarak stevia ve inülin, şeker ve yağ içeriğini azaltarak bisküvileri yeniden formüle etmek için en çok kullanılan diğer bileşenlerdir (Pasqualone ve ark., 2021). Bisküvi yapımında kullanılan bileşenlerin en önemlilerinden olan yağların kalite farklılıklarının, bisküvilerin oksidatif bozulmasını %60 oranında etkilediği bulunmuştur (Caponio ve ark., 2009). Pişirme sırasında meydana gelen lipid oksidasyonu, bisküvilerin raf ömrü boyunca devam ederek daha yüksek

seviyelere çıkabilir (Caponio ve ark., 2006). Yapılan bir çalışmada, depolama sürecinde bisküvilerin genel oksidatif bozunmasının %30 oranında arttığı tespit edilmiştir (Caponio ve ark., 2009). Bebek bisküvileri ise tamamlayıcı beslenmenin bir bileşeni olarak tercih edilebilmekte, bu nedenle de bebeklerin özel beslenme taleplerini karşılamak için formüle edilmektedir (Bottani ve ark., 2020). Bisküviler arasında besleyici değerinin daha yüksek olduğu kabul edilen bebek bisküvisinin üretimi gıda endüstrisinde önemli bir alan olarak görülmekle birlikte, bu ürünler de lipid içerikleri ile depolama süreçleri açısından oksidasyon riski taşımaktadırlar. Bu nedenle de üreticiler lipid oksidasyonunun engellenerek bebek bisküvilerinin lezzet, tazelik ve stabilizasyonunun devamı için başta E vitamini olmak üzere farklı bileşen eklemeleri yapmaktadırlar (Ayman, 2020).

Çoklu doymamış yağ asitlerinden omega-6 ve omega-3'ün peroksidasyonu sonucu oluşan malondialdehit (MDA), yaygın bir lipid oksidasyon belirteci olarak kullanılmaktadır (Ma ve ark., 2021). MDA hücrelerde toksik strese neden olan, nükleik asitlerde eklentiler oluşturarak doku hasarına yol açan ve genotoksik aktivite göstererek dejeneratif hastalıkları tetikleyen, en kararlı ikincil lipid peroksidasyon ürünlerinden biri olarak kabul edilmektedir (Custodio-Mendoza ve ark., 2020). Canlı organizmalardaki MDA düzeylerinin mide, akciğer, meme kanseri, aterosklerotik ve kardiyovasküler hastalıklar gibi birçok patolojik durumda önemli ölçüde değiştiği görüldüğünden, bu potansiyel sağlık riskleri nedeniyle MDA daha da dikkat çekici olmuştur (Reitznerová ve ark., 2017). MDA alımının sınırlandırılması gereken limitleri resmi olarak belirtilmemiş olmakla birlikte, Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) bilimsel komitesi, toksikolojik endişe eşiği açısından 30 µg/kg v.a/gün MDA maruziyet seviyesini sınır değer olarak tavsiye etmektedir (Ma ve ark., 2021). Endüstriyel olarak üretilen bisküvilerin lipid oksidasyonunu sınırlamak için fenolik bileşikler açısından zengin nar ve mango kabuğu ile papatya, rezene, yeşil çay ve zeytin yaprağı gibi bitkilerin özlerinin kullanılmasını içeren çalışmalarda, lipitlerin oksidatif bozunmasının azaldığı, stabilitenin ve antioksidan aktivitenin arttığı görülmüştür (Pasqualone ve ark., 2021). Bebek bisküvileri de lipid içerikleri, uygulanan ısıl işlem ve depolama süreçlerinden dolayı oksidasyon açısından riskli olmakla birlikte, endüstriyel olarak oluşturulan farklı içerikler ile bu riskin azaltılması ve MDA oluşumunun sınırlandırılması potansiyeline sahip olabilirler.

Tüketilen gıdayı oluşturan bileşiklerin gıdadan ayrılarak serbest kalması ve ardından gastrointestinal sistemde emilmeye hazır ögeler için sindirim olaylarının gerçekleşerek vücuda kolay besin ögesi akışının sağlanması biyoerişilebilirlik olarak ifade edilmektedir (Andaç-Öztürk ve Yaman, 2022). *In vitro* biyoerişilebilirlik çalışmalarında insan sindirim sistemi simüle edilerek ağız, mide ve ince bağırsak fazları oluşturulur. Bu fazlarda tükürük, mide, ince bağırsak ve safra suları gibi insan sindirim sistemindeki çözeltiler kullanılmaktadır (Andaç-Öztürk ve Yaman, 2022; Yaman ve ark., 2019). Prooksidatif özelliklerle karakterize olduğu bilinen gastrointestinal sistem koşullarında lipid oksidasyonu üzerine yapılan bazı *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar; gastrik, intestinal veya her iki aşamada birden lipid oksidasyonunun meydana geldiğine dair önemli bulgular elde etmiştir (Nieva-Echevarría ve ark., 2020). Özellikle et ve et ürünlerinde MDA oluşumu iyi bilinmesine rağmen, bebek

bisküvisinin sütlü ve sütsüz tüketim çeşitleri ile sindirim sistemi koşullarındaki MDA varlığına yönelik çalışmaların kapsamı sınırlıdır. Bebeklerin mide pH'ı yetişkinlerinkinden daha yüksektir. Bebeklerin özellikle 0-6 aylık dönemlerinde sindirim sistemi tam olarak gelişmemiş olup yetişkinlere göre sindirim enzimleri, bu enzimlerin konsantrasyonları ve mide asiditesi daha farklıdır. Bebek ve yetişkinlerin mide pH'ları sırasıyla 3,8-4,7 ve 1,5-1,8 arasında değiştiğinden *in vitro* çalışmalarda bu durum dikkate alınmalıdır (Bourlieu ve ark., 2014; Nguyen ve ark., 2015). Bazı bileşenlerin biyoerişilebilirlik miktarı, bu mide pH'ına bağlı olarak farklılık gösterebilir (Uğur ve ark., 2020).

İn vitro sindirim sistemi kullanılarak MDA'ya maruziyetin tahmini olarak belirlenmesi, EFSA'nın önerileri ile günlük alınan miktarın karşılaştırılmasının daha doğru bir şekilde yapılmasına yardımcı olmasının yanı sıra ürün içeriği geliştiricilerin MDA alımının azaltulmasında farklı yaklaşımlar geliştirmesine de katkı sağlayabilir. Bu durumdan yola çıkarak çalışmanın amacı bebek bisküvilerinin başlangıçtaki MDA miktarını tespit etmek ve sütlü veya sütsüz olarak tüketilen bebek bisküvisi örneklerinde *in vitro* gastrointestinal sindirim sonrası MDA oluşumunun belirlenerek biyoerişilebilirliklerinin değerlendirilmesidir.

2. Materyal ve Metot

2.1. Materyal

Metanol, trikloroasetik asit, tetraetoksipropan, potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄), Alfa-amilaz (1,5 U/mg), lipaz (100-500 U/mg), pankreatin (8×USP), pepsin (≥250 U/mg), NaCl, CaCl₂·2H₂O, üre, ürik asit, sığır serum albümini, KCl, mürin, NaHCO₃, asetonitril, safra tuzları karışımı Sigma-Aldrich'ten (St. Louis, MO, ABD) temin edilmiştir. Bu çalışmada analitik saflıkta kimyasallar kullanılmıştır.

Tablo 1. Ağız, mide, ince bağırsak ortamı ve safra sıvısının bileşenleri ve konsantrasyonları

	Ağız ortamı	Mide ortamı	İnce bağırsak ortamı	Safra sıvısı
Bileşenler (organik ve inorganik)	1,7 mL NaCl (175,3 g/L)	16,5 mL HCl (37 g/L)	6,5 mL KCl (89,6 g/L)	68 mL NaHCO ₃ (84,7 g/L)
	8 mL üre (25 g/L)	18 mL CaCl ₂ ·2H ₂ O (22,2 g/L)	9 mL CaCl ₂ ·2H ₂ O (22,2 g/L)	10 mL CaCl ₂ ·2H ₂ O (22,2 g/L)
	15 mg ürik asit	1 g sığır serum albümini	1 g sığır serum albümini	1,8 g sığır serum albümini 30 g safra
Enzimler	280 mg α-amilaz	2,5 g pepsin	9 g pankreatin	
	25 mg mürin	3 g mürin	1,5 g lipaz	
pH	6,8 ± 0,2	1,50 ± 0,1	8,0 ± 0,2	7,0 ± 0,2

2.2. Örneklem

Bu çalışmada 6 farklı bebek bisküvisi ve bir UHT inek sütü İstanbul'daki farklı marketlerden toplanmıştır. Satın alınan ürünler analiz edilinceye kadar serin ve kuru bir yerde muhafaza edilmiştir.

2.3. *In vitro* sindirim

Bebek bisküvileri ve UHT inek sütünün biyoerişilebilirliğinin belirlenmesi için *in vitro* sindirim sistemi kullanılmıştır (Lee ve ark., 2016). Her bir bebek bisküvisi ve süt numunesinin birlikte *in vitro* olarak sindirilmesi için 2 g bebek bisküvisi ve 3 ml süt 50 ml'lik Falcon tüplerine konulmuştur. Enzimler, organik ve inorganik bileşikler kullanılarak hazırlanan ağız, mide, ince bağırsak ortamı ve safra sıvısının bileşimi Tablo 1'de verilmiştir. Her bir ortam için Tablo 1'de verilen organik ve inorganik bileşenler ayrı ayrı 500 mL ölçülü şişelerde deiyonize su ile çözülüp daha sonra hacim yine deiyonize su ile tamamlanarak pH ayarlanmıştır. Ağız, mide, ince bağırsak ve safra fazlarının her birinde pH istenen değerde olmadığına, asit veya bazlarla pH aralığının optimizasyonu sağlanmıştır.

In vitro sindirim sistemi; ağız, mide, ince bağırsak ve safra fazı olmak üzere üç aşamadan oluşmaktadır. İlkinde; Falcon tüplerindeki örnekler (bebek bisküvisi, süt ve bebek bisküvisi+süt) 5 mL ağız sıvısı eklenerek çalkalamalı su banyosunda 37°C'de 5 dakika boyunca karıştırılıp inkübe edilmiştir. İkinci aşamada, önceki aşamadan elde edilen numuneye 10 mL mide sıvısının eklenerek 37°C'de 2 saat boyunca yine çalkalamalı su banyosundaki inkübasyona tabi tutulmuştur. Son aşama ise, mide aşamasından kalan karışıma 10 mL ince bağırsak sıvısı ve 5 mL safra sıvısının eklenmesini içermiştir. Bu aşamada pH ayarlandıktan sonra test numunesi aynı şekilde 2 saat 37°C'de çalkalamalı su banyosunda inkübe edilmiştir. Sindirimden sonra kalan numunenin son hacmi distile su ile 50 mL'ye tamamlanmıştır. Çözelti daha sonra 8000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek, 0,45 µm CA filtreden süzülüp hemen analiz edilmiştir.

2.4. Malondialdehit analizi

Sindirime uğramış ve sindirime uğramamış bebek bisküvileri ile inek sütünün MDA analizi, Bertolín ve arkadaşları ile Zhang ve arkadaşları tarafından önerilen metodlar kullanılarak yapılmıştır (Bertolín ve ark., 2019; Zhang ve ark., 2015). Bu çalışmada analizlerde kullanılmak üzere %10'luk trikloroasetik asit (TCA) çözeltisi ve %0,67 tiyobarbitürik asit (TBA) çözeltisi distile su kullanılarak hazırlanmıştır. Tetraetoksipropan standardının hazırlanması için, 0,5 mL tetraetoksipropan standardı 100 mL'lik balon joje içine alınarak hacmi etanol ile tamamlanmıştır. Daha sonra hazırlanan bu stok çözeltiden 0,1 mL alınmış ve 100 mL'lik balon joje içine konulmuştur. Çözeltinin hacmi %10'luk TCA çözeltisi ile tamamlanmıştır.

Numune hazırlama kısmında öncelikle sindirime uğramamış bisküvi örneklerinden 5 g, UHT inek sütünden 5 mL alınmış ve 50 mL Falcon tüplere konulmuştur. Daha sonra üzerlerine 25 mL %10'luk TCA çözeltisinden eklenmiştir. Oksidasyonu önlemek için 150 µL %7,2 BHT çözeltisi ilave edilmiştir. UltraTurrax® parçalayıcı kullanılarak homojenizasyon işlemi gerçekleştirilmiş olup (1 dk) son hacim %10'luk TCA ile 50 mL'ye tamamlanmıştır. Daha sonra 8000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiş ve santrifüj edilen süpernatanttan 1 mL 15 mL'lik cam tüp içine alınmıştır. Türevlendirme için 1 mL TBA çözeltisi ilave edilmiştir. Sindirime uğramış örneklerden ise 1 mL alınmış ve aynı miktarda TBA türevlendirme çözeltisi eklenmiştir. Sıcaklığı 90°C olan su banyosunda 30 dakika bekletilmiştir.

Oda sıcaklığına geldikten sonra 0,45-µm'lik CA filtreden süzülüp 2 mL'lik amber viallere konulmuş ve yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) cihazına verilmiştir.

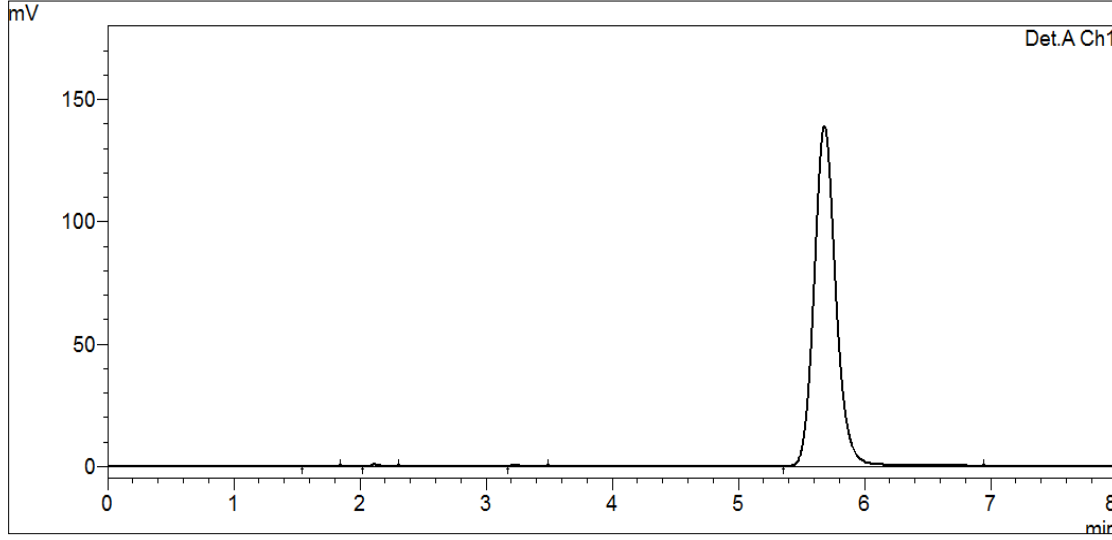
Standart hazırlarken öncelikle 0,1 mL tetraetoksipropan standardından alınmış ve 15 mL'lik cam bir test tüpü içine konulmuştur. Daha sonra üzerine türevlendirme için 1 mL TBA çözeltisi ilave edilmiştir. Sıcaklığı 90°C olan su banyosunda 10 dakika tutulmuş ve oda sıcaklığında soğutulmuştur. Sonrasında 0,45-µm'lik CA filtreden süzülüp 2 mL'lik amber viallere konularak HPLC'ye verilmiştir. Bir Shimadzu SPD-20A FLD dedektörü (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonya) ile bir Shimadzu LC 20AT pompasından oluşan HPLC sistemi kullanılmıştır. Mobil faz, 0,05 M KH₂PO₄ tampon çözeltisi/metanol/asetonitril (72/17/11) karışımından oluşturulmuştur. MDA'nın saptanması için FLD dedektörde eksitasyon 515 nm ve emisyon ise 550 nm'ye ayarlanmıştır. Akış hızı 1 mL/dk olan bir Inertsil ODS-3 (5 µm, 4,6 mm x 150 mm) kolonu tercih edilmiş olup enjeksiyon hacmi 10 µL olarak belirlenmiştir. Kolon sıcaklığı 30°C olarak ayarlanmıştır.

2.5. İstatistiksel analiz

Tüm analizler üç tekrar şeklinde yapılmış olup ortalama değerler belirtilmiştir. İstatistiksel analiz için Minitab Statistical Software Version 21.1.0 programı kullanılmıştır. Tek faktörlü varyans analizi uygulanmış olup farklılıkların anlamlılık düzeyi %5 olarak belirlenmiştir (ANOVA; p <0,05). Varyans analizi sonuçlarına göre gerekli görüldüğü durumlarda, varyasyon kaynaklarının ortalamalarını karşılaştırmak için çoklu karşılaştırma testi (Tukey testi p <0,05) uygulanmıştır.

3.Bulgular ve Tartışma

Çalışmada 6 çeşit bebek bisküvisi ve 1 adet UHT inek sütünde, bir lipid oksidasyon ürünü olan MDA'nın başlangıçtaki miktarı ile bisküvilerin sütsüz ve süt ilave edilmiş şeklinin *in vitro* sindirimden sonraki MDA miktarı HPLC yöntemi ile belirlenmiştir. Süt ilavesiz bebek bisküvisi 4'ün HPLC kromatogramı Şekil 1'de gösterilmiştir. İncelenen tüm bebek bisküvisi ve UHT inek sütünün etiketinde beyan edilen içerikler ile bazı etiket bilgileri, başlangıç ve sindirim sonrası ölçülen MDA miktarı ile biyoerişilebilirlik sonuçları Tablo 2 ve 3'te verilmiştir.



Şekil 1. Süt ilavesiz bebek bisküvisi örnek 4'teki MDA'nın HPLC kromotogramı

Tablo 2'de görüldüğü gibi bebek bisküvilerinin tamamı un, süt, şeker (5 numaralı bebek bisküvisi hariç), çeşitli yağlar, vitaminler, mineraller ve kabartıcılar içermekle birlikte bazı ürünler yumurta, pirinç unu, mısır unu, keçiyoynuzu unu, irmik, kepek, nişasta, pekmez, vanilya, tuz, aroma vericiler, inülin, ayçiçeği lesitini ve elma suyu konsantresi gibi çok çeşitli bileşenler de içermektedir. Yine tablo 2'de görüldüğü gibi bebek bisküvilerinin yapımında kullanılan çeşitli yağ türleri (ayçiçeği, palm, pamuk ve kanola) doymuşluk derecesi farklı olan yağ asitleri içeriği ile yağ oksidasyonuna neden olup MDA oluşumuna zemin hazırlarken, bisküvilerin içeriğinde yukarıda sayılan çeşitli bileşenlerden bazıları MDA miktarını artırıp bir kısmı ise azaltıcı etki gösterebilir (Jaarin ve Kamisah, 2012; Całyniuk ve ark., 2016; Falade ve ark., 2017).

Tablo 3'e bakıldığında başlangıçta en yüksek MDA içeriğine sahip bebek bisküvilerinin sırasıyla 4, 5 ve 1 numaralı örnekler olduğu görülmektedir (sırasıyla 334,5, 297,6 ve 285,3 µg/20 g). Bu örneklerin aynı zamanda doymamış yağ asidi içeriği diğer örneklerle göre daha yüksektir (Tablo 2). Sindirim sonrasında ise daha düşük doymamış yağ asidi miktarına sahip bazı ürünlerin daha yüksek MDA içermesi ve bu durumun süt ilaveli-ilavesiz bebek bisküvilerinin her ikisinde de geçerli olması, *in vitro* sindirim koşullarının başlangıç değerine kıyasla MDA miktarlarını önemli ölçüde etkilediğini ortaya koymaktadır.

Ürünler sütlü ve sütsüz olarak pH'ın 1,5 olduğu *in vitro* mide ortamına maruz bırakılıp sindirim sonrası MDA değerleri ölçüldüğünde, 1 numaralı bebek bisküvisi hariç diğer örneklerin süt eklendiğindeki MDA değerlerinin daha düşük olduğu görülmüştür ($p < 0,05$) (süt eklendiğindeki aralık 23,9-80,4 µg/20 g+30 ml; süt eklenmediğindeki aralık 29,4-86,4 µg/20 g). Tek başına incelenen inek sütünün ise başlangıçta 3,5 µg/30 ml olan MDA düzeyinin, pH 1,5'te 5,5 µg/30 ml olarak arttığı bulunmuştur ($p < 0,05$). Aynı şekilde ürünler sütlü ve sütsüz olarak pH'ın 4 olduğu *in vitro* mide ortamına maruz bırakılıp sindirim sonrası MDA değerleri ölçüldüğünde, 3 numaralı bebek bisküvisi hariç (sütlü ve sütsüz aynı değere sahip; 40,8 µg) diğer örneklerin yine süt eklendiğindeki MDA

değerlerinin daha düşük olduğu görülmüştür ($p < 0,05$) (süt eklendiğindeki aralık 23,5-45,2 $\mu\text{g}/20 \text{ g}+30 \text{ ml}$; süt eklenmediğindeki aralık 29,8-81,8 $\mu\text{g}/20 \text{ g}$). Tek başına incelenen inek sütünün ise pH 4'te 6,5 $\mu\text{g}/30 \text{ ml}$ olan MDA seviyesi ile, hem başlangıç hem pH 1,5'e göre yine MDA değerinin arttığı bulunmuştur (sırasıyla 3,5 ve 5,5 $\mu\text{g}/30 \text{ ml}$) ($p < 0,05$). Ortamın pH farklılığına göre MDA miktar kıyaslaması yapıldığında, inek sütü ve 2 numaralı bebek bisküvisi hariç tüm ürünlerin sütlü ve sütsüz halinin pH 1,5'teki 23,9-86,4 μg olan MDA aralığının pH 4'te daha düşük olduğu bulunmuştur (23,5-81,8 μg). Her iki pH ortamı için ürünlerin sütlü ve sütsüz olarak MDA biyoerişilebilirliklerine bakıldığında, en düşük değerlerin pH 4 ortamında süt ilave edilmiş bebek bisküvilerinde olduğu belirlenmiştir (%7,5-18,5). İnek sütünde ise farklı olarak pH 4'teki MDA biyoerişilebilirliğinin pH 1,5'a göre daha yüksek olduğu saptanmıştır (sırasıyla %188,3 ve %160,1).

Gıdalarda lipid oksidasyon ürünlerinin konsantrasyonunun artması veya değişmeden kalması, gıdada bulunan lipidin karakteristiğinin yanı sıra prooksidan veya antioksidan özellik gösterebilen diğer bileşenlerin beraber varlığına da bağlıdır (Nieva-Echevarría ve ark., 2020). Süt ve süt ürünlerinin kükürt içeren sistein amino asitlerini, A ve E vitaminlerini, karotenoidleri, süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimleri bulundurmaları onların antioksidan kapasitesini meydana getirmektedir. Süt ayrıca isoflavonlar grubundan daidzeinin polifenolik bir metaboliti olan, antioksidan aktivitesi bilimsel olarak kanıtlanmış *equol*'ü de kayda değer miktarda içermektedir (Khan ve ark., 2019). Sütün tüm bu antioksidan özellikleri, çalışmamızda bebek bisküvilerinin süt katılmış örneklerinin *in vitro* sindirim sonrası MDA miktarı ve biyoerişilebilirliğinin süt katılmayan örneklere göre daha düşük olmasını açıklamaktadır. Literatür taramasında gıdaların sütlü ve sütsüz olarak tüketiminin *in vitro* ortamda MDA düzeyine etkisini inceleyen çalışmalara yoğunlaşmadığı görülmüştür. Lamothe ve arkadaşlarının kazein ile whey proteinlerinin *in vitro* ortamda keten tohumu yağının oksidasyonu üzerine etkisini inceledikleri bir çalışmada, kazeinin whey proteinlerine göre oksidasyona karşı daha koruyucu olduğu bulunmuştur (Lamothe ve ark., 2019). Kazein içeriği whey proteinlerine göre daha yüksek olan inek sütünün, çalışmamızda süt ilave edilmiş bebek bisküvilerindeki MDA içeriğini düşürmesi bu özelliği açısından da daha anlaşılır olmaktadır. Arshad ve arkadaşları tarafından süttten elde edilen biyoaktif peptitlerin sığır etinden yapılmış nuggetların lipid stabilitesi üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, bu peptitlerin ette meydana gelen lipid oksidasyonunu azalttığı, oksidasyonla ilişkili doğal süreçleri geciktirerek raf ömrünü uzattığı ve böylece oksidatif stabilitenin iyileştirilmesinde kilit bir faktör olduğu belirtilmiştir (Arshad ve ark., 2022).

Bebek bisküvilerinin önemli düzeyde yağ içeriğine sahip olduğu görülmektedir (Tablo 2). Yağların içeriğinde doğal olarak bulunan veya sonradan eklenen tokoferoller yüksek antioksidan aktiviteye sahip olmakla birlikte, yüksek sıcaklıklara maruz kaldıklarında kararsız davranıp pişirme ve kızartma gibi işlemler sırasında sınırlı bir etkinlik gösterirler (Fukasawa ve ark., 2009). Polifenollerin ise yüksek sıcaklık işlemlerine tabi tutulan yağlarda, tokoferollerden daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Jiménez ve ark., 2017). Çalışmamızda da inek sütünün tek başına

değerlendirildiğinde, pH 1,5 ve 4'te başlangıç miktarına göre daha yüksek seviyelerde MDA içerdiği görülmüştür. Ayrıca süt eklenmemiş bisküvilerin süt eklenen bisküviler kadar olmasa da *in vitro* koşullarda MDA miktarları düşmüştür. Dolayısıyla bebek bisküvilerindeki bu MDA düşüşü sadece sütün antioksidan kapasitesine bağlanmayıp bisküvilerin içerdiği diğer maddelerin muhtemel antioksidan aktiviteleri de göz önünde bulundurulmalı ve bu içeriklerin *in vitro* koşullardaki etkileşiminin MDA miktarını etkileyebileceği düşünülmelidir. Bu kapsamda, omega-3 yağ asitleri ile zenginleştirilmiş süte bir soya ürünü olan yüksek fenolik içeriğe sahip *Okara* eklenerek sütteki oksidasyonun oluşumunun araştırıldığı bir çalışmada, 8 günlük depolama sonucunda *Okara* eklenmemiş süte kıyasla *Okara* eklenmiş sütte daha yüksek düzeyde MDA oluşumunun engellendiği görülmüştür (Vital ve ark., 2018). Difonzo ve arkadaşlarının yüksek fenolik içeriğe sahip zeytin yapraklarının fırıncılık ürünlerine eklenerek oksidatif stabilite ve raf ömrü üzerindeki etkisini araştırdıkları bir başka çalışmada ise, zeytin yapraklarının yüksek fenolik içerikleri nedeniyle oksidatif bozunmayı önemli ölçüde azalttığı ve raf ömrünü uzattığı bulunmuştur (Difonzo ve ark., 2018). Yine limon kabuğundan elde edilen doğal antioksidanlarla zenginleştirilerek hazırlanan bisküvilerin incelendiği bir diğer çalışmada, ürünlerin yüksek fenolik içerik ve antioksidan kapasite ile birlikte lipid oksidasyonuna karşı dirençlerinin daha fazla olduğu saptanmıştır (Imeneo ve ark., 2021).

Özet olarak bebek bisküvisi örneklerinin başlangıçtaki MDA değerlerinin, EFSA'nın tavsiye ettiği maruziyet seviyesi sınırı düşünüldüğünde (30 µg/kg v.a/gün) yüksek olduğu görülmüştür. Bebek bisküvilerinde MDA oluşumu yağ içeriği, miktarı ve çeşidi başta olmak üzere üretim aşamasında uygulanan ısıl işlemler, bisküvideki diğer bileşenlerin varlığı ve uzun depolama süreçleri ile ilişkilendirilebilir. Çalışmamızda *in vitro* sindirime tabi tutulan süt eklenmiş bebek bisküvilerindeki MDA azalışıyla uyumlu olarak, literatürde de süt içeriğindeki antioksidan bileşiklere ve ürünlerin içeriğinde bulunan antioksidan özellik gösterebilen (fenolik bileşikler) diğer bileşenlere bağlı olarak sindirim sırasında meydana gelen oksidatif süreçler sonucu oluşan lipid peroksidasyonunun azaldığı belirtilmektedir.

Tablo 2. Bebek bisküvisi ve inek sütü örneklerinde beyan edilen besinsel içerik bilgileri

Örnek	İçerik	Toplam Yağ (g/100g)	Doymuş Yağ (g/100g)	Menşei
Bebek Bisküvisi 1	Organik buğday unu, organik şeker, organik bitkisel yağ (Palm), organik pirinç unu, vitaminler, mineraller, kabartıcılar, organik süt	13,6	5,8	Türkiye
Bebek Bisküvisi 2	Tam buğday unu, keçiyoynuzu unu, şeker, bitkisel yağlar (ayçiçek, pamuk, kanola), keçi sütü, mısır nişastası, hurma pekmezi, vitaminler, mineraller, yumurta, kabartıcılar, vanilya, tuz	14,2	8	Türkiye
Bebek Bisküvisi 3	Buğday unu, şeker, bitkisel yağlar (palm, ayçiçek, pamuk, kanola), nişasta, pastörize yağsız süt, pastörize yumurta, kabartıcılar, tuz, mineraller, vitamin karışımı, aroma vericiler	14,0	7,5	Türkiye
Bebek Bisküvisi 4	Buğday unu, pirinç unu, şeker, bitkisel yağlar (palm, ayçiçek), buğday nişastası, tam yağlı pastörize süt, inülin, vitaminler, mineraller, kabartıcılar, tuz, yumurta, emülsifiyer (ayçiçeği lesitini), aroma vericiler	15,0	6,9	Türkiye
Bebek Bisküvisi 5	Buğday unu, tam buğday unu, pirinç unu, elma suyu konsantresi, bitkisel yağlar (palm, ayçiçek), kabartıcılar, tam yağlı pastörize süt, keçiyoynuzu pekmezi, süt tozu, vitaminler, mineraller, aroma vericiler	15,0	7,3	Türkiye
Bebek Bisküvisi 6	Buğday unu, tam buğday unu, pirinç unu, mısır unu, keçiyoynuzu unu, şeker, bitkisel yağlar (palm, ayçiçek, pamuk, kanola), mısır irmiği, nişasta, pastörize yağsız süt, inülin, kepek, vitaminler, mineraller, pastörize yumurta, aroma vericiler, kabartıcılar	13,2	6,9	Türkiye
UHT İnek Sütü	3% yağlı inek sütü	3,0	1,9	Türkiye

Tablo 3. Sütlü ve sütsüz hazırlanan bebek bisküvisi örneklerinde başlangıç ve sindirim sonrası MDA miktarı ile *in vitro* biyoerişilebilirliği

Örnek numarası	Başlangıç değeri (bisküvi) ($\mu\text{g}/20\text{ g}$)	Başlangıç değeri (bisküvi+süt) ($\mu\text{g}/20\text{ g} + \mu\text{g}/30\text{ ml}$)	Sindirim sonrası ($\mu\text{g}/20\text{ g}$)				% Biyoerişilebilirlik			
			pH 1,5		pH 4		pH 1,5		pH 4	
			Sütlü	Sütsüz	Sütlü	Sütsüz	Sütlü	Sütsüz	Sütlü	Sütsüz
1	285,3 \pm 9,8 ^a	288,8 \pm 9,8 ^a	49,3 \pm 2,4 ^b	40,0 \pm 1,4 ^c	24,6 \pm 2,0 ^d	37,9 \pm 1,3 ^c	17,1 \pm 1,4 ^a	14,0 \pm 0,1 ^b	8,5 \pm 1,0 ^c	13,3 \pm 0,7 ^b
2	147,5 \pm 6,3 ^a	151,0 \pm 6,3 ^a	23,9 \pm 2,6 ^b	29,4 \pm 1,9 ^c	23,5 \pm 0,9 ^b	29,8 \pm 2,4 ^c	15,9 \pm 2,3 ^a	20,0 \pm 2,1 ^b	15,6 \pm 0,6 ^a	20,2 \pm 0,8 ^b
3	249,0 \pm 7,4 ^a	252,5 \pm 7,4 ^a	63,5 \pm 4,1 ^b	75,0 \pm 2,7 ^c	40,8 \pm 2,6 ^d	40,8 \pm 2,9 ^d	25,1 \pm 1,0 ^a	30,1 \pm 0,3 ^b	16,2 \pm 0,9 ^c	16,4 \pm 0,7 ^c
4	334,5 \pm 5,8 ^a	338,0 \pm 5,8 ^a	51,3 \pm 3,9 ^b	72,7 \pm 2,7 ^c	25,3 \pm 1,4 ^d	36,9 \pm 1,8 ^e	15,2 \pm 0,9 ^a	21,7 \pm 1,2 ^b	7,5 \pm 0,5 ^c	11,0 \pm 0,4 ^d
5	297,6 \pm 7,8 ^a	301,1 \pm 7,8 ^a	52,4 \pm 2,8 ^b	61,3 \pm 3,2 ^c	35,8 \pm 2,6 ^d	50,3 \pm 2,9 ^b	17,4 \pm 1,4 ^a	20,6 \pm 0,8 ^b	11,9 \pm 0,8 ^c	16,9 \pm 0,7 ^a
6	240,8 \pm 4,5 ^a	244,3 \pm 4,5 ^a	80,4 \pm 5,4 ^b	86,4 \pm 3,4 ^b	45,2 \pm 2,5 ^c	81,8 \pm 3,4 ^b	32,9 \pm 1,6 ^a	35,9 \pm 0,8 ^b	18,5 \pm 1,4 ^c	34,0 \pm 0,8 ^b
Süt ($\mu\text{g}/30\text{ ml}$)	3,5 \pm 0,4 ^a		5,5 \pm 0,5 ^b		6,5 \pm 0,4 ^c		160,1 \pm 10,2 ^a		188,3 \pm 27,0 ^b	

Ortalama değer (n = 3) standart sapma ile verildi. Aynı satırdaki farklı harfler, istatistiksel olarak ortalama değerler arasındaki önemli farklılığı ifade eder. (ANOVA, p <0,05, Tukey's test).

Mide pH'ı 1,5'te MDA miktarının daha yüksek olması, midedeki kimyasal reaksiyonlardan ve mide suyunun yüksek asitliğine bağlı lipid oksidasyon artışından kaynaklanmış olabilir (Aksoy ve ark., 2022). Bu bulgular bebek bisküvilerinden kaynaklı MDA'ya tahmini diyetSEL maruziyetin daha doğru bir şekilde yorumlanma olasılığını artırır. Ayrıca, özellikle doymamış yağ içeriği nedeniyle lipid oksidasyonu geliştirmesi muhtemel gıdaların üretilmesi veya tüketilmesi sırasında süt ve süt ürünleri ile birlikte, eklenmesi güvenli kabul edilen polifenollerden zengin antioksidan aktiviteye sahip gıda bileşenlerinin kullanımının etkili bir yaklaşım olabileceği görülmektedir. Çalışma sonuçlarımıza göre, birçoğunun etiketinde 6.aydan itibaren kullanımının uygun olduğu belirtilen bebek bisküvilerinin tüketiminin oksitlenme kaynaklı zararlı sonuçları, bisküvi içeriğindeki antioksidan veya prooksidan özellik gösteren diğer bileşenlerin varlığına bağlıdır. Ayrıca bireyin inek sütü tüketimine engel bir durum olmadığında (0-1 yaş, alerji vs.) bebek bisküvisinin süt ilave edilerek alınmasının MDA tüketim miktarını azaltılabileceği düşünülmektedir.

4. Sonuç

Lipid oksidasyon mekanizmalarının detaylı bir şekilde incelenmesi ve çeşitli gıdalara özgü olarak oksidasyonun başlama basamağının tespiti, oksidasyon sonucu oluşan belirteç niteliğindeki bileşenlerin seviyesinin belirlenmesi, inhibisyon olasılıkları ve mekanizmalarının aydınlatılması gıdalarda oluşabilecek lipid oksidasyonunu önlemek için önemli faktörlerdir. Lipid oksidasyonu sonucu oluşan MDA bileşiği çeşitli kanser türleri, aterosklerotik ve kardiyovasküler hastalıklar gibi birçok hastalığın oluşumu ve ilerlemesinde potansiyel sağlık riskleri nedeniyle önemli görülmektedir. Günümüzde bebek bisküvilerinin tamamlayıcı beslenme döneminde kullanımı tercih edilebilmekte ve bu döneme yönelik olarak bisküvilerde özel formüller geliştirilebilmektedir. Literatürde MDA'nın *in vitro* biyoerişilebilirliği ile ilgili bisküviler üzerine yapılmış sınırlı sayıda çalışma vardır. Çalışmamızda genel olarak en düşük MDA içeriğinin pH 4 ortamında süt ilave edilerek tüketilen bebek bisküvilerinde olduğu ve MDA'nın biyoerişilebilirliğinin süt hariç tüm bebek bisküvilerinde düştüğü saptanmıştır. Bisküvilerdeki yağ içeriği, çeşidi, kalitesi ve miktarının yanı sıra diğer bileşenlerin varlığı, endüstriyel olarak uygulanan işlemler ve depolama sürecinin ürünlerdeki MDA miktarına etki etmekle birlikte, bisküvilerin sütlü veya sütsüz tüketiminin de *in vitro* ortamdaki lipid peroksidasyonunu etkileyebileceği düşünülmektedir. Bisküvi yapımında oksidasyon oluşumunu artıracak yağ çeşidi kullanımının ve miktarının azaltılması, antioksidan aktiviteyi artıracak güvenli bileşenlerin izin verilen ölçüde eklenmesi ve bu ürünlerin süt ile birlikte tüketimi daha düşük MDA biyoerişilebilirliği oluşturabilir.

Lipidlerin oksidasyonunu tetikleyen içsel ve dışsal faktörler düşünüldüğünde, birçok gıda ürününün oksidasyon açısından riskli olabileceği ve bunun ayrıntılı bir şekilde anlaşılmasına yönelik daha çok çeşit ürünle daha fazla bilimsel çalışma yapılmasının gerekliliği ortaya konulmaktadır.

Etik Standartların Beyanı

Bu makalenin yazarları çalışmalarında kullandıkları materyal ve yöntemlerin etik kurul izni ve/veya yasal-özel bir izin gerektirmediğini beyan ederler.

Çıkar Çatışması

Bu çalışmada herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

Kaynakça

- Ahmed M., Pickova J., Ahmad T., Liaquat M., Farid A., Jahangir M. Oxidation of lipids in foods. *Sarhad Journal of Agriculture* 2016; 32(3): 230-238.
- Aksoy AS., Arici M., Yaman M. The effect of hardaliye on reducing the formation of malondialdehyde during in vitro gastrointestinal digestion of meat products. *Food Bioscience* 2022; 101747.
- Andaç Öztürk S., Yaman, M. Investigation of bioaccessibility of vitamin C in various fruits and vegetables under in vitro gastrointestinal digestion system. *Journal of Food Measurement and Characterization* 2022; 16(5): 3735-3742.
- Arshad MS., Hina G., Anjum FM., Suleria HAR. Effect of milk-derived bioactive peptides on the lipid stability and functional properties of beef nuggets. *Scientific Reports* 2022; 12(1): 1-12.
- Ayman S Mazahreh. Evaluation of fat and vitamin e in some baby biscuit. *Acta Scientific Nutritional Health* 2020; 49-51.
- Bertolín JR., Joy M., Blanco M. Malondialdehyde determination in raw and processed meat products by UPLC-DAD and UPLC-FLD. *Food Chemistry* 2019; 298: 125009.
- Bottani M., Cattaneo S., Pica V., Stuknyté M., Gomarasca M., Lombardi G., Ferraretto A. Gastrointestinal in vitro digests of infant biscuits formulated with bovine milk proteins positively affect in vitro differentiation of human osteoblast-like cells. *Foods* 2020; 9(10): 1510.
- Bourlieu C., Menard O., Bouzerzour K., Mandalari G., Macierzanka A., Mackie AR., Dupont D. Specificity of infant digestive conditions: some clues for developing relevant in vitro models. *Crit. Rev. Food Sci. Nut* 2014; 54: 1427–1457.
- Całyniuk B., Grochowska-Niedworok E., Walkiewicz KW., Kawecka S., Popiołek E., Fatyga E. Malondialdehyde (MDA)–product of lipid peroxidation as marker of homeostasis disorders and aging. In *Annales Academiae Medicae Silesiensis* 2016; 70: 224-228.
- Caponio, F., Summo C., Delcuratolo D., Pasqualone A. Quality of the lipid fraction of Italian biscuits. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2006; 86: 356–361.
- Caponio F., Summo C., Paradiso, VM., Pasqualone A., Gomes T. Evolution of the oxidative and hydrolytic degradation of biscuits' fatty fraction during storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2009; 89: 1392–1396.

- Custodio-Mendoza JA., Aja-Macaya J., Valente IM., Rodrigues JA., Almeida PJ., Lorenzo RA., Carro AM. Determination of malondialdehyde, acrolein and four other products of lipid peroxidation in edible oils by Gas-Diffusion Microextraction combined with Dispersive Liquid-Liquid Microextraction. *Journal of Chromatography A* 2020; 1627: 461397.
- Difonzo G., Pasqualone A., Silletti R., Cosmai L., Summo C., Paradiso VM., Caponio F. Use of olive leaf extract to reduce lipid oxidation of baked snacks. *Food Research International* 2018; 108: 48-56.
- Falade AO., Oboh G., Okoh AI. Potential health Implications of the consumption of thermally-oxidized cooking oils—a review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 2017; 67(2): 95-105.
- Fukasawa R., Kanda A., Hara S. Anti-oxidative effects of rooibos tea extract on autoxidation and thermal oxidation of lipids. *Journal of Oleo Science* 2009; 58: 275–283.
- Imeneo V., Romeo R., Gattuso A., De Bruno A., Piscopo A. Functionalized biscuits with bioactive ingredients obtained by Citrus lemon pomace. *Foods* 2021; 10(10): 2460.
- Jaarin K., Kamisah Y. Repeatedly heated vegetable oils and lipid peroxidation. *Lipid Peroxidation* 2012; 2018: 211-228.
- Jiménez P., García P., Bustamante A., Barriga A., Robert P. Thermal stability of oils added with avocado (*Persea americana* cv. Hass) or olive (*Olea europaea* cv. Arbequina) leaf extracts during the French potatoes frying. *Food Chemistry* 2017; 221: 123-129.
- Khan IT., Nadeem M., Imran M., Ullah R., Ajmal M., Jaspal MH. Antioxidant properties of Milk and dairy products: A comprehensive review of the current knowledge. *Lipids in Health and Disease* 2019; 18(1): 1-13.
- Lamothe S., Desroches V., Britten M. Effect of milk proteins and food-grade surfactants on oxidation of linseed oil-in-water emulsions during in vitro digestion. *Food Chemistry* 2019; 294: 130-137.
- Lee SJ., Lee SY., Chung MS., Hur SJ. Development of novel in vitro human digestion systems for screening the bioavailability and digestibility of foods. *Journal of Functional Foods* 2016; 22: 113–121.
- Ma L., He Q., Qiu Y., Liu H., Wu J., Liu G., Zhu, L. Food matrixes play a key role in the distribution of contaminants of lipid origin: A case study of malondialdehyde formation in vegetable oils during deep-frying. *Food Chemistry* 2021; 347: 129080.
- Nguyen TP., Bhash B., Julie C., Sangeeta P. A comprehensive review on in vitro digestion of infant formula. *Food Res. Int* 2015; 76: 373-386.
- Nieva-Echevarría B., Goicoechea E., Guillén MD. Food lipid oxidation under gastrointestinal digestion conditions: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2020; 60(3): 461-478.
- Pasqualone A., Haider NN., Summo C., Coldea TE., George SS., Altemimi AB. Biscuit contaminants, their sources and mitigation strategies: A review. *Foods* 2021; 10(11): 2751.

- Reitznerová A., Šuleková M., Nagy J., Marcinčák S., Semjon B., Čertík M., Klemková T. 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* 2017; 22(11): 1988.
- Schröder A., Sprakel J., Boerkamp W., Schroën K., Berton-Carabin CC. Can we prevent lipid oxidation in emulsions by using fat-based Pickering particles?. *Food Research International* 2019; 120: 352-363.
- Uğur H., Çatak J., Mızrak ÖF., Çebi N., Yaman M. Determination and evaluation of in vitro bioaccessibility of added vitamin C in commercially available fruit-, vegetable-, and cereal-based baby foods. *Food Chemistry* 2020; 330: 127166.
- Vital ACP., Croge C., da Silva DF., Araújo PJ., Gallina MZ., Matumoto-Pintro PT. Okara residue as source of antioxidants against lipid oxidation in milk enriched with omega-3 and bioavailability of bioactive compounds after in vitro gastrointestinal digestion. *Journal of Food Science and Technology* 2018; 55(4): 1518-1524.
- Yaman M., Mızrak ÖF., Catak J., Sargin HS. In vitro bioaccessibility of added folic acid in commercially available baby foods formulated with milk and milk products. *Food Science and Biotechnology* 2019; 28(6): 1837-1844.
- Zhang Y., Henning SM., Lee RP., Huang J., Zerlin A., Li Z. Turmeric and black pepper spices decrease lipid peroxidation in meat patties during cooking. *International Journal of Food Sciences & Nutrition* 2015; 66(3): 260–265.