

ETLERDEKİ LİPİD PEROKSİDASYONUNUN BİR ÜRÜNÜ OLARAK MALONALDEHİD ve ÖLÇÜM YÖNTEMLERİ

Dr. Efsun KARABUDAK*

ÖZET

Lipid peroksidasyonu çiğ ve pişmiş et ve ürünlerinde kalite kaybının en önemli nedenidir. Biyolojik dokular- da çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyon reak- siyonu serbest radikaller tarafından başlar. Malonalde- hid (MDA) iki veya üç çift bağ içeren çoklu doymamış yağ asitlerinin ikincil bir oksidasyon ürünüdür. Okside olmuş yağlı besinlerde gözlenen absorpsiyon spektru- mu, tiobarbitürik asit (TBA) ile MDA arasındaki reak- siyondan dolayı gerçekleşir. Ketonlar, ketosteroidler, asitler, şekerler, aminoasitler, okside proteinler, piri- dinler, pirimidinler ve vitaminler TBA ile reaksiyona gi- rer. Bu maddelere TBARS (TBA ile reaksiyona giren maddeler) denir. Besinlerdeki lipid oksidasyonunun be- lirlenmesinde çeşitli metodlar vardır, fakat standart bir metod kullanılmamaktadır. 2-c özellikle yağ içeren et ürünlerindeki oksidatif acılaştırmanın ölçümünde kulla- nılmaktadır. TBA yönteminin, bazı analitik dezavantaj- ları olmakla beraber kolaylığı, ekonomik olması ve kı- sa zaman içinde çok sayıda örnek analiz edebilme özel- liğinden dolayı kromatografik yöntemlere tercih edil- mektedir. Bu derlemede, etlerde lipid peroksidasyonun- un bir ürünü olarak MDA'nın oluşumu, miktarı ve öl- çüm yöntemlerine ilişkin yayınlar özetlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: 2-tiobarbitürik asit, malonaldehid (MDA), TBARS, otooksidasyon

ABSTRACT

Malonaldehyde as a Product of Lipid Peroxidation in Meats and its Analytical Techniques

Lipid peroxidation is one of the major causes of quality deterioration in raw and cooked meat products. The pe- roxidation reaction of polyunsaturated fatty acids in bi- ological tissues can be initiated by free radicals. Malo- naldehyde (MDA) was shown to be a secondary oxida- tion product of polyunsaturated fatty acids containing three or more double bonds. The absorption spectrum

obtained with oxidized fatty foods is like the spectrum obtained when thiobarbituric acid (TBA) and MDA re- act. Other substances, such as ketones, ketosteroids, acids, esters, sugars, amino acids, oxidized proteins, pyridines, pyrimidines, and vitamins can react with TBA; they are named TBARS (substances that react with TBA). A number of methods are available for deter- mination of lipid oxidation in foods but no standart met- hod is used. The 2-thiobarbituric acid (TBA) test has been widely used for measuring oxidative rancidity in fat containing foods, especially meat products. The TBA method, however, may be preferred over the chroma- tographic method because of its simplicity, especially when a large number of sample need to be analyzed in a short period of time on a daily basis. The purpose of this review is to summarize concerns regarding the for- mation and quantification and methods of measuring of malonaldehyde as a product of lipid peroxidation in muscle tissues.

Key Words: 2-thiobarbituric acid, malonaldehyde (MDA), TBARS, autoxidation

GİRİŞ

Lipid oksidasyonu, etlerde bulunan yağların işleme ve depolanmaları süresince, ortamda bulunan prook- sidan maddeler tarafından parçalanarak oksidatif ürünlerin oluşmasıdır. Oksidasyon sonucu ileri dü- zeyde acı (ransit) tat oluşumuyla sonuçlanan bir kalite bozukluğu gözlenir (1).

Yağların Oksidasyonu ve Malonaldehid Oluşumu

Lipid oksidasyon mekanizması; başlangıç, gelişme ve sonuç olmak üzere üç aşamada gerçekleşen ve serbest radikallerin oluşumuna neden olan reaksi- yonlar zinciridir. Isı, ışık, geçiş metalleri ve yüksek enerjili radyasyon gibi başlatıcıların varlığında trigli- serid veya serbest yağ asidi molekülünden bir serbest radikal meydana gelir. Serbest radikalın, oksijenle reaksiyonu sonucu peroksil radikali oluşur. Bu reak- siyon sadece moleküler oksijen ile değil süperoksit anyon ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksi ra- dikal (OH^{\cdot}) gibi diğer türlerle de oluşur (1,2).

* Hacettepe Üniversitesi STYO Beslenme ve Diyetetik Bölümü

Serbest radikal mekanizması; birinci faz (primer oksidasyon) ve ikinci faz (ikincil oksidasyon) olarak ayırt edilir. Birinci faz süresince, oksidasyon yavaş ve belli bir düzende gider. Özellikle sıvı bitkisel yağlarda çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyon mekanizması kötü lezzetin ve bozulmanın gelişmesine neden olur. Oluşan serbest radikal bir trigliserid veya serbest yağ asidi ile etkileşerek hidroperoksitleri meydana getirir. Genellikle kötü lezzete neden olan hidroperoksitler ilk üründür. Oluşumlarında iki çeşit mekanizma öne sürülür. Birincisi; karanlıkta meydana gelen klasik serbest radikal oluşum mekanizması, ikincisi; ışık veya bazı fotosensitizörler varlığında başlayan foto-oksidasyon mekanizmasıdır. Bu mekanizmada; klorofil, miyogloblin, eritrosin ve diğer pigmentler, riboflavin ve diğer metal iyonları gibi sensitizörler, singlet (tekli) oksijeni meydana getirir. Oluşan bu singlet oksijen, moleküler oksijenden 1500 kat daha hızla metil linoleatla reaksiyona girer ve alil hidroperoksitleri oluşturur (3). Bunların dışında üçüncü olarak da henüz baştan sona çalışılmayan, lipoksigenaz mekanizmasıyla hidroperoksitler oluşur (3,4). Kararlı bileşikler olmayan bu birincil (primer) oksidasyon ürünlerinden hidroperoksitler, birçok maddenin oksidasyonuna neden olur ve polimerizasyonla koyu renkli organik polimerler meydana getirir. Proteinlerle veya aminoasitlerle de etkileşime girebilir. Özellikle sistein ve metioninin yan zincirleri bu etkileşime daha hassastır (4,5).

İkincil fazda oksidatif olaylar hızla gelişir. Lipid hidroperoksitleri çok dayanıksızdır ve homolitik veya heterolitik kırılma sonucu, serbest alkoksi radikallerine parçalanır. Farklı hidroperoksitler, farklı ikincil ürünleri verir. Örneğin; metil linoleatın 13-hidroperoksitinin kırılması pentane ve metil 13-oxo 9,11-tridekadienoatı meydana getirirken; metil linoleatın 9-hidroperoksitinin kırılması 2, 4- dekadial ve metil oktanoat'ın oluşumuna neden olur. Bütün bunların sonucunda kötü tat ve kokuya neden olan alkoller, aldehydler, ketonlar, asitler, hidrokarbonlar ve epoksitler gibi ikincil oksidasyon ürünleri oluşur (2,3,6,7). Alkoller daha az miktarda oluşur. Doymuş aldehydler (formaldehid, hekzanal), doymamış aldehydler (akrolein), 4-hidroksi 2 nonenal, β -dikarbonil bileşikler (malondialdehyd) en fazla oluşan bileşikler arasında sayılır (3). Formaldehit, karsinojenik olarak düşünülürken, akroleinin hayvanlara, bitkilere ve tek hücreli organizmalara toksiktir (7). Malondialdehyd (MDA) ise mutajen ve potansiyel karsinojen olarak tanımlanmaktadır (8).

Malonaldehydin Kimyasal Yapısı ve Reaktifliği

Serbest radikal reaksiyonlarının son fazında oluşan üç karbon atomlu bir dialdehyd olan malondialdehid-

in kapalı formülü $C_3H_4O_2$ ve molekül ağırlığı 72'dir. Lipid fraksiyonu içeren besinlerde meydana gelen otooksidasyon sonucu oluşan MDA düzeyini öğrenmede tiobarbitürik asit (TBA) testinden yararlanılmaktadır (3).

MDA, 1,1,3,3-tetraethoksiopropanın (TEP) veya 1,1,3,3-tetramethoksiopropanın (TMP) asidik hidroliziyle elde edilir. Dayanıklı bir MDA solüsyonu, TEP'in asit hidrolizi sonucu oluşur. Asit ortamda TEP hemiasetal ve ethanole hidrolize olur. Hemiasetal de ayrışarak 1,3-propanediale yani malondialdehyd (MDA) ve ethanole dönüşür. MDA su içinde, çoğunlukla uçucu olmayan enolat anyonu olarak bulunur. Nötr pH'da; protein, aminoasit, glikojen ve diğer bileşenlerle reaksiyona girerek bağlı formdaki MDA'yı oluşturur (8). Dondurarak depolama süresince MDA ile miyosinin ϵ -amino gruplarıyla olan reaksiyonu $-20^\circ C$ 'de $0^\circ C$ 'den daha fazla olmuştur. MDA özellikle histidin, arginin, tirozin ve metionin ile reaksiyona girmektedir (9). Bağlı formdaki MDA'nın serbest forma geçmesi için gereken optimum koşulların tespiti oldukça zordur. Kuvvetli ısı ve asit ile muamele etmeden özellikle et proteinlerine bağlı MDA'nın tamamının hidrolizi güçtür. Bu ortam sağlandığı zaman ise TBA ile MDA kompleksinin dayanıklılığı tehlikeye girer ve geri kazanılan MDA miktarı ile ilgili problemler ortaya çıkabilir (3,9).

MDA ve TBA ile Reaksiyona Giren Maddelerin (TBARS) Kaynakları

TBA ile reaksiyona girerek renk oluşturan maddeler iki kaynaktan ileri gelir. Bunlar; yağ kaynaklı ve yağ kaynaklı olmayan MDA ve benzeri maddelerdir (8). Aldehydler dışında ketonlar, ketosteroidler, asitler, esterler, şekerler, imidler ve amidler (üre), aminoasitler, okside proteinler, piridinler ve pirimidinler gibi diğer maddeler TBA ile reaksiyona girer ve sonuçta oluşan yapıya TBA ile reaksiyona giren maddeler (TBARS) denir (3,10).

Yağ kaynaklı MDA ve TBARS: MDA, örneğin, araşidonik asitten oluşan tromboksan A_2 'nin ($T \times A_2$) enzimatik atık ürünü olarak oluşur. Araşidonik asidin 11. ve 15. karbon atomu oksidasyona uğrar ve buradan prostaglandin G_2 oluşur. Bu prostaglandin hidroperoksidaz tarafından prostaglandin H_2 'ye indirgenir. Bundan da tromboksan A_2 , MDA ve 12(L)-hidroksi-5,8,10-heptadekatrienoik asit (HHT) oluşur (11,12).

MDA, enzimatik olmayan yolla çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunun son ürünü olarak da meydana gelebilir (8). Çoklu doymamış yağ asitlerinin (ÇDYA) oksidasyonunda iki mekanizma vardır. Bi-

rincisi; hidroksi radikalleri gibi serbest oksijen radikalleri çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu başlatır. İkincisi; serbest oksijen makromoleküllere bağlanarak molekülü oksidasyona uğratar ve peroksitleri üretir. Yağ peroksil radikalleri, ÇDYA'nın otooksidasyonuna aracılık eder ve oksidasyon ürünlerinden ilki olan yağ hidroperoksitleri meydana gelir. Üç veya daha fazla çift bağa sahip yağ asitleri oksijenle konjüge peroksit radikalleri oluşturur. Bunlardan TBA testi sırasında ayrışarak MDA oluşur. ÇDYA'nın peroksitlerinden meydana gelen MDA miktarını ve bunun tespitini pH, sıcaklık, geçiş metalinin varlığı, yağ asitlerinin doymamışlık derecesi, antioksidanların varlığı etkilemektedir. Etlere ÇDYA'nın çoğu trigliseridlerden daha çok fosfolipidlerle esterleşmiş halde bulunur. Fosfolipid fraksiyonları TBARS üretiminin baş sorumlularındandır (8).

Demir, bakır gibi geçiş metalleri oksidasyon reaksiyonunu katalize edebilir. Demir, hemoglobinin ve miyoglobinin yapısında bulunduğu için biyolojik sistemlerde oksidasyon reaksiyonu için önemlidir. Bunlar yağ asidi hidroperoksitlerinin MDA'ya parçalanmasını kolaylaştırır (13).

Yağ kaynaklı olmayan MDA ve TBARS: MDA'ya benzeyen, fakat MDA olmayan ve MDA'nın gösterdiği reaksiyonları gösteren bazı bileşikler vardır. DNA, deoksinükleosidler veya deoksinükleosidlere gamma irridasyonu uygulanması, TBA ile reaksiyona girebilen ve 532 nm'de maksimum absorpsiyon verebilen, kırmızı pigmentler oluşturan bileşikler verebilir. Bu bileşikler bu özelliklerine rağmen MDA değildir (14).

D-glikozun 5. ve 6. karbonlarının hidroksi radikalleriyle reaksiyonu sonunda, sırasıyla, 1 ve 2 mol MDA oluştuğu bildirilmiştir. Glikozun 2., 3. ve 6. karbonlarının hidroksi radikalleriyle reaksiyonu sonunda MDA eldesi azalmaktadır (8).

Endojen ve ekzojen kaynaklı MDA'nın metabolizması: Serbest radikal reaksiyonu sonucu oluşan MDA, mutajenik ve karsinojenik etkisinden dolayı oldukça ilgi çekmiştir. Yapılan çalışmalarda, MDA'nın DNA ile reaksiyona girerek mutajenik etkide bulunduğu gösterilmiştir (15,16).

İn vivo ortamda endojen MDA oluşumunu; ozon, nitrojen oksitler, hiperoksia ve bazı xenobiotikler gibi lipid peroksidasyonunu stimüle eden çevresel faktörler de arttırmaktadır. ÇDYA'nın bozulması sonucu oluşan ekzojen MDA'nın metabolizması endojen MDA'dan önemli ölçüde farklıdır (12).

Besinlerdeki MDA'nın önemsiz bir bölümü serbest formda emilmektedir ve bu nedenle diyetin dokularındaki serbest MDA'nın önemli bir kaynağı olduğu sa-

nılmamaktadır. Tütsülenmiş balık, sığır kıyması, tavuk ve sosis gibi hayvansal kaynaklı besinlerdeki toplam MDA'nın çok az bir kısmı serbest formda bulunmakta ve bu sindirim sırasında besinlerdeki lizin proteininin serbest ε-amino grubu ile reaksiyona girerek insanlarda emilen baskın form olan, N-ε-(2-propenal) lizin oluşturmaktadır. Bu form, dokulardaki serbest MDA'nın kaynağı değildir ve diyetteki MDA'nın olabilecek toksik etkisini azaltmaktadır (12).

Pişirmeden sonra ve dondurarak depolama sonrasında besinlerin MDA içeriğinde bir düşme olmaktadır (17,18). Bu durum birkaç mekanizmaya bağlanmaktadır. Birincisi; kızartma şartları altında ısıtılan etlerde bir aldehid olan MDA'nın kolayca buharlaştığı sanılmaktadır (17,18). Öyle ki, N-ε-(2-propenal) lizin benzer şartlar altında ısıtıldığında, MDA'nın lizin'den ayrıldığı görüşü de vardır (15). İkincisi; MDA ortamdaki proteinlere bağlanarak miktarında azalma olmaktadır (9).

MDA besinlerde, insan plazmasında ve idrarda saptanabilmekte ve karsinogenez ile ilişkili biyolojik davranışlar göstermektedir. Plazmada ve idrardaki MDA miktarları, besinlerdeki (ekzojen) veya dokulardaki (endojen) lipid peroksidasyonunun göstergesidir (19). Besinlerin oksidasyonunun ölçümünde de değişik analitik yöntemler kullanılmaktadır (20-22).

MDA Tayini

İkincil oksidasyon ürünlerinden olan MDA'nın ölçüm yöntemleri, meydana gelen değişikliklere göre belirlenir. Eğer primer değişiklikler varsa; oksijen alımı, çoklu doymamış yağ asitlerinin kaybı, hidroperoksitlerin meydana gelmesi (peroksit değeri) değerlendirilir. İkincil değişiklikler oluştuysa; karbonillerin oluşumu (dinitrofenil hidrazonelar veya gaz kromatografik ölçümleri), malonaldehid oluşumu (TBA testi), hidrokarbonların oluşumu (pentan gibi) ölçülebilir (20). Hidroperoksit yıkımının başladığı durumda, peroksit değerinin ölçülmesi, yağın oksidasyon derecesinin belirlenmesinde yararlıdır. Ancak uçucu bileşiklerin (karbonil) miktarı artmaya başladığında, bu bileşiklerin konsantrasyonunu yansıtan TBA sayısı gibi değerlerin belirlenmesi, analitik açıdan daha doğru sonuçları verir (21,22). TBA testi, Kreis testi ve peroksit değerinden çok daha hassastır (3).

İkincil oksidasyon ürünü olan MDA spektrofotometrede, yüksek basınçlı sıvı kromatografisinde (HPLC) ve gaz kromatografisinde (GC) tespit edilerek miktarı saptanabilir.

Spektrofotometre: Besinlerde ve biyolojik sistemlerde TBA ile reaksiyona giren MDA'nın değerlendirilmesinde, spektrofotometre sıklıkla kullanılmakta-

dır. Bu testin spektrofotometrede kullanılmasındaki en büyük dezavantaj, TBA reaksiyonunun sadece MDA için özel olmaması, MDA'ya benzeyen fakat MDA olmayan bileşiklerle de reaksiyona girerek bu bileşiklerin de ölçülmesidir. Bu nedenle testte TBARS deyimini MDA'nın yerine daha çok kullanılmaktadır (23).

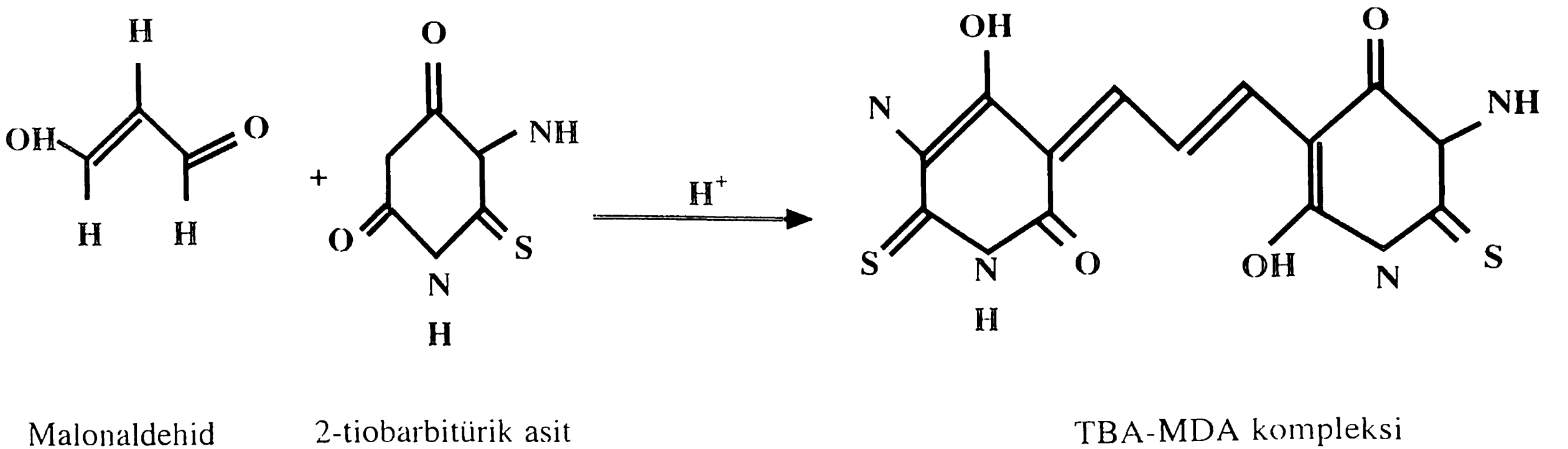
TBA sayısı, yağ ve yağlı gıdalarda otooksidasyon sonucu oluşan ransiditenin (acılaşmanın) ölçüsünü belirlemek amacıyla kullanılan basit, hızlı ve hassas bir yöntemdir. İki molekül TBA bir molekül MDA ile reaksiyona girerek 532 nm'de maksimum absorbanı veren kırmızı renkli MDA-TBA kompleksini oluşturur. TBA analizinin sonucunda elde edilen değer TBA sayısı olarak bilinir ve mg MDA/kg et karşılığıdır (Şekil 1) (8,14). TBA testi temelinde MDA, besinlerde çoklu doymamışlık içeriği ve oksidatif acımanın miktarına bağlı olarak 0-10 ppm arasında bulunur (23).

TBA testinin sonuçları ile duyu analizlerin sonuçları arasında bir korelasyon vardır. Ancak TBA yöntemi etlerde duyu olarak algılanan acı kokunun eşik değeri için genel bir referans sayı olarak düşünülmemelidir. Çünkü TBA sayısı; hayvanın yaşı, beslenme durumu, etin çiğ veya pişmiş olması ve analizde kullanılan TBA yönteminin çeşidi gibi faktörlerden etkilenir (8, 24). Acılaşmaya neden olan kısa karbon zincirli ürünlerin birikimine paralel olarak TBA sayısında bir artış olur. TBA sayısının bir avantajı da; besinden doğrudan örnek alınarak yapılabilmesi ve yağların ekstraksiyonu işlemine gerek olmadığından analiz sırasında oluşabilecek hataların ortadan kalkmasıdır (25,26). Bununla beraber TBA testi kullanılacağı zaman bazı noktalar gözönünde bulundurulmalıdır. Birincisi; et örneklerinde MDA oluşumu ve miktarı; ÇDYA'nın doymamışlık derecesine, oksidasyonu katalizleyen katalizörün tipine ve pe-

roksidasyon koşullarına, yağ kaynaklı olmayan MDA oluşumuna, MDA'nın diğer biyolojik maddelerle olan reaksiyonuna bağlıdır (27). İkincisi; TBA testi sırasında ısıl işlem ve asidik koşulların uygulanması, TBA ile reaksiyona girebilecek maddelerin oluşumuna neden olmaktadır. Üçüncüsü; TBA'nın diğer maddelerle de reaksiyona girmesi sonucu oluşan kırmızı pigmentin absorbanı da ölçülebilir (8).

Araştırmacılar tarafından besinlere uygulanabilen çeşitli TBA yöntemleri geliştirilmiştir. Bu yöntemlerden birincisinde; örnek, doğrudan TBA solüsyonu ile ısıtılır ve reaksiyon sonucu oluşan pigment bütanolla ekstrakte edilir (28,29). İkincisinde; örnek, buhar ile distile edilir (17,30,31). Üçüncüsünde ise; örnek, asitle ekstrakte edilir (32,33). Son bir yöntemde de; örnekteki yağ ekstrakte edilir (15,34,35).

TBA testi, ekstre edilen veya edilemeyen tüm yağlardaki bozulmanın ölçümünü göstermektedir. Bu nedenle, karışık yağ örüntüsü olan besinler için sıklıkla kullanılmaktadır. Özellikle et ve et ürünlerinde, saf yağ ve katı yağlarda daha çok kullanılmaktadır. Birçok araştırmacı Tarladgis'in yöntemine (30) başvurma eğilimi göstermiştir. Bu yöntem, asitlendirilmiş şartlar altında buhar distilasyonunu kapsar. Distilasyon yönteminde ısı işleminin uygulanması sonucu okunan TBA sayısı, ekstraksiyon yönteminde okunan TBA sayısından yaklaşık 3 kat daha fazla olmaktadır (33). Bu nedenle yeni geliştirilen asit distilasyonlu TBA yönteminin özgünlüğü artırılmış, homojenizasyon veya distilasyon sırasında çeşitli antioksidanlar eklenerek analiz sırasında oluşabilecek istenmeyen bozulma reaksiyonlarının oluşumu önlenmiştir (34,36). Ekstraksiyon yöntemi, distilasyon yöntemine göre distilasyon işlemine ihtiyaç duymaması ve daha basit olmasından dolayı daha avantajlıdır. Ancak ekstraksiyon yönteminin duyarlılığı azdır (31).



Şekil 1. MDA ile 2-Tiobarbitürik Asit Arasındaki Reaksiyon.

Kürlenmiş et ürünlerinde nitrit MDA ile reaksiyona girebileceğinden dolayı TBA yönteminin kullanımı sınırlı olmakta, analiz sonucu bulunan MDA miktarı gerçek değerinden daha az olmaktadır. Bunu önlemek için analiz sırasında sülfonamid eklenirse, nitritle sülfonamid diazonyum tuzları oluşur ve nitritin MDA ile reaksiyona girmesi önlenmiş olur (8,25).

TBA ile lipid oksidasyonunu ölçmede 450 nm'deki absorpsiyon sınırlıdır. Aldehidler içinde alkanlar baskın ise bu dalga boyu kullanılmaktadır. Katalitik demir (III) tuzlarının varlığında alifatik aldehidler kısa zincirli aldehidlere parçalanır ki bu da, TBA değerlendirmesinde 450 nm'de belirlenir. Bu aldehidlerin toksikolojik ve mutajenik etkileri vardır. Alkenoller, tatlımsı, meyvemsi ve yağlımsı gibi tanımlanan belirgin aromayı verir. Alkenollerin, absorpsiyon hassasiyeti alkanlardan çok daha yüksektir ($\lambda_{max} = 452$). TBA ve alkadienlerle gözlenen kromoforlar 532 nm'de absorblanır. Araştırmacılar, çoklu doymamış yağların oksidatif bozulmasıyla oluşan MDA'nın 532 nm'de kırmızı renk verdiğini onaylamışlardır (3,30).

Et ve et ürünlerinde özellikle oluşan maddeler TBARS olarak tayin edilir. TBA varlığında karbonhidratlar 100°C'de ısıtıldığında koyu bir absorpsiyon bandı ($\lambda_{max} = 454$) oluşur. Fruktozla en fazla girişim gözlenir. TBA reaktifi direkt olarak formik, glikolik, gliserik, şikimik, sialik ve sorbik asitlerle reaksiyona girer (3).

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC): MDA tayininin daha duyarlı ve spesifik olması için yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi geliştirilmiştir. HPLC yöntemi, Tarladgis ve arkadaşlarının (30) spektrofotometrik TBA testinden daha hassastır ve her bir distilatı değerlendirmek için 5 dakikaya ihtiyaç vardır. HPLC, serbest ve bağlı MDA ve distilasyon süresince oluşan MDA'nın tamamını ölçer (8,25).

MDA oldukça hidrofilik bir bileşik olduğu için türevlendirilmesi gerekmektedir ve yine örnek distile edileceğinden analiz sırasında MDA oluşabilmektedir (37). Bu yöntem hızlı olmasına karşın, analiz için fazla örnek gerekmede ve örnek miktarı azaldıkça kayıplar artmaktadır (38). HPLC yönteminin en büyük avantajı, analizlerde solvent ekstraksiyonuna ihtiyaç duyulmaması ve yeterince hassas olmasıdır. HPLC yönteminin kullanımını sınırlayan en büyük neden ise kolon ömrünün az olması ve (8,25) pahalı bir yöntem olmasıdır (39). Duyarlılığı 1 ng'dır ve besinlerdeki TBA-MDA kompleksi için spesifiktir (40).

Gaz kromatografisi: MDA tayininde gaz kromatografisinin avantajları HPLC'ye göre daha fazladır. Ka-

piller kolondan dolayı MDA'nın diğer bileşiklerle etkileşimi az olur. Gaz kromatografisinde örnek hazırlanması çoklu solvent ekstraksiyonu ve evaporasyonu gerektirdiğinden analiz için uzun bir zamana ihtiyaç vardır. MDA tayini için mutlaka türevlendirme yapılmalı ve türevlendirmeye bağlı olarak da hem serbest hem de bağlı MDA tayin edilebilmektedir (8).

SONUÇ ve ÖNERİLER

MDA, çoklu doymamış yağ asitleri ve yağ olmayan organik maddelerden meydana gelir. Ortamda oluşan MDA miktarını yağ asidinin doymamışlık derecesi ve zincir uzunluğu, antioksidanlar, oksijen çeşitleri, geçiş metalleri, sıcaklık, ortam pH'sı etkilemektedir. HPLC ve GC'de yöntem hassas ve spesifik iken, GC'de analiz süresi uzundur. Spektrofotometrik yöntem ise kısa zamanda fazla sayıda örneğin analizine olanak tanıdığı için kromatografik yöntemlere tercih edilir. Spektrofotometrik yöntemin en büyük olumsuzluğu spesifikliğin ve duyarlılığının az oluşudur. Yeni geliştirilen asit ekstraksiyonlu TBA yönteminin spesifikliği ve distilasyon sırasında antioksidanlar eklenerek doğruluğu arttırılmıştır. Ayrıca, TBA yöntemi ile lipid peroksidasyonunu değerlendiren subjektif ve objektif yöntemler arasında büyük bir korelasyon vardır. Okside olmuş besinler insan sağlığı üzerinde olumsuz etkiler göstermektedir. Bu nedenle özellikle yağlı besinlerin içerisinde bulunan oksidasyon ürünlerinin miktarı ve çeşidi bilinmelidir.

KAYNAKLAR

1. Taub IA. Free radical reactions in food. J Chemical Education 1984;61:313-24.
2. Harris P, Tall J. Rancidity in fish. In: Allen JC, Hamilton RJ (eds). Rancidity in Foods. Chapman & Hall, London, 1994:256.
3. Guillen-Sans R, Guzman-Chozas M. The thiobarbituric acid (TBA) reaction in foods: A review. CRV Food Scien and Nutr 1998;38:315-30.
4. Drumm TD, Spanier MA. Changes in the content of lipid autoxidation and sulfur-containing compounds in cooked beef during storage. J Agric Food Chem 1991;39:336-43.
5. Spanier AM, Edwards JV, Dupuy HP. The warmed-over flavor process in beef: A study of meat proteins and peptides. Food Tech 1988;June:110-8.
6. Khayat A, Schwall D. Lipid oxidation in seafood. Food Tech 1983;July:130-40.
7. Halliwell B, Murcia MA, Chirico S, et al. Free radicals and antioxidants in food and in vivo: What they do and how they work. CRV Food Scien Nutr 1995;35:7-20.
8. Raharjo S, Sofos JN. Methodology for measuring malonaldehyde as a product of lipid peroxidation in muscle tissues: A review. Meat Science 1993;35:145-69.

9. Buttkus H. The reaction of myosin with malonaldehyde. *J Food Sci* 1967;32:432-4.
10. Frankel EN, Neff WE. Formation of malonaldehyde from lipid oxidation products. *Biochim Biophys Acta* 1983;754:264-9.
11. Rhee KS. Enzymic and nonenzymic catalysis of lipid oxidation in muscle foods. *Food Technology* 1988;June:127-32.
12. Draper HH, Hadley M. A review of recent studies on the metabolism of exogenous and endogenous malondialdehyde. *Xenobiotica* 1990;20:901-7.
13. Kanner J. Oxidative processes in meat and meat products: Quality implications. *Meat Sci* 1993;36:169-85.
14. Shadidi F, Hong C. Evaluation of malonaldehyde as a marker of oxidative rancidity in meat products. *J Food Biochemistry* 1991;15:97-105.
15. Siu GM, Draper HH. A survey of the malonaldehyde content of retail meats and fish. *J Food Science* 1978;43:1147-9.
16. Mukai FH, Goldstein BD. Mutagenicity of malonaldehyde, a decomposition product of peroxidized polyunsaturated fatty acids. *Science* 1976;191:868-9.
17. Shamberger RJ, Shamberger BA, Wills CE. Malonaldehyde content of foods. *J Nutr* 1977;107:1404-9.
18. Newburg DS, Concon JM. Malonaldehyde concentrations in food are affected by cooking conditions. *J Food Science* 1980;45:1681-7.
19. Boyd MF, McGuire V. Evidence of lipid peroxidation in premenopausal women with mammographic dysplasia. *Cancer Letters* 1990;50:31-7.
20. Gray JI, Pearson AM, Monahan FJ. Flavor and aroma problems and their measurement in meat, poultry and fish products. In: Pearson AM, Dutson TR (eds). *Quality Attributes and Their Measurement in Meat, Poultry and Fish Products*. Blackie Academic, 1994:250.
21. Kupranycz DB, Paquette G, van de Voort FR. The mechanisms of lipid autoxidation II. Non volatile secondary oxidation products. *Can Inst Food Sci Technol J* 1985;18:197-206.
22. Kupranycz DB, Paquette G, van de Voort FR. The mechanisms of lipid autoxidation I. Primary oxidation products. *Can Inst Food Sci Technol J* 1985;18:112-8.
23. Kubow S. Routes of formation and toxic consequences of lipid oxidation products in foods. *Free Radical Biology Med* 1992;12:63-81.
24. Poste LM, Willemot C, Butler G, Patterson C. Sensory aroma scores and TBA values as indices of warmed-over flavor in pork. *J Food Science* 1986;51:886-8.
25. Melton LS. Methodology for following lipid oxidation in muscle foods. *Food Technol* 1983;37:105-11.
26. Hoyland DV, Taylor AJ. A review of the methodology of the 2-thiobarbituric acid test. *Food Chem* 1991;40:271-91.
27. Hoyland DV, Taylor AJ. A modified distillation method for the detection of fat oxidation in foods. *Int J Food Sci Technol* 1989;24:153-161.
28. Yu TC, Sinnhuber RO. 2-thiobarbituric acid method for the measurement of rancidity in fishery products. *Food Tech* 1957;104-8.
29. Sinnhuber RO, Yu TC, Yu TC. Characterization of the red pigment formed in the 2-thiobarbituric acid determination of oxidative rancidity. *Food Research* 1958;23:626-33.
30. Tarladgis BG, Watts BM, Younathan MT, Dugan LR. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *J Amer Oil Chem Soc* 1960;37:44-8.
31. Witte VC, Krause GF, Bailey ME. A new extraction method for determining 2-thiobarbituric acid values of pork and beef during storage. *J Food Science* 1970;35:582-5.
32. Tarladgis BG, Pearson AM, Dugan LR. Chemistry of the 2-thiobarbituric acid test for determination of oxidative rancidity in foods. 2. Formation of the TBA-malonaldehyde complex without acid-heat treatment. *J Sci Food Agric* 1964;15:602-7.
33. Salih AM, Smith DM, Price JF, et al. Modified extraction 2-thiobarbituric acid method for measuring lipid oxidation in poultry. *Poultry Sci* 1987;66:1483-8.
34. Pikul J, Leszczynski ED, Kummerow FA. Elimination of sample autoxidation by butylated hydroxytoluen additions before thiobarbituric acid assay for malonaldehyde in fat from chicken meat. *J Agric Food Chem* 1983;31:1338-42.
35. Pikul J, Leszczynski DE, Kummerow FA. Evaluation of three modified TBA methods for measuring lipid oxidation in chicken meat. *J Agric Food Chem* 1989;37:1309-13.
36. Turner EW, Paynter WD, Montie EJ, et al. Use of the 2-thiobarbituric acid reagent to measure rancidity in frozen pork. *Food Tech* 1954;July:326-30.
37. Kishida E, Oribe M, Mochizuki K, et al. Determination of malondialdehyde with chemical derivatization into the pyrimidin compound and HPLC. *Biochim Biophys Acta* 1990;1045:187-8.
38. Csallany AS, Guan MD, Manwaring JD, Addis PB. Free malonaldehyde determination in tissues by high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem* 1984;142:277-83.
39. Total Plasma Malondialdehyde levels in 16 Taiwanese college students determined by various thiobarbituric acid test and an improved high-performance liquid chromatography-based method. *Clinical Biochemistry* 2000;33:619-25.
40. Bird RP, Hung SSO, Hadley M, et al. Determination of malonaldehyde in biological materials by HPLC. *J Biochem* 1983;128:240-4.