



İleri Glikasyon Son Ürünlerinin (AGEs) Öncüllerinin *in Vitro* Biyoerişilebilirliklerinin Bazı Gıdalarda Belirlenmesi

Mustafa Yaman^{1*}

^{1*}İstanbul Sabahattin Zaim University University, Faculty of Health Sciences, Department of Nutrition and Dietetics, İstanbul, Turkey, (ORCID: 0000-0001-9692-0204), mustafa.yaman@izu.edu.tr

(İlk Geliş Tarihi 2 Ağustos 2021 ve Kabul Tarihi 20 Eylül 2021)

(DOI: 10.31590/ejosat.990119)

ATIF/REFERENCE: Yaman, M. (2021). İleri Glikasyon Son Ürünlerinin (AGEs) Öncüllerinin *in Vitro* Biyoerişilebilirliklerinin Bazı Gıdalarda Belirlenmesi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (27), 598-604.

Öz

İleri glikasyon son ürünlerinin (AGE'ler) öncüleri olan gliksal (GO) ve metilgliksal (MGO) hem gıdalarda hemde insan vücudunda oluşabilmektedir. α -dikarbonil bileşikler olan GO ve MGO proteinlerin amino grubu ile reaksiyona girmesiyle AGE'ler oluşmaktadır. AGE bileşikler kanser ve diyabet gibi birçok kronik hastalığın oluşum nedenleri arasında gösterilmektedir. AGE bileşikler protein ve lipidlerin peroksidasyonu, Maillard reaksiyonları ve gıdaların işlenmesi sırasında oluşabilmektedir. Bu çalışmanın amacı, bisküvi, çips, kahvaltılık gevrek ve süt ürünlerinde bulunan GO ve MGO'un *in vitro* gastrointestinal sindirim sisteminde biyoerişilebilirliğini belirlemek ve gıda çeşitlerine göre oluşumlarını değerlendirmektir. Genel olarak bisküvi ve kahvaltılık gevrek örneklerinin GO ve MGO biyoerişilebilirliği %100'ün üzerinde olduğu görülmüştür. Bisküvi örneklerinden glukoz miktarı yüksek olan örneğin GO biyoerişilebilirliği daha yüksek bulunmuştur. Çips örneklerinde ise GO'un biyoerişilebilirliği %100'ün altında iken MGO biyoerişilebilirliği %100'ün üzerinde bulunmuştur. Süt örneklerinde ise biyoerişilebilirlik hem GO hem de MGO'da %100'ün altında olduğu görülmüştür. Bu çalışmanın sonuçlarına göre yüksek yağ ve tuz *in vitro* ortamda lipidlerin peroksidasyonuna neden olabileceği ve bunun sonucunda α -dikarbonil bileşiklerinin oluşabileceği düşünülmektedir. Gıdalardaki yağ, tuz ve serbest şeker içeriğinin azaltılması *in vitro* gastrointestinal sistemde daha düşük GO ve MGO oluşumunu sağlayabilir. Bu sonuçları desteklemek için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Gliksal, Metilgliksal, İleri glikasyon son ürünleri, Biyoerişilebilirlik, Gıda

Determination of *in Vitro* Bioaccessibility of Precursors of Advanced Glycation End-Products (AGEs) in Some Foods

Abstract

Glyoxal (GO) and methylglyoxal (MGO), which are the precursors of advanced glycation end products (AGEs), can occur both in food and in the human body. AGEs are formed by the reaction of α -dicarbonyl compounds, GO and MGO, with the amino group of proteins. AGE compounds are shown as the cause of many chronic diseases such as cancer and diabetes. AGE compounds can be formed during oxidation of proteins and lipids, Maillard reactions, and food processing. The aim of this study is to determine the *in vitro* bioaccessibility of GO and MGO in biscuits, chips, breakfast cereals and milk products and to evaluate their formation according to food types. In general, GO and MGO bioaccessibility in biscuit and breakfast cereal samples were found to be above 100%. GO bioaccessibility of the biscuit sample with high glucose was found to be higher than the other biscuit samples. In the chips samples, the bioaccessibility of GO was below 100%, while the bioaccessibility of MGO was above 100%. In milk samples, it was observed that both GO and MGO bioaccessibility were below 100%. According to the results of this study, it is thought that high fat and salt may cause lipid peroxidation in *in vitro* and as a result, α -dicarbonyl compounds may be formed. Reducing the fat, salt and free sugar content in foods may result in lower GO and MGO formation in the stimulated gastrointestinal tract. Further studies are needed to support these results.

Key words: Glyoxal, Methylglyoxal, Advanced glycation end products, Bioaccessibility, Food.

* Sorumlu Yazar: mustafa.yaman@izu.edu.tr

1. Giriş

İleri glikasyon son ürünlerinin (AGE'ler) öncülükleri hem gıdalarda hemde insan vücudunda oluşabilir (Uribarri vd. 2010; Sharma vd. 2015). AGE'ler protein ve lipidlerin oksidasyonu, Maillard reaksiyonları ve gıdaların işlenmesi sırasında oluşabilir. Maillard reaksiyonları indirgeyici şekerlerin bir karbonil grubu ile proteinlerin, peptitlerin, amino asitlerin ve nükleik asitlerin bir amino grubu arasındaki enzimatik olmayan reaksiyonlar ile başlar ve daha sonra kararsız Schiff bazlarına dönüşür. Bu kararsız ürünler moleküller arası düzenlemelerinden sonra daha kararlı Amadori/Heyns ürünlerine dönüşür. Bu ürünler gliksal (GO), metilgliksal (MGO) ve 3-deoksiglukozon (3-DG) gibi oldukça reaktif α -dikarbonil bileşiklerine dönüşür (Poulsen vd. 2013). Bu bileşikler lizin, arginin, histidin ve sistein gibi amino asitlerin amino grupları ile reaksiyona girer ve N- ϵ -karboksimetillizin (CML), N- ϵ -karboksietillizin (CEL) ve pentosidin gibi AGE son ürünleri dönüşür (Henle 2005; Luevano- Contreras ve Chapman-Novakofski, 2010). GO ve MGO işlenmiş gıdalarda ve biyolojik sistemlerde en çok bulunan α -dikarbonil bileşikleridir (Liu vd. 2011). GO ve MGO insan vücudunda glukozun oto-oksidasyonu, lipid peroksidasyonu ve poliol yolu sırasında ortaya çıkabilir (Luevano-Contreras ve Chapman-Novakofski, 2010). Maillard reaksiyon ürünleri bağırsak sistemleri tarafından kısmen emilebilir. Yapılan klinik çalışmalarda Tip 2 diyabet hastalarının plazmalarında yüksek miktarlarda α -dikarbonil bileşiklerinin olduğu bildirilmiştir. GO ve MGO bileşiklerinin pankreas hücrelerinde insülin proteininin amino gruplarına kovalent olarak bağlandığı ve AGE'lerin oluşumuna yol açtığı bildirilmiştir. Bu durumun ise insülin direncine neden olduğu ve hücresel glukoz alımını azalttığı aynı çalışmada belirtilmiştir (Nowotny vd. 2015). Diyabet, alzheimer, parkinson, yaşlanma ve böbrek yetmezliği olan hastalarının dokularında MGO kaynaklı AGE bileşiklerinin yüksek seviyede olduğu bildirilmiştir (Rabbani ve Thornalley, 2014).

Gıdalardaki CML ve MGO miktarının pişirme yöntemi ve pişirme sıcaklığı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca besinlerdeki AGE miktarı ile yağ içeriği ve MGO düzeyi arasında önemli bir korelasyon olduğu da raporlanmıştır. Besinlerdeki en yüksek AGE bileşikleri cips, kraker ve kurabiye gibi yüksek yağ içeren gıdalarda bulunduğu birçok çalışmada ortaya koyulmuştur (Uribarri vd. 2010).

Genel olarak günlük diyetle alınan besin öğelerinin miktarları gıda kompozisyon veri tabanlarında ham ya da pişmiş gıda verilerinden elde edilmektedir. Yapılan birçok *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda göre besin öğelerinin biyoerişilebilirliğine bağlı olarak günlük diyetle alınan miktarın daha farklı olduğu bilinmektedir. Bu nedenle günlük diyetlerde besin öğelerinin miktarı hesaplanırken biyoerişilebilirliğine değerlendirilmelidir (Yaman vd. 2021). Maillard reaksiyon ürünlerinin *in vitro* ve *in vivo* ortamda biyoerişilebilirliği hakkında çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Patates kızartması ve cipslerde mide sindiriminden sonra akrilamid'in biyoerişilebilirliğinin arttığını bildirilmiştir (Sansano vd. 2017). Sirke örneklerinde ise GO ve MGO'nun *in vitro* biyoerişilebilirliğinin azaldığını bildirmiştir (Papetti vd. 2013). Soya sosunda ise GO ve MGO'nun *in vitro* biyoerişilebilirliğinin arttığını bildirmiştir (Papetti vd. 2014). Görüldüğü gibi farklı gıda çeşitlerine göre Maillard reaksiyon ürünlerinin biyoerişilebilirliğinde artış ve azalışlar olduğu görülmektedir. Bilindiği gibi işlenmiş gıdalar AGE bileşiklerinin oluşumuna yol açan yüksek miktarda GO ve MGO içermektedir.

İşlenmiş gıdalardaki GO ve MGO'nun *in vitro* biyoerişilebilirliğinin bilinmesi diyetle alınan son AGE miktarlarını belirlemesi açısından önemli olacaktır. Bu araştırmanın amacı *in vitro* gastrointestinal sindirim sistemi kullanılarak bazı gıdalarda bulunan GO ve MGO'nun biyoerişilebilirliğini belirlemek ve gıda çeşitlerine göre oluşumlarını değerlendirmektir.

2. Materyal ve Metot

2.1. Materyal

Gliksal, metilgliksal, metanol, asetonitril, sodyum asetat, 4-nitro-1,2-fenilendiamin, fruktoz, glukoz, sakkaroz, alfa-amilaz (1.5 U/mg), pepsin (≥ 250 ünite/mg), pankreatin (8 x USP), lipaz (100-500 ünite/mg), NaHCO₃, CaCl₂·2H₂O, KCl, NaCl, serum albümin (sığır), safra tuzları, üre, ürik asit ve müsün Sigma-Aldrich'ten (St. Louis, MO, ABD) temin edilmiştir.

2.2. Örneklem

Bu çalışmada kullanılan gıda örnekleri İstanbul'daki farklı marketlerden alınmıştır. Numunelerin içerikleri Tablo 1'de verilmiştir.

2.3. GO ve MGO Ekstraksiyonu ve Türevlendirme

Homojenize edilmiş 5 g numune 50 mL'lik plastik falkon tüpü içine tartıldı ve 25 mL metanol ilave edildi. Numune 5 dk vortekslandı ve 8000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. 1 mL supernatant 10 mL'lik cam tüp içine alındı ve üzerine 1 mL CH₃COONa tamponu (0.1 M, pH: 3) ilave edildi. Daha sonra 0.5 mL türevlendirme solüsyonu (%1 metanol içinde 4-nitro-1,2-fenilendiamin) ilave edildi. Karışım 70 °C'de 20 dakika inkübe edildi. Numuneler 0,45 μ m'lik selüloz asetat filtresi kullanılarak süzülde ve HPLC'ye enjekte edildi (Cengiz vd. 2020).

2.4. GO ve MGO'nun ile HPLC Tayini

GO ve MGO'nun kantitatif tayininde Shimadzu SPD-20A UV/VIS dedektörü (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonya) ile Shimadzu LC 20AT pompasından oluşan HPLC Sistemi kullanıldı. Ayırma işleminde Metanol:Su:Asetonitril'den (42:56:2 v/v/v) oluşan mobil faz kullanıldı ve akış hızı 1 mL/dk olarak ayarlandı. Ayırma işleminde Inersil ODS-3 kolon kullanıldı ve dedektörün dalga boyu 254 nm'ye kolon fırın sıcaklığı ise 30°C'ye ayarlandı.

2.5. Şeker Bileşenleri Ekstraksiyonu

Homojenize edilmiş 5 g numune 50 mL'lik falkon tüpü içine tartıldı. Üzerine 25 mL deiyonize su ilave edildi ve vorteks kullanılarak 5 dakika ekstrakte edildi. Daha sonra hacim deiyonize su ile 50 mL'ye tamamlandı ve 8000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi (Richmond vd. 1981). Numuneler, 0,45 μ m'lik selüloz asetat filtresi ile süzülde ve HPLC'ye enjekte edildi.

2.6. Şeker Bileşenlerinin HPLC ile Tayini

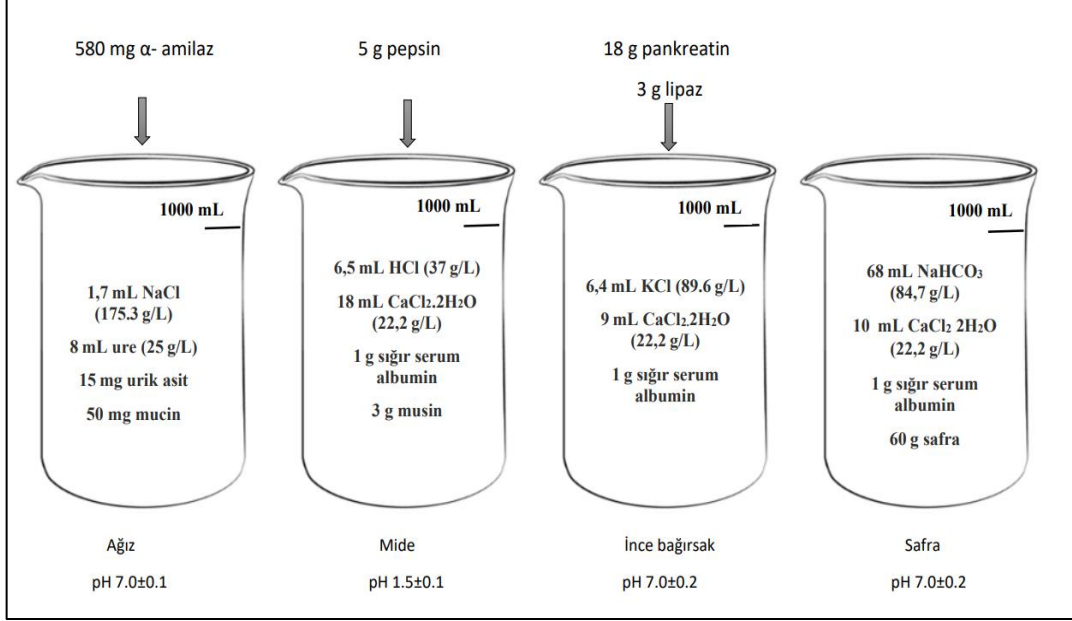
Şeker bileşenlerinin kantitatif tayininde Shimadzu RI-20A dedektörü (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonya) ile Shimadzu LC 20AT pompasından oluşan HPLC Sistemi kullanıldı. Ayırma işleminde Asetonitril'den ve deiyonize su'dan (80:20 v/v) oluşan mobil faz kullanıldı ve akış hızı 2 mL/dk olarak ayarlandı. Ayırma işleminde Agilent NH₂, 250 x 4.6 mm, 5 μ m kolon kullanıldı ve kolon fırın sıcaklığı ise 40 °C'ye ayarlandı.

2.7. GO ve MGO'nun *in vitro* Biyoerişilebilirliği

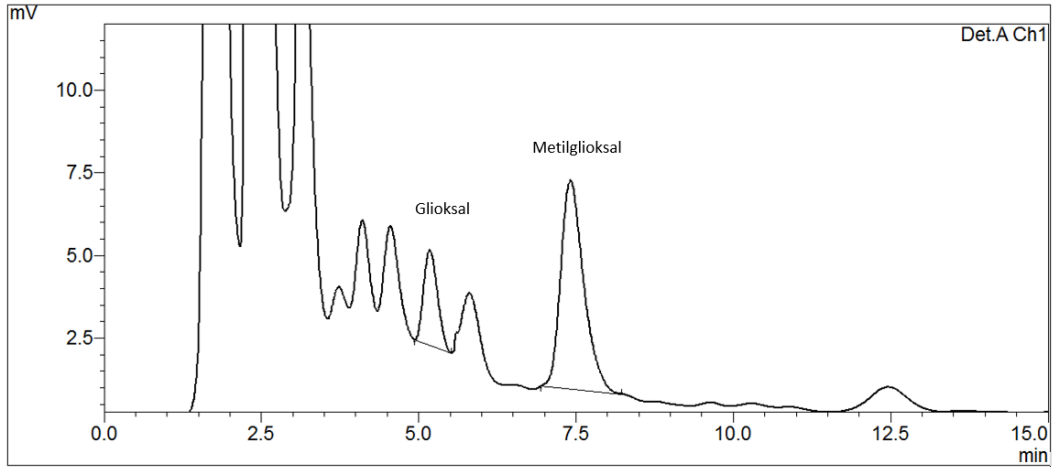
Gıdalardaki GO ve MGO'nun biyoerişilebilirliği *in vitro* gastrointestinal sindirim sistemi kullanılarak belirlendi (Yaman vd. 2019). Tükürük, mide, ince bağırsak ve safra sıvısı Şekil 1'de gösterildiği gibi hazırlandı.

Beş gram numune 50 mL'lik falkon tüp içine tartıldı. Üzerine 5 mL tükürük sıvısı ilave edildi ve çalkalamalı su banyosunda 37

°C'de 5 dk inkübe edildi. Daha sonra 10 mL mide sıvısı ilave edildi ve çalkalamalı su banyosunda 37 °C'de 30 dk inkübe edildi. Hazırlanan safra sıvısından 5 mL ilave edildi ve pH 7'ye ayarlandı. Üzerine ince bağırsak sıvısından 10 mL eklendi ve 37°C'de çalkalama su banyosunda 2 saat inkübe edildi. Daha sonra son hacim deiyonize su ile 50 mL'ye tamamlandı ve karışım 8000 rpm'de 5 dakika santrifüjlendi.



Şekil 1. *In vitro* insan sindirim modelinde kullanılan tükürük, mide, ince bağırsak ve safra sıvısının hazırlanışı.



Şekil 2. Bisküvide glioksal (GO) ve metilglioksal (MGO) HPLC kromatogramı (örnek 1).

3. Araştırma Sonuçları ve Tartışma

GO ve MGO'un örnek HPLC kromatogramı (bisküvi) Şekil 2'de gösterilmektedir. Sindirimden önce ve sonra GO ve MGO'nun miktarı ve biyoerişilebilirlik bulguları Tablo 2'de

gösterilmiştir. Numunelerin etiketleri üzerinde beyan edilen yağ miktarı ve analiz sonucunda elde edilen şeker bileşenleri sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Numunelerin beyan edilen yağ içerikleri, şeker bileşenleri miktarları ve içerikleri.

No	Ürün adı	Beyan edilen yağ miktarı (g/100 g)	Fruktoz (g/100 g)	Glukoz (g/100 g)	Sakkaroz (g/100 g)
1	Bisküvi, Lif Kepeği, Limon	12,5	0,51±0.01	3,38±0.05	8,76±0,12
2	Bisküvi, Tam Buğday, Yağı Azaltılmış	10,8	0,61±0	0,28±0.01	2,19±0.06
3	Bisküvi, Lif Kepeği, Karışık Meyve, Şekeri azaltılmış	13	0,47±0.02	6,08±0,66	0,68±0.01
4	Biscuits, Black Seed Grass, Quinoa	11	0,56±0.01	0,79±0.01	0,96±0
5	Bisküvi, Çörek Otu, Kinoa	17	0,51±0.01	0,23±0	16,64±0.54
6	Bisküvi, Buğday unu	9,6	1,52±0.03	1,68±0,15	16,76±0,62
7	Gofret, fındık	29,11	0,02±0	0,02±0	6,81±0,05
8	Bisküvi, Buğday unu	21	0±0	0±0	28.16±0.78
9	Cips, mısır, fıstık	31,7	0±0	0±0	0±0
10	Cips, patates	33,8	0±0	0±0	0±0
11	Cips, mısır, peynir	26,5	0±0	0±0	0±0
12	Tahıl Gevreği, Çikolata	4.8	0,08±0	0,02±0	11,01±0.22
13	Tahıl Gevreği, Çikolata	7	0,05±0	0±0	21,71±0.78
14	Milk, UHT	3,1	0±0	0±0	0±0
15	Milk, UHT, kakao	1,5	0±0	0±0	0±0
16	Milk, UHT, çilek	1,5	0±0	0±0	0±0

Ortalama değer (n = 3) standart sapma ile verildi.

Bisküvi örneklerinde *in vitro* sindirimden öncesi ölçülen GO ve MGO miktarları sırasıyla 81 ile 169 µg/100 g ve 55 ile 607 µg/100 g arasında değişmektedir. Sindirimden sonra ise GO ve MGO'nun biyoerişilebilirliği sırasıyla %33 ile %236, ve %40 ile %114 arasında bulunmuştur. Etiket üzerinde beyan edilen yağ miktarı 9,6 ile 29,11 g/100 g arasında değişmektedir. Sonuçlara bakıldığında bisküvilerdeki yağ içeriği ve biyoerişilebilirlik arasında anlamlı bir ilişki görülmemiştir. Karışık meyveli bisküvi örneğinin diğer bisküvilere göre daha yüksek GO biyoerişilebilirliğine sahip olduğu görülmektedir. Diğer bisküvilerden farklı olarak bu bisküvide yüksek miktarda glukoz olduğunda Tablo 1'de görülmektedir. Hrynets vd. (2015) glukozamin, N-asetil-glukozamin ve glukozun NH₃'ün bulunduğu *in vitro* ortamda α-dikarbonil bileşiklerine dönüştüğünü bildirmiştir. Görüldüğü gibi bizim çalışmamızda da glukozun *in vitro* ortamda α-dikarbonil bileşiklerine dönüştüğü düşünülmektedir. MGO'nun hem enzimatik olarak hem de enzimatik olmayan ortamda protein glikasyonu yoluyla oluşabileceği bildirilmiştir (O'Brien vd. 1998). Amrein vd. (2006) α-dikarbonil bileşiklerinin oluşumları ile glukoz ve fruktoz arasında sakarozla göre daha yüksek bir korelasyon olduğunu bildirmiştir. Dolayısıyla bizim çalışmamızdaki bisküvilerde

glukoz miktarının GO'nun *in vitro* biyoerişilebilirliğini etkilediği düşünülmektedir.

Cips örneklerinde *in vitro* sindirim öncesi ölçülen GO ve MGO miktarı sırasıyla 135 ve 142 µg/100 g, ve 42 ve 69 µg/100 g arasında bulunmuştur. GO ve MGO'nun *in vitro* biyoerişilebilirliği sırasıyla %67 ile %86, ve %213 ile %392 arasında bulunmuştur. Etiket üzerinde beyan edilen yağ ve tuz içeriği 26,5 ile 33,8 g/100 g arasında iken tuz içeriği 1,0 ile 1,5 g/100 g arasındadır. Bu sonuçlardan görüldüğü gibi GO'nun *in vitro* biyoerişilebilirliği %100'ün altında iken MGO'nun biyoerişilebilirliği %100'ün üzerindedir. İşlenmiş gıdalardaki yağ miktarının α-dikarbonil bileşiklerinin oluşumunu etkilediği bilinmektedir. Bizim çalışmamızdaki cipslerde MGO'nun *in vitro* biyoerişilebilirliği %100'ün üzerinde olmasının nedeni içeriğindeki yüksek yağ miktarından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Çünkü *in vitro* ortamda yağların oksidasyonu sonucu α-dikarbonil bileşiklerinin oluştuğu bilinmektedir. Bunun yanında cipslerde belirli miktarda tuz içermektedir. Tuz içeriğinin MGO'nun biyoerişilebilirliğini *in vitro* ortamda arttırdığı da düşünülmektedir.

Tablo 2. Sindirim öncesi ve sindirim sonrası GO ve MGO'nun miktarları ve biyoerişilebilirlikleri.

Örnek no	Sindirim Öncesi	Sindirim Sonrası	Sindirim Öncesi	Sindirim Sonrası	Biyoeerişilebilirlik %	
	GO ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)	GO ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)	MGO ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)	MGO ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)	GO	MGO
1	143 \pm 4 ^a	149 \pm 4 ^a	347 \pm 8 ^a	140 \pm 2 ^b	104 \pm 3	40 \pm 1
2	160 \pm 6 ^a	128 \pm 5 ^b	55 \pm 2 ^a	59 \pm 3 ^a	80 \pm 3	109 \pm 6
3	81 \pm 3 ^a	191 \pm 3 ^b	607 \pm 16 ^a	212 \pm 6 ^b	236 \pm 4	35 \pm 1
4	156 \pm 5 ^a	52 \pm 3 ^b	101 \pm 4 ^a	115 \pm 6 ^b	33 \pm 2	114 \pm 6
5	122 \pm 3 ^a	76 \pm 3 ^b	178 \pm 8 ^a	78 \pm 3 ^b	62 \pm 2	44 \pm 2
6	169 \pm 5 ^a	202 \pm 8 ^b	211 \pm 9 ^a	220 \pm 6 ^a	119 \pm 4	104 \pm 3
7	153 \pm 4 ^a	48 \pm 4 ^b	23 \pm 2 ^a	24 \pm 1 ^a	31 \pm 3	103 \pm 4
8	113 \pm 3 ^a	92 \pm 3 ^b	167 \pm 5 ^a	102 \pm 3 ^b	81 \pm 2	61 \pm 2
9	135 \pm 4 ^a	100 \pm 4 ^b	57 \pm 3 ^a	121 \pm 4 ^b	74 \pm 3	213 \pm 6
10	141 \pm 4 ^a	121 \pm 5 ^b	42 \pm 2 ^a	163 \pm 6 ^b	86 \pm 4	392 \pm 15
11	142 \pm 3 ^a	95 \pm 4 ^b	49 \pm 3 ^a	168 \pm 7 ^b	67 \pm 3	344 \pm 14
12	169 \pm 3 ^a	370 \pm 6 ^b	65 \pm 3 ^a	137 \pm 4 ^b	220 \pm 3	210 \pm 6
13	142 \pm 4 ^a	108 \pm 4 ^b	55 \pm 2 ^a	66 \pm 3 ^b	76 \pm 3	121 \pm 6
14	62 \pm 3 ^a	11 \pm 1 ^b	19 \pm 2 ^a	7 \pm 1 ^b	17 \pm 1	39 \pm 3
15	111 \pm 3 ^a	27 \pm 1 ^b	25 \pm 3 ^a	8 \pm 1 ^b	25 \pm 1	30 \pm 2
16	114 \pm 4 ^a	11 \pm 1 ^b	43 \pm 3 ^a	8 \pm 1 ^b	10 \pm 1	18 \pm 2

Ortalama değer (n = 3) standart sapma ile verildi.

Kahvaltılık gevrek örneklerinde *in vitro* sindirim öncesi ölçülen GO ve MGO miktarı sırasıyla 142 ile 169 $\mu\text{g}/100\text{ g}$, ve 55 ile 65 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ arasında bulunmuştur. Tablo 1'de görüldüğü gibi kahvaltılık gevrek örneklerinde şeker olarak daha çok sakaroz bulunmaktadır. Etiket üzerinde beyan edilen yağ miktarları ile 4,8 ile 7,0 $\text{g}/100\text{ g}$ arasındadır. GO ve MGO'un *in vitro* biyoerişilebilirliği sırasıyla %76 ile %220, ve %121 ile %210 arasında bulunmuştur. İşlenmiş gıdalarda yüksek yağ içeriği GO ve MGO'nun miktarını arttırdığı bilinmektedir. Bilindiği gibi *in vitro* ortamda lipid peroksidasyonu sonucu GO ve MGO oluşabilmektedir. Kahvaltılık gevreklerde belirli miktarda yağ içerdiğinden dolayı GO ve MGO'nun biyoerişilebilirliğinin lipid peroksidasyonuna bağlı olarak arttığı düşünülmektedir.

Süt örneklerinde sindirim öncesi ölçülen GO ve MGO miktarı sırasıyla 62 ve 114 $\mu\text{g}/100\text{ g}$, ve 19 ve 43 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ arasında bulunmuştur. Ekitet üzerinde beyan edilen yağ miktarı ise 1,5 ile 3,1 $\text{g}/100\text{ g}$ arasında değişmektedir. GO ve MGO'nun biyoerişilebilirliği sırasıyla %10 ile %25, ve %18 ile %39 arasında değişmektedir. Süt örneklerinin biyoerişilebilirliği diğer gıdalarda göre karşılaştırıldığında daha düşük olduğu görülmektedir. Süt proteinlerinde vitamin (Yaman vd. 2019) ve mineral (Vegarud vd. 2000) bağlayıcı proteinler gibi birçok bağlayıcı protein bulunmaktadır. Örneğin, folat bağlayıcı

proteinler, bağırsak bakterilerine karşı koruma sağlamak için folatı bağlamaktadırlar. Sütte bulunan bağlayıcı proteinlerin GO ve MGO'yu bağlandığı ve dolayısıyla biyoerişilebilirliği azalttığı düşünülmektedir.

Papetti vd. (2013) balzamik sirkesinde bulunan α -dikarbonil bileşiklerindeki GO ve MGO'un *in vitro* biyoerişilebilirliklerinin yaklaşık %30 azaldığını raporlamıştır. Bu çalışmada sindirim enzimlerinin varlığında α -dikarbonil bileşiklerinin AGE bileşiklerine dönüştüğünden dolayı biyoerişilebilirliğin azaldığı raporlanmıştır. Başka bir çalışmada yine sindirim sırasında α -dikarbonil bileşiklerinin proteinlerle reaksiyona girdiği ve AGE'lerin oluştuğunu bildirmiştir (Yang vd. 2011). Martinez-Saez vd. (2019) serbest amino asitlerin *in vitro* ortamda glukoz ve fruktoz ile reaksiyona girerek Maillard reaksiyon ürünlerinin oluştuğunu bildirmiştir. Sindirim sırasında proteinler ve nişasta enzimler tarafından hidrolize edilir. Proteinlerden serbest amino asitler ve nişastada ise serbest şekerler salınmaktadır. Aynı çalışmada sindirim sırasında oluşan reaktif serbest amino asitlerin reaktif karbonil gruplarıyla reaksiyona girmesiyle CML ve CEL gibi AGE'lerin oluştuğu bildirilmiştir. Başka bir çalışmada ise *in vitro* ortamda kahvede GO, MGO ve DA'nın *in vitro* biyoerişilebilirliği sırasıyla %74, %29 ve %67 oranında azaltılmıştır (Papetti vd. 2014). Benzer şekilde sindirim

proteinleri ile α -dikarbonil bileşiklerinin *in vitro* ortamda reaksiyona girdiği ve AGE son ürünlerinin oluştuğu ve bu nedenle α -dikarbonil bileşiklerinin biyoerişilebilirliğinin azaldığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada soya sosunda GO ve MGO'un *in vitro* biyoerişilebilirliği %290 ve %1000 olarak bulunmuştur. Bu artışın nedeni olarak gıda içindeki farklı matrikslerin biyoerişilebilirliği artırabileceği bildirilmiştir. Çalışmamızda görüldüğü gibi GO ve MGO'nun *in vitro* biyoerişilebilirliği bisküvi, cips ve kahvaltılık gevreklerde genel olarak %100'ün üzerinde bulunmuştur.

Gıdalarda *in vitro* ortamda yağların oksidasyona uğramasıyla reaktif α -dikarbonil bileşiklerinin oluştuğu düşünülmektedir. (Hidalgo vd. 2016; Yu vd. 2016; Zamora ve Hidalgo, 2011). Mariutti vd. (2017) lipidlerin oksidasyonunun hem enzimatik hem de enzimatik olmayan ortamda tuz ilavesiyle ve oksijen varlığında oluşabileceğini bildirmiştir. Sodyum klorür anti-mikrobiyal gıda katkı maddesi olarak kullanılır. Tuz ilavesi antioksidan enzimlerin aktivitesini azaltmaktadır. Bilindiği gibi anti-oksidan enzimler lipid oksidasyonunu engeller (Mariutti vd. 2017). Bu çalışmada görüldüğü gibi tuz içeren gıdalarda tuzun antioksidan enzimlerin aktivitesini azaltacağından dolayı lipid oksidasyonun artacağı ve böylece α -dikarbonil bileşiklerinin *in vitro* biyoerişilebilirliğinin artabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmanın sonuçlarından da görüldüğü gibi tuz ve yağ birlikte *in vitro* gastrointestinal sistemde reaktif α -dikarbonil olan GO ve MGO'nun miktarına artırdığı düşünülmektedir. Polifenoller, vitaminler, kateşinler ve proantosiyeninler gibi bazı antioksidanlar gıdalarda reaktif α -dikarbonil bileşikleri ve AGE'lerin oluşumunu engelleyebileceği bildirilmiştir (Wu ve Yen, 2005; Peng vd. 2010). Yağ ve tuz içeren gıdaların antioksidanlar ile birlikte tüketilmesi *in vitro* ortamda da α -dikarbonil bileşiklerinin oluşumunu engeleyebileceği düşünülmektedir. Dolayısıyla gelecekte bu düşüncüyü destekleyici çalışmalara ihtiyaç vardır.

4. Sonuç

Maillard reaksiyon ürünleri hem gıda işleme sırasında hem de insan vücudunda AGE'lerin oluşumuna neden olmaktadır. Bilindiği gibi AGE'lerin en güçlü öncülleri olan GO ve MGO lizin, arginin ve histidin gibi reaktif amino asitlerle reaksiyona girerek AGE'leri oluşturmaktadır. Bu zararlı AGE bileşikleri kardiyovasküler hastalıklarına, Alzheimer hastalığına ve diyabetin komplikasyonlarına neden olabilmektedir. Literatürde GO ve MGO'nun biyoerişilebilirliği hakkında sınırlı çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada süt hariç diğer gıdalarda GO ve MGO'un *in vitro* biyoerişilebilirliğinin genel olarak arttığı görülmüştür. Yüksek yağ ve tuz *in vitro* ortamda lipidlerin peroksidasyonuna neden olabileceği ve bunun sonucunda α -dikarbonil bileşiklerinin oluşabileceği düşünülmektedir. Gıdalardaki yağ, tuz ve serbest şeker içeriğinin azaltılması *in vitro* gastrointestinal sistemde daha düşük GO ve MGO oluşumunu sağlayabilir. Bu sonuçları desteklemek için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

5. Teşekkür

Bu çalışma İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi ARGE laboratuvarlarında tamamlanmıştır. Desteklerinden dolayı İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi'ne teşekkür ederiz.

6. Kaynakça

- Amrein, T. M., Andres, L., Manzardo, G. G., & Amadò, R. (2006). Investigations on the promoting effect of ammonium hydrogencarbonate on the formation of acrylamide in model systems. *Journal of agricultural & food chemistry*, 54(26), 10253-10261.
- Cengiz, S., Kışmıroğlu, C., Cebi, N., Catak, J., & Yaman, M. (2020). Determination of the most potent precursors of advanced glycation end products (AGEs) in chips, crackers, and breakfast cereals by high performance liquid chromatography (HPLC) using precolumn derivatization with 4-nitro-1, 2-phenylenediamine. *Microchemical Journal*, 158, 105170.
- Henle, T. (2005). Protein-bound advanced glycation end products (AGEs) as bioactive amino acid derivatives in foods. *Amino acids*, 29(4), 313-322.
- Hidalgo, F. J., León, M. M., & Zamora, R. (2016). Amino acid decarboxylations produced by lipid-derived reactive carbonyls in amino acid mixtures. *Food chemistry*, 209, 256-261.
- Hrynets, Y., Ndagijimana, M., & Betti, M. (2015). Studies on the formation of Maillard and caramelization products from glucosamine incubated at 37 C. *Journal of agricultural & food chemistry*, 63(27), 6249-6261.
- Luevano-Contreras, C., & Chapman-Novakofski, K. (2010). Dietary advanced glycation end products and aging. *Nutrients*, 2(12), 1247-1265.
- Mariutti, L. R., & Bragagnolo, N. (2017). Influence of salt on lipid oxidation in meat and seafood products: A review. *Food Research International*, 94, 90-100.
- Martinez-Saez, N., Fernandez-Gomez, B., Cai, W., Uribarri, J., & del Castillo, M. D. (2019). In vitro formation of Maillard reaction products during simulated digestion of meal-resembling systems. *Food Research International*, 118, 72-80.
- Nowotny, K., Jung, T., Höhn, A., Weber, D., & Grune, T. (2015). Advanced glycation end products and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *Biomolecules*, 5(1), 194-222.
- Papetti, A., Mascherpa, D., & Gazzani, G. (2014). Free α -dicarbonyl compounds in coffee, barley coffee and soy sauce and effects of *in vitro* digestion. *Food chemistry*, 164, 259-265.
- Papetti, A., Mascherpa, D., Marrubini, G., & Gazzani, G. (2013). Effect of *In Vitro* Digestion on Free α -Dicarbonyl Compounds in Balsamic Vinegars. *Journal of food science*, 78(4), 514-519.
- Peng, X., Ma, J., Cheng, K. W., Jiang, Y., Chen, F., & Wang, M. (2010). The effects of grape seed extract fortification on the antioxidant activity and quality attributes of bread. *Food Chemistry*, 119(1), 49-53.
- Poulsen, M. W., Hedegaard, R. V., Andersen, J. M., de Courten, B., Bügel, S., Nielsen, J., Skibsted, L. H., & Dragsted, L. O. (2013). Advanced glycation endproducts in food and their effects on health. *Food & Chemical Toxicology*, 60, 10-37.
- Rabbani, N., & Thornalley, P. J. (2014). The critical role of methylglyoxal and glyoxalase 1 in diabetic nephropathy. *Diabetes*, 63(1), 50-52.
- Richmond, M. L., Brandao, S. C., Gray, J. I., Markakis, P., & Stine, C. M. (1981). Analysis of simple sugars and sorbitol in fruit by high-performance liquid chromatography. *Journal of agricultural & Food chemistry*, 29(1), 4-7.

- Sansano, M., Heredia, A., Peinado, I., & Andrés, A. (2017). Dietary acrylamide: What happens during digestion. *Food chemistry*, 237, 58-64.
- O'Brien, J., Nursten, H. E., Ames, J. M., Crabbe, M. J. C., & Crabbe, J. (Eds.). (1998). *The Maillard reaction in foods and medicine* (Vol. 223). Woodhead Publishing.
- Uribarri, J., Woodruff, S., Goodman, S., Cai, W., Chen, X., Pyzik, R., Yong, A., Striker, G.E., & Vlassara, H. (2010). Advanced glycation end products in foods and a practical guide to their reduction in the diet. *Journal of the American Dietetic Association*, 110(6), 911-916.
- Vegarud, G. E., Langsrud, T., & Svenning, C. (2000). Mineral-binding milk proteins and peptides; occurrence, biochemical and technological characteristics. *British Journal of Nutrition*, 84(1), 91-98.
- Wu, C. H., & Yen, G. C. (2005). Inhibitory effect of naturally occurring flavonoids on the formation of advanced glycation endproducts. *Journal of agricultural & food chemistry*, 53(8), 3167-3173.
- Yaman, M., & Mızrak, Ö. F. (2019). Determination and evaluation of in vitro bioaccessibility of the pyridoxal, pyridoxine, and pyridoxamine forms of vitamin B6 in cereal-based baby foods. *Food chemistry*, 298.
- Yaman, M., Mızrak, Ö. F., Çatak, J., & Sargın, H. S. (2019). In vitro bioaccessibility of added folic acid in commercially available baby foods formulated with milk and milk products. *Food Science and Biotechnology*, 28(6), 1837-1844.
- Yaman, M., Çatak, J., Uğur, H., Gürbüz, M., Belli, İ., Tanyıldız, S. N., & Yaldız, M. C. (2021). The bioaccessibility of water-soluble vitamins: A review. *Trends in Food Science & Technology*.
- Yang, K., Qiang, D., Delaney, S., Mehta, R., Bruce, W.R., & O'Brien, P.J. (2011). Differences in Glyoxal and methylglyoxal metabolism determine cellular susceptibility to protein carbonylation and cytotoxicity. *Chemico-Biological Interactions*, 191, 322-9.
- Yu, L., He, Z., Zeng, M., Zheng, Z., He, J., Wang, M., & Chen, J. (2016). Effects of oxidised linoleic acid on the formation of Nε-carboxymethyl-lysine and Nε-carboxyethyl-lysine in Maillard reaction system. *International journal of food science & technology*, 51(3), 742-752.
- Zamora, R., & Hidalgo, F. J. (2011). The Maillard reaction and lipid oxidation. *Lipid Technology*, 23(3), 59-62.