



Fenolik Bileşiklerin Lipit Oksidasyonunu Önleme Aktiviteleri ve Timokinonun Terapötik Özellikleri^A

Şeyma YILDIZ^{1*}, Semra TURAN²

Öz: Canlı yaşamında önemli yeri olan yağların farklı etkenler ile oksidasyona uğraması besin ve kalite kaybına yol açmaktadır. Oksidatif reaksiyonlarla mücadele etmek için antioksidanlar kullanılmaktadır. Antioksidatif etki fenolik bileşiklerin en önemli biyolojik aktivitelerinden biri olarak bilinmektedir. Koruyucu ve tedavi edici etkileri bulunan ve çörekotu esansiyel yağının ana aktif bileşeni olan timokinon da sahip olduğu terapötik özelliklerden dolayı birçok çalışmada araştırma konusu olmuştur. Bu derlemede serbest radikaller, antioksidanlar, lipit oksidasyonu, lipit oksidasyonu ölçüm yöntemleri, fenolik bileşikler ve lipit oksidasyonunu önleme aktiviteleri ile timokinonun yapısı, koruyucu ve tedavi edici özellikleri, antioksidan, antifungal, antiviral ve antibakteriyel etkileri üzerine yapılan çalışmalar değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan aktivite, fenolik bileşikler, lipit oksidasyonu, serbest radikaller, timokinon.

^A Timokinonun Rafine Ayçiçek ve Mısırozü Yağlarının Oksidatif Stabiliteleri Üzerine Etkileri tezinden yayın yapılmıştır.

* **Sorumlu yazar/Corresponding Author:** ¹ Şeyma YILDIZ (Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Gölköy Kampüsü, Bolu, Türkiye, seyma.yildiz@tarimorman.gov.tr, [OrcID 0000-0002-7323-7741](https://orcid.org/0000-0002-7323-7741))

² Semra TURAN (Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Gölköy Kampüsü, Bolu, Türkiye, turan_s@ibu.edu.tr, [OrcID 0000-0002-1005-3590](https://orcid.org/0000-0002-1005-3590))

Lipid Peroxidation Inhibition Activities of Phenolic Compounds and Therapeutic Potential of Thymoquinone

Abstract: The oxidation of fats which have an important place in living life with different factors leads to loss of food and quality. Antioxidants are used to inhibit oxidative reactions. The antioxidative effect is known as one of the most important biological activities of phenolic compounds. Thymoquinone, the main active component of black cumin essential oil, has protective and therapeutic effects and has been the subject of research in many studies due to its therapeutic properties. In this review, free radicals, antioxidants, lipid oxidation, measuring methods for lipid oxidation, phenolic compounds and their potential to prevent lipid oxidation, thymoquinone and its therapeutic potential, antioxidant, antifungal, antiviral and antibacterial activity were evaluated.

Keywords: Antioxidant activity, phenolic compounds, lipid oxidation, free radicals, thymoquinone.

Giriş

2016 yılında, 203 milyon ton dünya ham yağ üretiminin %92.1'i yağlı tohumlardan, %7.9'u ise hayvansal kaynaklardan sağlanmıştır (Onat ve ark., 2017). 2019/2020 hasat sezonu dünya bitkisel yağ üretimi 203.91 milyon ton olmuştur (Statista, 2020). Yağ elde etmek amaçlı endüstriyel sanayide tohumları işlenen bitkiler; soya, ayçiçeği, çiğit (pamuk), kolza, yerfıstığı, susam, aspir, hintyağı, haşhaş, keten, kenevir, zeytin, mısır, palm ve hindistan cevizidir. Çiğit, haşhaş, keten, kenevir ve mısır bitkilerinin yağları ise yan ürün olarak tohumlarından elde edilmektedir (Onat ve ark., 2017). Soya, palm, kolza ve ayçiçeği tohumları dünya çapında bitkisel yağ üretiminin %87'sini oluşturmaktadır. (UFOP, 2019).

Mısırözü ve ayçiçek yağı, özellikle başta elzem yağ asitlerinden linoleik asit (18:2) olmak üzere yüksek oranda çoklu doymamış yağ asitlerini içerirler; bu nedenle besleyici değerleri yüksektir. Buna karşın yüksek oranda doymamış yağ asitlerini içerdikleri için oksidatif bozulmalara karşı daha duyarlıdırlar (Baştürk ve ark., 2018; Mezza ve ark., 2018). Lipit oksidasyonu, gıdaların besin kalitesini düşürürken tat ve kokusunu da değiştirebilen, gıdayı tüketilemez hale getiren toksik reaktif karbonil bileşiklerin oluşmasına neden olan kritik bozulma tepkimesidir (Xu ve ark., 2019).

Soğuk pres yağlar genellikle rafine yağlardan oksidatif olarak daha kararlıdırlar (Kıralan ve ark., 2017). Antioksidanlar ve biyoaktif özellikteki bileşenler (tokoferoller, fenolik maddeler, steroller, skualen vb.) rafinasyon işlemi sırasında, ham yağdan uzaklaştırılmakta ya da parçalanarak kayba uğramaktadır (Yemişçiöğlü ve ark., 2016; Durmaz ve Gökmen, 2019). Bu kaybolan direnci tekrar kazandırabilmek için antioksidan kullanılması gerekmektedir (Kıralan ve Bayrak, 2005). Gıda endüstrisinde besinleri oksidatif bozulmadan korumak ve raf ömürlerini artırmak için esas olarak bütil hidroksitoluen (BHT), bütil hidroksianisol (BHA), tersiyer bütil hidroksikinin (TBHQ) ve propil gallat (PG) gibi sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır. Bu sentetik antioksidanlar oldukça etkin, stabil ve ucuz olmalarına karşın, canlı organizmalarda karsinojenik ve

teratojenik etki gösterdiğine dikkat çekilmektedir. Bu sebeple de doğal antioksidanlara olan ilgi giderek artmaktadır (Deveci ve ark., 2016).

Doğal antioksidanlar enzimatik antioksidanlar (glutatiyon peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz) ve enzimatik olmayan antioksidanlar (mineraller, vitaminler, polifenoller, fenolik asitler, flavonoidler, karotenoidler, kurkumin, gingerol) ve diğer antioksidanlar (proteinler ve bilirubin, ürik asit gibi protein olmayanlar) olarak genel iki gruba ayrılabilir. Doğal antioksidanlar, meyveler, sebzeler, kuruyemişler, tohumlar, yapraklar, kökler ve kabuklar gibi bitkilerin tüm kısımlarında oluşabilen fenoliklerdir (Anwar ve ark., 2018).

Polifenolik bileşikler, bitkilerden elde edilen antioksidanların aktif bileşenleri olup, indirgen ve serbest radikalleri yok edici olarak görev yaparlar. En etkili antioksidanların yapısında iki veya daha fazla grup halinde polifenolik bileşikler bulunmaktadır (Baladura ve Şimşek, 2014).

Literatürde fenolik bileşiklerin yağların oksidatif stabiliteyi üzerindeki etkisini inceleyen birçok çalışma bulunmaktadır. İnanç ve Maskan, (2014) çalışmalarında çeşitli fenolik bileşiklerin palm yağındaki, Horuz ve Maskan, (2015) mısırözü ve palm yağındaki, Saoudi ve ark., (2017) soya yağındaki, Farhoosh ve Nyström, (2018) ayçiçek yağındaki, Gursul ve ark., (2019) ceviz yağındaki, Tohma ve Turan (2015) ise fındık yağındaki antioksidan özelliklerini araştırmışlardır.

Çörekotu yağı, hem sabit yağında hem de uçucu yağında bulunan fenolik bileşikler nedeniyle oksidatif stabilitesi yüksek bir yağdır. En aktif fenolik bileşeni ise timokinondur. Literatürde çörekotu yağının lipit oksidasyonunu önleyici etkisini içeren birçok çalışma bulunmaktadır. Kiralan ve ark., (2017) ve Ammari ve ark., (2012a) çalışmalarında çörekotu yağının ayçiçek yağı üzerindeki etkilerini, Ramadan ve Wahdan, (2012) ve Ammari ve ark., (2012b) mısırözü yağı üzerindeki etkilerini, Hamed ve Abo-Elwafa, (2012) keten tohumu yağı üzerindeki etkilerini incelemişler ve oksidatif stabiliteyi artırıcı özelliklerini araştırmışlardır.

Canlı organizması için gerekli olan karbonhidrat, protein ve yağlar aynı zamanda enerji kaynaklarıdır. Dengeli beslenmede her birinin rolü büyüktür. Yağlar, beslenmenin yanı sıra sağlık açısından da büyük önem taşımaktadır. Yağlarda hidrojen atomu oranı fazladır, bu nedenle de yüksek enerji kaynağıdır (9 kcal/g enerji). Proteinlerle birleşip lipoproteinleri oluştururlar, kan lipit düzeylerinde rol oynarlar. İnsan vücudunda A, D, E, K gibi yağda çözünen vitaminlerin taşınmasını sağlar, hücre yapısı için gerekli olan esansiyel yağ asitlerini içerirler. Gıdaların lezzetini artırmaları, deri altında depolanarak soğuğa karşı koruma sağlamaları, organları dış etkilerden korumaları, midede kalma süreleri ile tokluk hissi sağlamaları da yağların diğer bazı özellikleridir (Gündüz ve Esengün, 2010; Kaya ve ark., 2004; Karaca ve Aytaç, 2007; Mol, 2008; Chowdhury ve ark., 2007; Küçük ve Gürbüz, 1999).

Yağların oksidatif stabiliteyi tokoferoller, hidrokarbonlar, steroller, polifenoller, renk bileşenleri, metal iyonları, fosfor ve başlangıç hidroperoksit düzeyi gibi yağda bulunan minör bileşenlerinin varlığına ve yağın yağ asidi kompozisyonuna bağlıdır (Ramadan ve Morsel, 2004; Rossi ve ark., 2007).

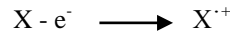
Bu çalışmada; oksidatif reaksiyonlardan sorumlu olan serbest radikaller ile bu reaksiyonları sonlandırma, önleme ve geciktirme özelliğine sahip antioksidanlar, lipit oksidasyonu ile lipit oksidasyonu ölçüm yöntemleri,

fenolik bileşiklerin lipit oksidasyonunu önleme aktiviteleri ve antioksidan özelliği yanında birçok tedavi edici etkisi bulunan, timokinonun özellikleri incelenecektir.

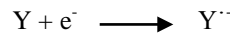
Serbest Radikaller ve Antioksidanlar

Oksidatif reaksiyonlardan sorumlu olan serbest radikaller, tek bir eşleşmemiş elektron içeren moleküller veya molekül fragmanlarıdır (Slater, 1988). Genellikle kararsız olup çok reaktiftirler (Cheeseman ve Slater, 1993; Lobo ve ark., 2010).

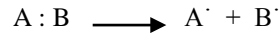
Serbest radikaller; radikal olmayan bir molekülün bir elektron kaybetmesi sonucu eşleşmemiş bir elektron ve pozitif bir yük bırakması ile,



veya radikal olmayan bir molekülün tek bir elektron kazanması ile,



veya kovalent bağ taşıyan bir molekülün homolitik yıkımı sonucu bağ çiftindeki her bir atomda elektron bırakması ile oluşurlar (Halliwell ve Gutteridge, 2015).



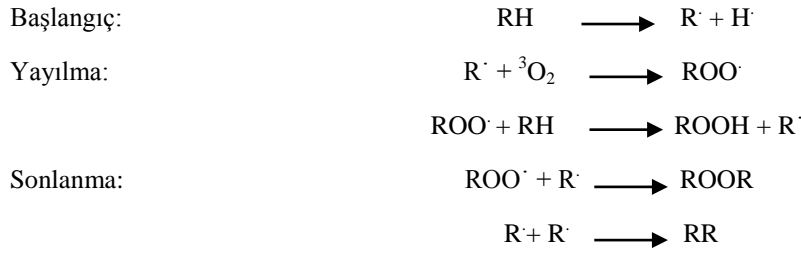
Serbest radikaller, oksijen kaynaklı reaktif oksijen türleri (ROS) ve azot kaynaklı reaktif azot türleri (RNS) olabilirler. Süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil (OH^{\cdot}), peroksil (ROO^{\cdot}), lipit peroksil (LOO^{\cdot}), hidroperoksil (HO_2^{\cdot}) ve alkoksil (RO^{\cdot}) radikalleri reaktif oksijen türleridirler. Nitrik oksit (NO^{\cdot}) ve azot dioksit (NO_2^{\cdot}) ise reaktif azot türlerini oluşturur. Serbest radikaller reaktif olmayan formlara kolayca dönüşebilir. Hidrojen peroksit (H_2O_2), ozon (O_3), singlet oksijen (1O_2), hipokloröz asit ($HOCl$), nitrik asit (HNO_2), peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$), dinitrojen trioksit (N_2O_3) ve lipit peroksit ($LOOH$) patolojik veya fizyolojik şartlarda canlı tarafından üretilerek organizmada kolaylıkla serbest radikal reaksiyonlarına yol açabilen güçlü oksidan ajanlardır (Karabulut ve Gülay, 2016; Darley-Usmar ve Halliwell, 1996).

Antioksidanlar, serbest radikalleri nötrleştirerek oksidatif reaksiyonlarla mücadele etme yeteneğine sahip bileşiklerdir (Sahurkar ve Karadbhajne, 2018). Genellikle düşük konsantrasyonlarda oksidasyonu önlerler (Sulekha ve ark., 2009). Antioksidanların etkinliği, antioksidanın kimyasal yapısı, konsantrasyonu, ortam sıcaklığı, oksidasyon substratının tipi ve sistemin fiziksel durumu ile prooksidanların ve sinerjistlerin varlığı gibi birçok faktörden etkilenmektedir. Antioksidanlar, serbest radikallerin ara ürünlerini toplayarak oksidasyonun zincir reaksiyonlarını kıran primer antioksidanlar ve oksidasyonun başlatıcılarını veya hızlandırıcılarını baskılayarak veya primer antioksidanları rejenere ederek oksidasyonu önleyen veya geciktiren sekonder antioksidanlar şeklinde sınıflandırılabilir (Shahidi ve Zhong, 2010). Antioksidanlar, hedef lipitleri başlatıcılardan ($O_2^{\cdot-}$, 1O_2) koruyan ya da yayılma aşamasını durduran “koruyucu antioksidanlar” ve radikal oksidasyon çoğaltıcılarını (LOO^{\cdot}) durduran ve dolaylı olarak radikal zincir yayılımını durduran “zincir kırıcı antioksidanlar” olarak da sınıflandırılabilirler. Mevcut çeşitli oksidasyon başlatıcıları nedeni ile birçok farklı “koruyucu

antioksidan” yolları vardır. Bunlar; geçiş metallerinin şelatasyonu, singlet oksijen deaktivasyonu, enzimatik ROS detoksifikasyonu, UV filtrasyonu, prooksidan enzimlerin inhibisyonu, antioksidan enzim kofaktörleri vb. dir. Zincir kırıcı antioksidanlar ise bir veya birkaç aromatik halka üzerinde farklı substitüentlere sahip mono- veya poli-hidroksillenmiş fenol bileşiklerini (tokoferoller, tokotrienoller, flavonoidler, fenolik asitler, alkoller ve stilbenler vb.) içerir. Bilinen en güçlü zincir kırıcı antioksidan tokoferollerdir (Laguerre ve ark., 2007).

Lipit Oksidasyonu

Lipitler iki tür oksijenle reaksiyona girebilir. Bunlardan biri atmosferik triplet oksijen (3O_2), diğeri ise singlet oksijendir (1O_2). Bu sebeple yağların oksidasyonu, oksijen türlerine bağlı olarak, otoksidasyon ve foto-oksidadasyon olmak üzere iki şekilde gerçekleşebilmektedir. Otoksidasyon, triplet oksijenin (3O_2) lipit radikalleriyle reaksiyona girmesi ve serbest radikal zincir reaksiyonunu başlatması ile gerçekleşmektedir (Choe ve Min, 2006).



RH: lipit molekülü, R \cdot : lipit alkil radikali, ROO \cdot : lipit peroksil radikali, ROOH: lipit peroksit (Choe ve Min, 2006).

Serbest radikal zincir reaksiyonlarının ‘başlangıç’ aşaması, bu aşamada lipit radikalinin oluşması nedeni ile çok önemlidir (Porter ve ark., 1995). Isı, ışık ve metal iyonları etkisiyle RH'den hidrojen atomunun ayrılması ile lipit alkil radikali (R \cdot) oluşur. ‘Yayılma’ basamağında, lipit radikali triplet oksijen ile reaksiyona girerek, lipit peroksil radikalini (ROO \cdot) oluşturur (Choe ve Min, 2006). Oluşan peroksil radikali, lipit hidroperoksitlerini oluşturmak üzere başka lipit moleküllerine saldırarak, H atomlarını alır ve yeni lipit radikallerini oluşturur. Bu nedenle, tek bir ‘başlangıç’ basamağı altında birçok lipit molekülü, lipit hidroperoksitlerine dönüşebilir. ‘Yayılma’ aşaması, serbest radikallerin imhasıyla sonuçlanan ‘sonlanma’ reaksiyonları ile kırılır. Serbest radikallerin bimoleküler etkileşimleri genellikle radikal olmayan, stabil ürünler verir (Niki, 1987).

Yağların foto-oksidadasyonu ise, ışık, ışığa duyarlı maddeler ve singlet oksijen (1O_2) varlığında indüklenebilmektedir (Choe ve Min, 2006).

Birincil oksidasyon ürünleri olan lipit hidroperoksitleri, oda sıcaklığında ve metallerin yokluğunda nispeten karardır. Ancak metallerin varlığında veya yüksek sıcaklıkta alkoksi radikallerine dönüşürler ve daha sonra aldehitler, ketonlar, asitler, esterler, alkoller ve kısa zincirli hidrokarbonları oluştururlar. Birincil oksidasyon ürünlerinden ikincil ürünlerin oluşum süresi, yağ çeşidine göre farklılık gösterir. İkincil oksidasyon ürünleri,

zeytin ve kolza yağlarında hidroperoksit oluşumundan hemen sonra oluşurken, ayçiçek ve aspir yağlarında, hidroperoksitlerin konsantrasyonu dikkate değer seviyeye ulaştığında meydana gelmektedirler (Choe ve Min, 2006).

Lipit kompozisyonu, lipit oksidasyonunu etkileyen başlıca faktörlerden biridir. Lipit oksidasyon reaksiyonları esas olarak yağ asitlerinde meydana gelir. Oksidasyon, doymamış grupların (çift bağ) artmasıyla önemli ölçüde artar. Çoklu doymamış yağ asitleri, tekli doymamış yağ asitlerinden daha hızlı oksitlenir. Linoleik asit (C18:2) oksidasyonu, oleik asitten (18:1) on kat daha hızlı gerçekleşirken, oleik asit oksidasyonu linolenik asitten (C18:3) 20 ile 30 kat daha yavaş gerçekleşir. Bu durum, çift bağlı karbon atomundan hidrojenin ayrılması için gerekli olan enerjinin, metil karbonundan hidrojenin uzaklaştırılması için gerekli olan enerjiden daha az olmasından kaynaklanır. Lipit peroksitlerin oluşumu, yağ asidi zincirinin uzunluğundan etkilenmez ancak lipit peroksidasyonu, bis-allilik pozisyonların sayısı ile katlanarak artar (Amaral ve ark., 2018).

Lipit oksidasyonunu etkileyen bir diğer etmen olan ışık ile gerçekleşen lipit oksidasyonu, foto-oksidasyon veya ışığa duyarlı oksidasyondan kaynaklanabilir. Foto-oksidasyon, lipitler ultraviyole radyasyona maruz kaldığında ortaya çıkar ve sonucunda serbest radikaller üretilir. Işığa duyarlaştırıcı maddeler ve görünür ışık varlığında, doymamış yağ asitleri foto-oksidasyona maruz kalır. Klorofil ve riboflovin gibi gıdalarda bulunan doğal pigmentler konjuge çift bağları nedeniyle ışığa duyarlı maddelerdir (Gorji ve ark., 2016).

Metal iyonlarının varlığı da lipit oksidasyonunu başlatan veya hızlandıran etmenlerdendir (Gümüş ve Gümüş, 2019). İz metaller hidroperoksitlerin ayrışmasında önemli rol oynar (Ahmed ve ark., 2016). Demir ve bakır gibi geçiş metalleri lipit oksidasyonunda oldukça etkili katalizörlerdir (Domínguez ve ark., 2019). Metal iyonlarının aktivitesi ise pH, ligandlar ve çözücüler gibi çeşitli değişkenlerden etkilenir. Hidroperoksitlerin metal iyonları yoluyla parçalanması, otokatalitik reaksiyonlardan daha hızlıdır. Metal iyonları tarafından gerçekleştirilen yüksek oksidasyon prosesleri peroksil radikalleri üretirken, düşük oksidasyon proseslerinde metal iyonları alkoksi radikalleri üretir (Ahmed ve ark., 2016). Metallerin otoksidasyonda oksidasyon hızını artırmaları da başlangıç aşaması için gerekli aktivasyon enerjisini düşürmelerinden kaynaklanmaktadır (Choe ve Min, 2006).

Pro-oksidan ve antioksidan aktiviteye sahip enzimler de lipit oksidasyonuna etki ederler. Lipoksigenaz doymamış yağ asitlerini oksidasyona uğratarak hidroperoksit oluşumuna neden olan enzim grubudur (Coşkun ve Ercan, 2003). Süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon ise antioksidan aktiviteye sahip endojen enzimlerdendir (Domínguez ve ark., 2019).

Çoklu kimyasal reaksiyonlardan oluşan lipit oksidasyonu, diğer kimyasal reaksiyonlarda da olduğu gibi zaman ve sıcaklık değişiminden etkilenir. Hidroperoksitlerin ayrışması sıcaklık artışı ile hızlanır. Sıcaklık dalgalanmaları da hücre dışı buz kristallerinin oluşumuna yol açar, böylece hücre bozulması artar, pro-oksidan bileşikler salınır ve oksidasyon hızlanır. Depolama sürecinde radikallerin lipitlere zarar verme olasılığının zamanla artması sebebi ile depolama süresi de oksidasyon sürecini etkilemektedir (Domínguez ve ark., 2019).

Su aktivitesi (a_w), enzimatik, enzimatik olmayan esmerleşme, mikrobiyal büyüme gibi birçok reaksiyonun yanında lipit oksidasyonunu da güçlü bir şekilde etkiler. Mikrobiyal büyüme genellikle a_w arttıkça artar. Diğer birçok kimyasal reaksiyon için, a_w 'nin 1.0'ın altına düşüşü, başlangıçta substratlar ve reaktantların daha

konsantre hale gelmesi sebebiyle reaksiyon hızında bir artışa neden olabilir. Ancak a_w 'de devam eden azalma reaksiyon hızını önemli ölçüde azaltır, çünkü reaksiyonların çoğu difüzyonla sınırlı hale gelir (Barden ve Decker, 2016). Lipit oksidasyonu da $a_w=0.1-0.2$ aralığında iken yüksektir, su aktivitesi minimum seviyeye yaklaştıkça ise azalır. $0.2-0.4 a_w$ aralığında (tek katmanlı değer) oksidasyon en düşük seviyede olur. Sonra tekrar $0.4 a_w$ üzerinde oksidasyon artarak $0.6-0.8$ aralığında maksimum seviyeye ulaşır (Frankel, 2014). Su, lipit oksidasyonunda hem koruyucu hem de pro-oksidatif rol oynayabilmektedir. Tek tabakalı nem içeriğine yakın düşük su aktiviteli (a_w) bazı gıdalarda suyun lipit ve oksijen arasında bir bariyer sağlaması nedeni ile koruyucudur (Barden ve Decker, 2016).

Lipit Oksidasyonu Ölçüm Yöntemleri

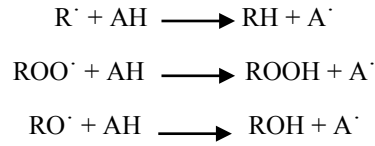
Lipit oksidasyon yöntemleri, birincil ve ikincil oksidasyon ürünlerinin ölçümüne dayanmaktadır. Birincil ürünleri esas alan yöntemler, doymamış yağ asitleri veya oksijen gibi reaktiflerin kaybını veya hidroperoksitler ve konjuge dienler gibi birincil lipit oksidasyon ürünlerinin oluşumunu ölçerler. Peroksit konsantrasyonunun belirlenmesi lipit oksidasyon ölçümlerinde ortak bir yöntemdir. Ancak peroksitlerin ikincil ürünlere nispeten hızlı bir şekilde parçalanması nedeniyle oksidasyon derecesinin saptanmasında peroksit değeri tek başına yeterli olmamaktadır. Birincil oksidasyon ürünlerini esas alan yöntemlerin, düşük sıcaklıkta depolanmış pişmemiş ürünlerdeki düşük oksidasyon seviyelerini ölçmek için uygun olduğu düşünülmektedir. Soğukta depolanan pişmiş etler gibi oksidasyonun hızlandırılmış şekilde gerçekleştiği durumlarda, ikincil oksidasyon ürünlerinin birikimi gerçekleşmektedir. Bu koşullarda ikincil ürünlerin ölçümü ile lipit oksidasyonu daha iyi değerlendirilebilir (Ross ve Smith, 2006). İkincil değişiklikler için endüstriyel koşullarda ve araştırma uygulamalarında sıklıkla uygulanan üç yöntem: karbonillerin, hidrokarbonların ve malonaldehit gibi aldehitlerin oluşumunu içeren tiyobarbitürik asit (TBA) testi, para- anisidin testi ve uçucu bileşiklerin kromatografik ölçümüdür (Laguerre ve ark., 2007).

Lipit oksidasyon ölçümlerini; Ponnampalam ve ark., (2017), Grotta ve ark., (2017) et ürünlerinde TBA testi ile yaparken, Clarke ve ark., (2019) süt ürünlerinde, Difonzo ve ark., (2018) ise pişmiş atıştırmalıklarda lipit oksidasyon bileşikleri ölçümünü gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi cihazı ile yapmışlardır. Ghos ve ark., (2019) yağlarda ransimat metodunu kullanırken, Solaesa ve ark., (2017) peroksit değeri ve anisidin değerleri ile sardalya yağında, Kiralan ve ark., (2019), peroksit değeri ve konjuge dien değerleri ile soğuk sıkım yağlarda lipit oksidasyonunu izlemişlerdir.

Fenolik Bileşiklerin Lipit Oksidasyonunu Önleme Aktiviteleri

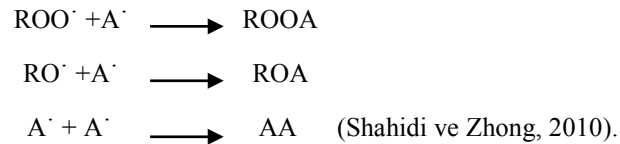
Lipitlerin oksidatif bozulmasını geciktirerek gıdaların kalitesini ve besin değerini artıran, antioksidan aktivite dahil olmak üzere birçok biyolojik etkiye sahip olan fenolik bileşikler, bitkilerde yaygın olarak bulunur (Kähkönen ve ark., 1999). Fenolik bileşikler benzen halkası içeren organik maddelerdir. Fenol adı ile bilinen hidroksibenzen, bir adet hidroksil grubu içerir ve tüm fenolik bileşikler hidroksibenzenden türemiştir. Fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki gruba ayrılır. Fenolik asitler ise benzoik asitler ve sinnamik asitler olmak üzere temel iki grupta incelenir (Söylemezoğlu, 2003; Ho, 1992).

Fenolik bileşikler aşağıdaki reaksiyonda görüldüğü gibi hidrojen atomu vererek serbest radikalleri nötralize eden primer antioksidanlar olarak görev yaparlar.



AH: antioksidan, A[·]: antioksidan radikali (Shahidi ve Zhong, 2010).

Elde edilen antioksidan radikalleri, düşük reaktiviteye sahiptir ve genellikle yeni radikallerin oluşumunu başlatmazlar. Bu nedenle de zincir reaksiyonunda serbest radikal yayılımını engellerler. Bu şekilde oluşan antioksidan radikalleri diğer antioksidan radikalleri ile reaksiyona girerek oksidasyonun sonlanmasını sağlarlar. Birincil antioksidanlar bu şekilde, radikal olmayan kararlı ürünler oluşturmak için bir radikale hidrojen atomu vererek ve başka bir radikalden bir elektron alarak iki lipit radikalini inaktif hale getirirler (Shahidi ve Zhong, 2010).



Passos ve ark., (2019) yapmış oldukları çalışmada, antioksidan etkisi büyük ölçüde timol ve karvakrol gibi fenolik bileşiklerden kaynaklanan kekik esansiyel yağını mayoneze ekleyerek fırın testine (8 gün 63°C'de) tabi tutmuşlar ve elde edilen sonuçları BHT ile karşılaştırmışlardır. Peroksit değeri ve tiyobarbiturik asit reaktif madde sonuçlarına göre mayonezde lipit oksidasyonunun önlenmesinde kekik esansiyel yağının BHT ile benzer etki gösterdiği bildirilmiştir.

Zhang ve ark., (2010) biberiye yapraklarında bulunan ve diterpen yapısında olan karnosik asidi rafine ayçiçek yağına ilave ederek, 60°C'de 21 gün hızlandırılmış oksidasyon testine maruz bırakmışlardır. Karnosik asit katkılı örneklerin, hızlandırılmış oksidasyon testinde peroksit ve *p*-anisidin değerlerinin kontrolden hatta BHA ve BHT'den daha düşük olduğunu, bu fenolik bileşiğin BHA ve BHT'den daha etkili olduğunu ve ayçiçek yağında lipit oksidasyonuna karşı koruyucu etki gösterdiğini belirtmişlerdir.

Gallik asit, metil gallat ve TBHQ varlığında 120°C'de ayçiçek yağı trigliseritlerinde lipit peroksidasyonun incelenmesi ve polar bileşik oluşumunun gözlemlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada, oksidasyonun inhibe edilmesinde gallik asit ve metil gallatın TBHQ'dan daha yüksek antioksidan etkinliğine sahip oldukları bildirilmiştir. Ayrıca gallik asitin düşük sıcaklıklardaki antioksidan veriminin az, yüksek sıcaklıklarda (120°C) oldukça fazla olduğu da belirtilmiştir (Farhoosh ve Nyström, 2018).

Khatib ve ark., (2018) majör fenolik asitleri sırasıyla kaftarik asit (%2.9), kafeik asit (%4.3), kikorik asit (%5.5) ve rosmarinik asit (%87.3) olarak tespit edilen fesleğen fenolik ekstraktının, ayçiçek yağının stabilizasyonunda ve dana ile hindi etinin lipit oksidasyonuna karşı korunmasındaki etkisini araştırmışlardır. Fenolik ekstraktın 4°C'de depolanan hindi ve sığır etinde malonaldehit düzeyini önemli ölçüde düşürdüğü; buna ilaveten ayçiçek yağının bakır kaynaklı oksidasyondan korunmasında pozitif etki sergilediği belirtilmiştir. 37°C'de 60 gün depolanarak gerçekleştirilen oksidasyon testinde ise %0.02 düzeyinde ekstrakt katılması kontrole kıyasla peroksit değerini %53 ($p<0.001$) oranında düşürmesine rağmen, bu değer BHA ile muameleye kıyasla daha az olduğu (%61'lik azalma) tespit edilmiştir. 370°C'de 5 saat depolanarak gerçekleştirilen oksidasyon testinde ise BHA'nın peroksit sayısını kontrole kıyasla %57 azalttığı, fesleğen fenolik ekstraktının ise yakın bir performansla peroksit sayısında %49'luk bir düşüş sağladığı bulgusuna ulaşılmıştır. Araştırmacılar fesleğen fenolik ekstraktının gıda muhafazasında yararlanılabilecek iyi bir doğal antioksidan kaynağı olabileceğini önermektedir.

Benzer şekilde Horuz ve ark., (2015) mısırozü yağı ile yapılan 150 ve 180°C aralığındaki kızartma deneyinde karvakrolün antioksidan etkinliğini doğrulamışlardır. Kızartma işlemi sırasında artan serbest yağ asidi miktarı, peroksit değeri, *p*-anisidin değeri ve toplam polar madde miktarlarını (%) karvakrolün, BHT ve antioksidan içermeyen yağa kıyasla önemli oranda düşürdüğünü bildirmişlerdir. Ayrıca, karvakrolün kızartma yağı olarak kullanılan palm yağı ve mısırozü yağının indüksiyon periyodunu (PetroOXY cihazı ile 700 kPa basınç ve 144-186°C sıcaklık aralığında) artırmada sinmaldehit ve kurkuminden daha etkili olduğunu; timolün palm yağında antioksidan etkinliğinin fazla olduğunu saptamışlardır.

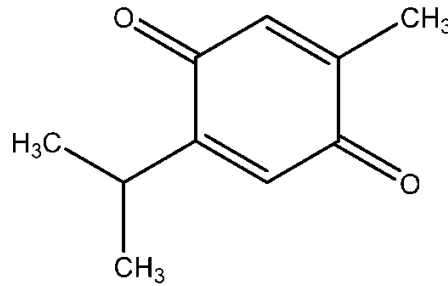
Saoudi ve ark., (2017) yapılan bir çalışmada karnosol, rosmarinik asit ve timolün 60°C'de 20 gün hızlandırılmış oksidasyona bırakılan soya yağının oksidatif stabilitesini artırmada etkili oldukları rapor edilmiştir.

Süperkritik sıvı ekstraksiyonu ile elde edilen tara tohumu yağına karnosik asit, BHA, BHT ve TBHQ eklenmesi ile gerçekleştirilen hızlandırılmış oksidasyon testinde, karnosik asitin yağın oksidasyonunu azaltan etkili bir antioksidan olduğu ve sentetik antioksidanlarla kıyaslandığında; etki düzeyinin BHA ve BHT'den daha yüksek, TBHQ'dan ise daha düşük olduğu bildirilmiştir (Li ve ark., 2018).

Timokinonun Kimyasal Yapısı, Antioksidan, Antimikrobiyel ve Tedavi Edici Özellikleri

Timokinonun Kimyasal Yapısı

Timokinon (2-izopropil-5-metilbenzo-1,4-kinon) benzokinon yapısındadır ve *Nigella sativa* L. uçucu yağının ana aktif bileşenidir (Ballout ve ark., 2018; Glamoçlija ve ark., 2018). Yabani bergamot (*Monarda fistulosa* L.) da potansiyel bir timokinon kaynağıdır (Greaves ve ark., 2018). Birçok bitki türünde timokinon, dimerik ve indirgenmiş formları olan ditimokinon ve timohidrokinon ile birlikte ortaya çıkar (Taborsky ve ark., 2012).



Şekil 1: Timokinonun kimyasal yapısı (Zheng ve ark., 2016).

Timokinon doğada enol, keto veya karışımlarını içeren formlarda bulunur. Keto formu majör fraksiyondur (~% 90) ve bu bileşiğin farmakolojik özelliklerinden sorumludur (Darakhshan ve ark., 2015). Çörekotunun uçucu yağında %18.4-24.0 oranında bulunan önemli bir bioaktif bileşen olan timokinonun, nörodejeneratif hastalıklar, koroner arter hastalıkları, solunum yetersizlikleri ve üriner sistem yetersizlikleri gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde etkili olduğu, terapötik bir ajan olduğu; antioksidan, iltihap sökücü, anti-kanser, antimikrobiyel, anti-mutajenik ve anti-genotoksik aktivite sergilediği birçok çalışmada ortaya koyulmuştur (Sanati ve ark., 2018).

Timokinonun Koruyucu ve Tedavi Edici Özellikleri

Timokinon, kanseri önleyici ve kanseri tedavi edici anti tümör etkiye sahiptir. Hayvan modellerinde ve kültür tümörlerinde kanser hücrelerinin büyümesini inhibe ettiği gözlenmiştir (H El-Far, 2015). Timokinon, özellikle seçici antioksidan aktivite göstererek, DNA yapısına müdahale ederek, kanser moleküllerinin sinyallerinin yollarını değiştirerek ve bağışıklık sisteminin gücünü artırma veya azaltma yoluyla immün yanıtını değiştirerek, anti-kanser aktivite sergiler (Khan ve ark., 2017). Fakhoury ve ark., (2016) timokinonun meme kanserini önleme ve tedavisi üzerinde etkisi olabileceğini araştırırken, Khan ve ark., (2017) kalınbağırsak kanserinde, prostat kanserinde, akciğer kanserinde, rahim ağzı kanserinde, pankreas kanserinde, mesane kanserinde, mide kanserinde, ağız kanserinde, akut lenfoblastik lösemide, timokinonun tedavi edici özelliklerini bildirmişlerdir.

Ullah ve ark., (2017) artan konsantrasyonda timokinon muamelesinin *Fasciola gigantica* kurtçuğunun aktivitesini azalttığını, hücre zarını bozduğunu, istilacı yeteneklerini de önemli ölçüde baskıladığını belirterek, timokinonun konakçı parazitler olan helmintlerin öldürülmesinde kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Badr ve ark., (2011), hamilelik ve emzirme dönemlerinde timokinon katkılı yemle beslenmenin, farelerde diyabetik komplikasyonları iyileştirdiğini ve doğan yavruların etkili bir T hücresi (immün sistemini düzenleyen hücre) bağışıklık tepkisi göstererek, sonraki yaşamlarında da bu koruyucu etkinin devam ettiğini bildirmişlerdir. Bu çalışma ile timokinonun immün sistem üzerindeki olumlu etkisi kanıtlanmıştır.

Tabeshpour ve ark., (2019) timokinonun, akrilamidin neden olduğu nörotoksisiteyi önemli ölçüde azalttığını belirterek, sinir sistemi üzerinde de olumlu etkisinin olduğunu göstermişlerdir.

Ulu ve ark., (2012) timokinonun farelerde kanser tedavisinde kullanılan bir kemoterapi ilacı olan sisplatin kaynaklı akut böbrek hasarını engellediğini ve böylece boşaltım sistemini koruyucu etkiye sahip olduğunu ifade etmişlerdir.

Sangi ve ark., (2015) timokinonun diyabetik sıçanlarda yüksek olan serum glikoz seviyesini düşürdüğünü ve diyabet üzerinde de etkili bir bileşen olduğunu bildirirken; Atta ve ark., (2017) timokinonun diyabetin yol açtığı enflamatuvar ve oksidatif hasara karşı mükemmel bir doğal koruyucu ilaç olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Işık ve ark., (2005) akut solunum sendromu ve akut akciğer hasarı tedavisinde timokinon ve steroid kullanımının solunum sistemi üzerinde olumlu etkisinin bulunduğunu bildirmişlerdir.

Ojha ve ark., (2015) timokinonun oksidatif stresi hafifleterek, endojen antioksidanları artırarak ve yapısal bütünlüğü koruyarak kalp koruyucu etki gösterdiğini, miyokard hasarının başlamasını ve ilerlemesini önlemek için timokinonun tek başına mükemmel bir ajan olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Bu şekilde timokinonun dolaşım sistemi üzerindeki olumlu etkileri olduğunu göstermişlerdir.

Meydan ve ark., (2019) timokinonun, toluen kaynaklı karaciğer hasarı üzerinde bazı antitoksik ve karaciğeri koruyucu etkiler gösterdiğini belirtmişlerdir. Başka bir çalışmada, Meral ve ark., (2018) katı tümör modeli ile indüklenen farelerde, timokinon uygulamasının oksidatif stresi azalttığını, doku ölümünü önlediğini, rejenerasyonu arttırdığını ve karaciğer dokusunda koruyucu etki gösterdiğini ifade etmişlerdir.

Kara ve ark., (2012) ortodontistler tarafından kullanılan üst çene darlığı tedavisinde timokinonun, yeni kemik oluşumunu hızlandırmada olumlu etkisi olduğunu bildirmişlerdir.

Timokinonun Antibakteriyel Etkisi

Timokinon gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı antibakteriyel aktivite gösterir (Goel ve Mishra, 2018). Halawani, (2009) yapılan çalışmada sırasıyla 3 ve 6 µg/mL timokinonun *S. aureus*'u inhibe etmek ve öldürmek için yeterli olduğunu göstermiştir. Chaieb ve ark., (2011) timokinonun test edilen bakterilerin çoğuna karşı özellikle de gram pozitif koklara (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Staphylococcus epidermidis* CIP

106510) karşı önemli bir bakterisidal aktivite (Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerleri 8 ile 32 µg/mL arasında değişmiştir) sergilediğini ve biyofilm oluşumunu inhibe ettiğini belirtmişlerdir.

Timokinonun Antifungal Etkisi

Taha ve ark., (2010) timol, timokinon ve timohidrokinonun 1 mg/mL konsantrasyonda, hastalardan izole edilen dermatofit maya ve küften oluşan otuz patojene karşı %100 inhibisyon gösterdiğini ve timokinonun test edilen tüm dermatofitlere ve mayalara karşı iyi bir antifungal bileşik olduğunu bildirmişlerdir. Almshawit ve Macreadie, (2017) timokinonun farklı *Candida* türleri üzerinde fungusit etkiye sahip olduğunu araştırmalarında belirtmişlerdir. Al-Thobity ve ark., (2017)'da, timokinonun *Candida albicans* üzerinde inhibe edici etkisi olduğunu bildirmişlerdir.

Timokinonun Antiviral Etkisi

Umar ve ark., (2016) *H9N2 avian* influenza virüsüne sahip hindileri timokinon ve kurkumin katkılı yemlerle beslediklerinde virüs kaynaklı belirtilerde azalma olduğunu ve virüs replikasyonunun engellendiğini bildirmişlerdir.

Fröhlich ve ark., (2017) artemisinin ve timokinon ürünlerinden sentezledikleri hibrit bileşiklerin, insan *sitomegalo* virüsüne karşı antiviral ilaç olan gansiklovirden beş kat daha fazla ve artesunik asitten sekiz kat daha fazla aktif olduklarını, düşük toksisite/yüksek seçicilik profili ile antiviral özellik gösterdiklerini bildirmişlerdir.

Khan ve ark., (2018) Newcastle hastalığı virüsü ile aşılınmış embriyo yumurtalarında *Nigella sativa* etanol ekstraktı kullanarak, *Nigella sativa*'nın virüse karşı güçlü etki gösterdiğini doğrulamışlar, bu yüksek aktivitenin de virüse karşı dikkate değer etkiler üreten timokinon varlığından kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Timokinonun Antioksidan Aktivitesi

Timokinonun süperoksit radikal anyonu ve hidroksil radikallerini içeren birçok reaktif oksijen türlerinin süpürücüsü olduğu (Güllü ve Avcı, 2013), farklı radikal türleri süpürücüsü olmasının güçlü antioksidan etkiye sahip olmasından kaynaklandığı bildirilmiştir (Badary ve ark., 2003).

Hamed ve ark., (2012) keten tohumu yağının oksidatif stabilitesini artırmak amaçlı keten tohumu yağını, soğuk preslenmiş *Nigella sativa* yağı ve susam yağları ile karıştırmışlardır. Elde edilen *Nigella sativa* yağı içeren karışımın stabilitesinin, tüm depolama boyunca susam yağı içeren paçaldan daha yüksek olduğu, bunun da özellikle timokinon kaynaklı antioksidan aktiviteden kaynaklandığı bildirilmiştir.

Jrah Harzallah ve ark., (2012) 1,2-dimetilhidrazin-(DMH)'e maruz kalan sıçanlarda, malondialdehit ve konjuge dien seviyelerinde artış olduğunu ve katalaz, glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz aktiviteleri

gibi enzim aktivitelerinin arttığını gözlemlemişlerdir. Timokinon ile ön muamelenin ise belirtilen parametreleri normal değerlere geri döndürdüğünü, timokinonun lipit peroksidasyonunu önleyici etkiye ve antioksidan aktiviteye sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Özdemir ve ark., (2018) mayonezin oksidatif stabilitesini artırmak amaçlı soğuk preslenmiş çörekotu yağını ayçiçek yağı ile karıştırarak artan çörekotu yağı oranında mayoneze eklemişlerdir. Mayonezlerin timokinon içeriklerinin artan çörekotu yağı oranına paralel olarak arttığını belirtmişlerdir. 20°C'de 4 hafta depolama sonucunda peroksit değeri, konjuge dien ve konjuge trien değerlerinin kontrol grubundan düşük olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde Kiralan ve ark., (2017) Kiralan, (2014) ve Gad ve El-Ahmady, (2018) çörekotu yağının oksidatif stabilitesinin yüksek olmasından bileşimindeki timokinonun sorumlu olduğunu bildirmişlerdir.

Sonuç

Fenolik bileşikler lipit oksidasyonunu önlemede sentetik antioksidanlar kadar etkili olabilmektedir. Yağların indüksiyon periyodunu artırmaları, lipit oksidasyonuna karşı koruyucu etki göstermeleri nedeni ile gıda muhafazasında yararlanılabilecek doğal antioksidan kaynakları oldukları yapılan çalışmalarda bildirilmektedir. Çörekotu uçucu yağında bulunan ve aktif fenolik bileşik olan timokinon antikanser, antitümör, bağışıklık sistemi, boşaltım sistemi, solunum sistemi, dolaşım sistemi, sinir sistemi, immün sistemi, iskelet kas sistemi üzerinde farmakolojik etkileri bulunur ve antioksidan, antiviral, antibakteriyel, antifungal etkilere sahiptir. Timokinonun oksidatif stresi baskılaması, oksidatif stresin etkilerini hafifletmesi, oksidatif hasara karşı koruyucu etkilere sahip olması nedeni ile antioksidan madde olarak kullanımı birçok araştırmada yer almaktadır.

Teşekkür

Çalışma Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2018.09.04.1288 nolu proje ile desteklenmiştir.

Kaynakça

- Ahmed, M., Pickova, J., Ahmad, T., Liaquat, M., Farid, A. and Jahangir, M. 2016. Oxidation of lipids in foods. *Sarhad Journal of Agriculture*, 32 (3), 230-238.
- Almshawit, H. and Macreadie, I. 2017. Fungicidal effect of thymoquinone involves generation of oxidative stress in *Candida glabrata*. *Microbiological Research*, 195, 81-88.
- Al-Thobity, A., Al-Khalifa, K., Gad, M., Al-Hariri, M., Ali, A. and Alnassar, T. 2017. In vitro evaluation of the inhibitory activity of thymoquinone in combatting *Candida albicans* in denture stomatitis prevention. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14 (7), 743, 1-9.

- Amaral, A.B., Silva, M.V.D. and Lannes, S.C.D.S. 2018. Lipid oxidation in meat: Mechanisms and protective factors–A review. *Food Science and Technology*, 38, 1-15.
- Ammari, F., Cordella, C.B., Boughanmi, N. and Rutledge, D.N. 2012a. The increase in oxidative stability of sunflower oil enriched with *Nigella sativa* L. seed extracts. *Journal of Food Measurement & Characterization*, 6 (1-4), 12-20.
- Ammari, F., Cordella, C.B., Boughanmi, N. and Rutledge, D.N. 2012b. Independent components analysis applied to 3d-front-face fluorescence spectra of edible oils to study the antioxidant effect of *Nigella sativa* L. extract on the thermal stability of heated oils. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 113, 32-42.
- Anwar, H., Hussain, G. and Mustafa, I. 2018. Antioxidants from natural sources. *Antioxidants in Foods and its Applications*, 3-28.
- Atta, M., Almadaly, E., El-Far, A., Saleh, R., Assar, D., Al Jaouni, S. and Mousa, S. 2017. Thymoquinone defeats diabetes-induced testicular damage in rats targeting antioxidant, inflammatory and aromatase expression. *International Journal of Molecular Sciences*, 18 (5), 919, 1-15.
- Badary, O.A., Taha, R.A., Gamal El-Din, A.M. and Abdel-Wahab, M.H. 2003. Thymoquinone is a potent superoxide anion scavenger. *Drug and Chemical Toxicology*, 26 (2), 87-98.
- Badr, G., Alwasel, S., Ebaid, H., Mohany, M. and Alhazza, I. 2011. Perinatal supplementation with thymoquinone improves diabetic complications and T cell immune responses in rat offspring. *Cellular Immunology*, 267 (2), 133-140.
- Baladura, E. ve Şimşek, B. 2014. Doğal antioksidanlar ve süt ve süt ürünlerinde kullanımı. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 27 (2), 155-162.
- Ballout, F., Habli, Z., Rahal, O.N., Fatfat, M. and Gali-Muhtasib, H. 2018. Thymoquinone-based nanotechnology for cancer therapy: Promises and challenges. *Drug Discovery Today*, 23 (5), 1089-1098.
- Barden, L. and Decker, E. A. 2016. Lipid oxidation in low-moisture food: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56 (15), 2467-2482.
- Baştürk, A., Ceylan, M.M., Çavuş, M., Boran, G. and Javidipour, I. 2018. Effects of some herbal extracts on oxidative stability of corn oil under accelerated oxidation conditions in comparison with some commonly used antioxidants. *LWT-Food Science and Technology*, 89, 358-364.
- Chaieb, K., Kouidhi, B., Jrah, H., Mahdouani, K. and Bakhrouf, A. 2011. Antibacterial activity of thymoquinone, an active principle of *Nigella sativa* and its potency to prevent bacterial biofilm formation. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11 (1), 29, 1-6.
- Cheeseman, K.H. and Slater, T.F. 1993. An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin*, 49 (3), 481-493.
- Choe, E. and Min, D.B. 2006. Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5 (4), 169-186.

- Chowdhury, K., Banu, L.A., Khan, S. and Latif, A. 2007. Studies on the fatty acid composition of edible oil. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*, 42 (3), 311-316.
- Clarke, H.J., Mannion, D.T., O'Sullivan, M.G., Kerry, J.P. and Kilcawley, K.N. 2019. Development of a headspace solid-phase microextraction gas chromatography mass spectrometry method for the quantification of volatiles associated with lipid oxidation in whole milk powder using response surface methodology. *Food Chemistry*, 292, 75-80.
- Coşkun, E. ve Ercan, R. 2003. Makarnalık buğdaylarda lipoksigenaz enzim aktivitesinin belirlenmesi. *Gıda*, 28 (3), 221-226.
- Darakhshan, S., Pour, A.B., Colagar, A.H. and Sisakhtnezhad, S. 2015. Thymoquinone and its therapeutic potentials. *Pharmacological Research*, 95, 138-158.
- Darley-Usmar, V. and Halliwell, B. 1996. Blood radicals: Reactive nitrogen species, reactive oxygen species, transition metal ions, and the vascular system. *Pharmaceutical Research*, 13 (5), 649-662.
- Deveci, H.A., Nur, G., Kırpık, M., Harmankaya, A. ve Yıldız, Y. 2016. Fenolik bileşik içeren bitkisel antioksidanlar. *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9 (1), 26-32.
- Difonzo, G., Pasqualone, A., Silletti, R., Cosmai, L., Summo, C., Paradiso, V. M. and Caponio, F. 2018. Use of olive leaf extract to reduce lipid oxidation of baked snacks. *Food Research International*, 108, 48-56.
- Domínguez, R., Pateiro, M., Gagaoua, M., Barba, F.J., Zhang, W. and Lorenzo, J.M. 2019. A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. *Antioxidants*, 8 (10), 429, 1-31.
- Durmaz, G. and Gökmen, V. 2019. Effect of refining on bioactive composition and oxidative stability of hazelnut oil. *Food Research International*, 116, 586-591.
- Fakhoury, I., Saad, W., Hadir, K.B., Schneider-Stock, R. and Gali-Muhtasib, H. 2016. Effects of thymoquinone encapsulation on its uptake, delivery and anticancer activity in breast cancer cells. *Cancer Research*, 76 (14), Abstract nr 2053.
- Farhoosh, R. and Nyström, L. 2018. Antioxidant potency of gallic acid, methyl gallate and their combinations in sunflower oil triacylglycerols at high temperature. *Food Chemistry*, 244, 29-35.
- Frankel, E.N. 2012. Chapter 11. Foods: Lipid oxidation, Woodhead Publishing in Food Science, Technology and Nutrition, USA, pp:299-350.
- Fröhlich, T., Reiter, C., Saeed, M.E., Hutterer, C., Hahn, F., Leidenberger, M. and Tsogoeva, S.B. 2017. Synthesis of thymoquinone–artemisinin hybrids: New potent antileukemia, antiviral, and antimalarial agents. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 9 (6), 534-539.
- Gad, H.A. and El-Ahmady, S.H. 2018. Prediction of thymoquinone content in black seed oil using multivariate analysis: An efficient model for its quality assessment. *Industrial Crops and Products*, 124, 626-632.
- Ghosh, M., Upadhyay, R., Mahato, D.K. and Mishra, H.N. 2019. Kinetics of lipid oxidation in omega fatty acids rich blends of sunflower and sesame oils using Rancimat. *Food Chemistry*, 272, 471-477.

- Glamočlija, U., Padhye, S., Špirtović-Halilović, S., Osmanović, A., Veljović, E., Roca, S. and Trifunović, S. 2018. Synthesis, biological evaluation and docking studies of benzoxazoles derived from thymoquinone. *Molecules*, 23 (12), 3297, 1-17.
- Goel, S., Mishra, P. 2018. Thymoquinone inhibits biofilm formation and has selective antibacterial activity due to ROS generation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102 (4), 1955-1967.
- Gorji, S.G., Smyth, H.E., Sharma, M. and Fitzgerald, M. 2016. Lipid oxidation in mayonnaise and the role of natural antioxidants: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 56, 88-102.
- Greaves, J.A., Narasimhamoorthy, B., Srivastava, V., Cloud, N. and Clark, D. 2018. Method for production of thymoquinone. *U.S. Patent Application No. 10/138,194*.
- Grotta, L., Castellani, F., Palazzo, F., Haouet, M.N. and Martino, G. 2017. Treatment optimisation and sample preparation for the evaluation of lipid oxidation in various meats through TBARs assays before analysis. *Food Analytical Methods*, 10 (6), 1870-1880.
- Gursul, S., Karabulut, I. and Durmaz, G. 2019. Antioxidant efficacy of thymol and carvacrol in microencapsulated walnut oil triacylglycerols. *Food Chemistry*, 278, 805-810.
- Güllü, E.B. ve Avcı, G. 2013. Timokinon: *Nigella sativa*'nın biyoaktif komponenti. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 6 (1), 51-61.
- Gümüş, B. ve Gümüş, E. 2019. Gıdalarda deniz kaynaklı makroalg özütü kullanımı ve lipid oksidasyonunu önlemede antioksidan etkisi. *Akademik Gıda*, 17 (3), 389-400.
- Gündüz, O. ve Esengün, K. 2010. Ailelerin bitkisel yağ tüketimleri üzerine bir araştırma. *Karamanoğlu Mehmet Bey Üniversitesi Sosyal ve Ekonomik Araştırmalar Dergisi*, 2010 (2), 67-72.
- H El-Far, A. 2015. Thymoquinone anticancer discovery: Possible mechanisms. *Current Drug Discovery Technologies*, 12 (2), 80-89.
- Halawani, E. 2009. Antibacterial activity of thymoquinone and thymohydroquinone of *Nigella Sativa* L. and their interaction with some antibiotics. *Advances in Biological Research*, 3 (5-6), 148-152.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M. 2015. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, USA. 311p.
- Hamed, S.F. and Abo-Elwafa, G.A. 2012. Enhancement of oxidation stability of flax seed oil by blending with stable vegetable oils. *Journal of Applied Sciences Research*, 8 (10), 5039-5048.
- Ho, C.T. 1992. Phenolic Compounds in Food. *Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health I. Analysis, Occurrence and Chemistry*. Eds. Ho, C., Lee, C.Y. and Huang, M, 1-7.
- Horuz, T.İ. and Maskan, M. 2015. Effect of the phytochemicals curcumin, cinnamaldehyde, thymol and carvacrol on the oxidative stability of corn and palm oils at frying temperatures. *Journal of Food Science and Technology*, 52 (12), 8041-8049.
- Inanc, T. and Maskan, M. 2014. Effect of carvacrol on the oxidative stability of palm oil during frying. *Grasas Y Aceites*, 65 (4), e042.

- Isik, A.F., Kati, I., Bayram, I. and Ozbek, H. 2005. A new agent for treatment of acute respiratory distress syndrome: Thymoquinone. A experimental study in a rat model. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 28 (2), 301-305.
- Jrah Harzallah, H., Grayaa, R., Kharoubi, W., Maaloul, A., Hammami, M. and Mahjoub, T. 2012. Thymoquinone, the *Nigella sativa* bioactive compound, prevents circulatory oxidative stress caused by 1, 2-dimethylhydrazine in erythrocyte during colon postinitiation carcinogenesis. *Oxidative Medicine And Cellular Longevity*, 2012.
- Kähkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S. and Heinonen, M. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47 (10), 3954-3962.
- Kara, M.I., Erciyas, K., Altan, A.B., Ozkut, M., Ay, S. and Inan, S. 2012. Thymoquinone accelerates new bone formation in the rapid maxillary expansion procedure. *Archives of Oral Biology*, 57 (4), 357-363.
- Karabulut, H. ve Gülay, M.Ş. 2016. Serbest radikaller. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4 (1), 50-59.
- Karaca, E. ve Aytaç, S. 2007. Yağ bitkilerinde yağ asitleri kompozisyonu üzerine etki eden faktörler. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 22 (1), 123-131.
- Kaya, Y., Duyar, H.A. ve Erdem, M.E. 2004. Balık yağ asitlerinin insan sağlığı için önemi. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 21 (3-4), 365-370.
- Khan, M. A., Tania, M., Fu, S., Fu, J. 2017. Thymoquinone, as an anticancer molecule: from basic research to clinical investigation. *Oncotarget*, 8 (31), 51907-51919.
- Khan, A.U., Tipu, M.Y., Shafee, M., Khan, N.U., Tariq, M.M., Kiani, M.R. and Shah, S.I.A. 2018. In-ovo antiviral effect of *Nigella sativa* extract against Newcastle Disease Virus in experimentally infected chicken embryonated eggs. *Pakistan Veterinary Journal*, 38, 434-437.
- Khatib, S., Harnafi, M., Touiss, I., Bekkouch, O., Amrani, S. and Harnafi, H. 2018. Phenolic extract of basil prevents lipid oxidation in sunflower oil, beef and turkey meat: A comparison with synthetic antioxidant BHA. *American Journal of Food Science and Nutrition*, 5 (3), 66-75.
- Kiralan, M. ve Bayrak, A. 2005. Bitkisel yağların stabilizasyonunda doğal antioksidanların rolü. *Gıda/The Journal of Food*, 30, 247-254.
- Kiralan, M. 2014. Changes in volatile compounds of black cumin (*Nigella Sativa* L.) seed oil during thermal oxidation. *International Journal of Food Properties*, 17, 1482-1489.
- Kiralan, M., Özdemir, N., Özkan, G., Bayrak, A. and Ramadan, M.F. 2017. Blends of cold pressed black cumin oil and sunflower oil with improved stability: A study based on changes in the levels of volatiles, tocopherols and thymoquinone during accelerated oxidation conditions. *Journal of Food Biochemistry*, 41, e12272, 1-10.

- Kıralan, M., Çalılık, G., Kıralan, S., Özyaydın, A., Özkan, G. and Ramadan, M.F. 2019. Stability and volatile oxidation compounds of grape seed, flax seed and black cumin seed cold-pressed oils as affected by thermal oxidation. *Grasas y Aceites*, 70 (1), e295.
- Küçük, M. ve Gürbüz, B. 1999. Bazı çemen (*Trigonella foenum-graecum*) hatlarında yağ ve yağ asitleri bileşenlerinin araştırılması. *Gıda/The Journal of Food*, 24 (2), 99-101.
- Laguerre, M., Lecomte, J. and Villeneuve, P. 2007. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Progress in Lipid Research*, 46 (5), 244-282.
- Li, Z.J., Yang, F.J., Yang, L. and Zu, Y.G. 2018. Comparison of the antioxidant effects of carnosic acid and synthetic antioxidants on tara seed oil. *Chemistry Central Journal*, 12 (1), 37.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A. and Chandra, N. 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4 (8), 118-126.
- Meral, I., Pala, M., Akbas, F., Ustunova, S., Yildiz, C. and Demirel, M.H. 2018. Effects of thymoquinone on liver mirnas and oxidative stress in Ehrlich acid mouse solid tumor model. *Biotechnic & Histochemistry*, 93 (4), 301-308.
- Meydan, S., Esrefoglu, M., Selek, S., Akbas Tosunoglu, E., Ozturk, O., Kurbetli, N. and Meral, I. 2019. Protective effects of caffeic acid phenethyl ester and thymoquinone on toluene induced liver toxicity. *Biotechnic & Histochemistry*, 94(4), 277-282.
- Mezza, G.N., Borgarello, A.V., Grosso, N.R., Fernandez, H., Pramparo, M.C. and Gayol, M.F. 2018. Antioxidant activity of rosemary essential oil fractions obtained by molecular distillation and their effect on oxidative stability of sunflower oil. *Food Chemistry*, 242, 9-15.
- Mol, S. 2008. Balık yağı tüketimi ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Journal of Fisheries Sciences.com*, 2 (4), 601-607.
- Niki, E. 1987. Antioxidants in relation to lipid peroxidation. *Chemistry and Physics of Lipids*, 44 (2-4), 227-253.
- Ojha, S., Azimullah, S., Mohanraj, R., Sharma, C., Yasin, J., Arya, D.S. and Adem, A. 2015. Thymoquinone protects against myocardial ischemic injury by mitigating oxidative stress and inflammation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 1-12.
- Onat, B., Arıoğlu, H., Güllüoğlu, L., Kurt C. and Bakal, H. 2017. Dünya ve Türkiye’de yağlı tohum ve ham yağ üretimine bir bakış. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, 20, 149-153.
- Özdemir, N., Kantekin-Erdogan, M.N., Tat, T. and Tekin, A. 2018. Effect of black cumin oil on the oxidative stability and sensory characteristics of mayonnaise. *Journal of Food Science and Technology*, 55 (4), 1562-1568.
- Passos, R.B.D., Bazzo, G.C., Almeida, A.D.R. and Noronha, C.M. 2019. Evaluation of oxidative stability of mayonnaise containing poly ε-caprolactone nanoparticles loaded with thyme essential oil. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55, e18177, 1-6.

- Ponnampalam, E.N., Plozza, T., Kerr, M.G., Linden, N., Mitchell, M., Bekhit, A.E.D.A. And Hopkins, D.L. 2017. Interaction of diet and long ageing period on lipid oxidation and colour stability of lamb meat. *Meat Science*, 129, 43-49.
- Porter, N.A., Caldwell, S.E. and Mills, K.A. 1995. Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. *Lipids*, 30 (4), 277-290.
- Ramadan, M.F. and Mörsel, J.T. 2004. Oxidative stability of black cumin (*Nigella sativa* L.), coriander (*Coriandrum sativum* L.) and niger (*Guizotia abyssinica* Cass.) crude seed oils upon stripping. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106 (1), 35-43.
- Ramadan, M.F. and Wahdan, K.M.M. 2012. Blending of corn oil with black cumin (*Nigella sativa*) and coriander (*Coriandrum sativum*) seed oils: Impact on functionality, stability and radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 132 (2), 873-879.
- Ross, C.F. and Smith, D.M. 2006. Use of volatiles as indicators of lipid oxidation in muscle foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5 (1), 18-25.
- Rossi, M., Alamprese, C. and Ratti, S. 2007. Tocopherols and tocotrienols as free radical-scavengers in refined vegetable oils and their stability during deep-fat frying. *Food Chemistry*, 102 (3), 812-817.
- Sahurkar, M.R. and Karadbhajne, S.V. 2018. Antioxidants: Extraction and application in food industry. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 3 (6), 272-281.
- Sanati, A.R., Farkhondeh, T. and Samarghandian, S. 2018. Antidotal effects of thymoquinone against neurotoxic agents. *Interdisciplinary Toxicology*, 11 (2), 122-128.
- Sangi, S.M.A., Sulaiman, M.I., El-Wahab, M.F.A., Ahmedani, E.I. and Ali, S.S. 2015. Antihyperglycemic effect of thymoquinone and oleuropein, on streptozotocin-induced diabetes mellitus in experimental animals. *Pharmacognosy Magazine*, 11 (Suppl 2), S251-257.
- Saoudi, S., Chammem, N., Sifaoui, I., Jiménez, I.A., Lorenzo-Morales, J., Piñero, J.E. and L Bazzocchi, I. 2017. Combined effect of carnosol, rosmarinic acid and thymol on the oxidative stability of soybean oil using a simplex centroid mixture design. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97 (10), 3300-3311.
- Shahidi, F. and Zhong, Y. 2010. Lipid oxidation and improving the oxidative stability. *Chemical Society Reviews*, 39 (11), 4067-4079.
- Slater, T.F. 1988. Free radical mechanisms in tissue injury: In Cell Function and Disease, Canedo, L.E., Todd, L.E., Packer L., Jaz, J. Springer, Boston, MA, (209-218).
- Solaesa, Á. G., Sanz, M.T., Melgosa, R. and Beltrán, S. 2017. Substrates emulsification process to improve lipase-catalyzed sardine oil glycerolysis in different systems. Evaluation of lipid oxidation of the reaction products. *Food Research International*, 100, 572-578.
- Söylemezoğlu, G. 2003. Üzümde fenolik bileşikler. *Gıda/The Journal of Food*, 28(3), 277-285.
- Statista (2020). "<https://www.statista.com/statistics/263978/global-vegetable-oil-production>, Erişim Tarihi: 25.10.2020.

- Sulekha, M., Satish, Y., Sunita, Y. and Nema, R.K. 2009. Antioxidants: A review. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 1 (1), 102-104.
- Tabeshpour, J., Mehri, S., Abnous, K. and Hosseinzadeh, H. 2019. Neuroprotective effects of thymoquinone in acrylamide-induced peripheral nervous system toxicity through map kinase and apoptosis pathways in rat. *Neurochemical Research*, 44 (5), 1101-1112.
- Taborsky, J., Kunt, M., Kloucek, P., Lachman, J., Zeleny, V. and Kokoska, L. 2012. Identification of potential sources of thymoquinone and related compounds in *Asteraceae*, *Cupressaceae*, *Lamiaceae*, and *Ranunculaceae* Families. *Central European Journal of Chemistry*, 10, 1899-1906.
- Taha, M., Azeiz, A.Z. and Saudi, W. 2010. Antifungal effect of thymol, thymoquinone and thymohydroquinone against yeasts, dermatophytes and non-dermatophyte molds isolated from skin and nails fungal infections. *Egyptian Journal of Biochemistry & Molecular Biology*, 28 (2), 109-126.
- Tohma, S. and Turan, S. 2015. Rosemary plant (*Rosmarinus officinalis* L.), solvent extract and essential oil can be used to extend the usage life of hazelnut oil during deep frying. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117(12), 1978-1990.
- UFOP, 2019. Union Zur Förderung Von Oel – Und Proteinpflanzen EV, Global Vegetable Oil Production Set to Reach New Peak. Türkiye Veri Servisi. <https://www.ufop.de/english/news/chart-week/>, Erişim Tarihi: 16.10.2019.
- Ullah, R., Rehman, A., Zafeer, M.F., Rehman, L., Khan, Y.A., Khan, M.H. and Abidi, S.M.A. 2017. Anthelmintic potential of thymoquinone and curcumin on *Fasciola gigantica*. *PloS One*, 12 (2), e0171267.
- Ulu, R., Dogukan, A., Tuzcu, M., Gencoglu, H., Ulas, M., İlhan, N. and Sahin, K. 2012. Regulation of renal organic anion and cation transporters by thymoquinone in cisplatin induced kidney injury. *Food and Chemical Toxicology*, 50 (5), 1675-1679.
- Umar, S., Shah, M.A.A., Munir, M.T., Yaqoob, M., Fiaz, M., Anjum, S. and Iqbal, M. 2016. Synergistic effects of thymoquinone and curcumin on immune response and anti-viral activity against avian influenza virus (H9N2) in turkeys. *Poultry Science*, 95 (7), 1513-1520.
- Xu, L., Luo, Y., Fu, X., Luo, F., Xu, Y. and Sun, S. 2019. Effect of *Saccharomyces uvarum* on lipid oxidation and carbonyl compounds in silver carp mince during cold storage. *Food Science & Nutrition*. 7 (7), 2404-2411.
- Yemişçioğlu, F., Özdikicierler, O. ve Gümüşkesen, A.S. 2016. Bitkisel yağ rafinasyonunda yeni bir yaklaşım: Minimal rafinasyon. *Academic Food Journal/Akademik GIDA*, 14 (2), 172-179.
- Zhang, Y., Yang, L., Zu, Y., Chen, X., Wang, F. and Liu, F. 2010. Oxidative stability of sunflower oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during accelerated storage. *Food Chemistry*, 118 (3), 656-662.
- Zheng, J., Zhou, Y., Li, Y., Xu, D.P., Li, S. and Li, H.B. 2016. Spices for prevention and treatment of cancers. *Nutrients*, 8 (8), 495, 1-35.