

Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitkilerde Esansiyel Yağların Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi

Esra UÇAR¹ Elif ODABAŞ KÖSE² Yaşar ÖZYİĞİT³ Kenan TURGUT⁴

¹Cumhuriyet Üniversitesi, Sivas Meslek Yüksek Okulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Sivas

²Akdeniz Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Tıbbi Laboratuvar Programı, Antalya

³Akdeniz Üniversitesi, Korkuteli Meslek Yüksek Okulu, Bahçe Tarımı Programı, Antalya

⁴Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Antalya

Sorumlu yazar: eucar@cumhuriyet.edu.tr

Geliş tarihi: 01.10.2015, Yayına kabul tarihi: 28.11.2015

Özet: Bu çalışma bazı tıbbi ve aromatik bitki yağlarının bakteriler üzerine etkisini belirlemek amacıyla 2014 yılında Akdeniz Üniversitesi'nde yürütülmüştür. Çalışma kapsamında İzmir kekiği (*Origanum onites*), biberiye (*Rosmarinus officinalis*) ve şeker otu (*Stevia rebaudiana*) bitkilerinin esansiyel yağları hidrodistilasyon yöntemiyle çıkartılmış ve elde edilen esansiyel yağların bazı bakteriler (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 *Enterobacter cloacae* ATCC 23355, *Serratia marcescens* ATCC 8100, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028) üzerindeki antimikrobiyal etkileri incelenmiştir. Yağların antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon yöntemine göre değerlendirilmiştir. Kekik yağı test edilen tüm bakterilere karşı antimikrobiyal etki göstermiştir. Biberiye yağı *P. aeruginosa* hariç tüm bakteriler üzerinde etkili olurken, şeker otu yağının ise sadece *S. aureus* ve *E. faecalis* türlerine karşı etkili olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre en yüksek antimikrobiyal aktivite kekik bitkisi yağında kaydedilirken en düşük aktivite ise şeker otu bitkisinin yağında belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Antimikrobiyal aktivite, kekik, biberiye, şeker otu

Determination of Antimicrobial Activity of Essential Oils in Some Medicinal Plants

Abstract: This study was conducted to determine effect of essential oil of certain medicinal and aromatic plants on bacteria and performed in Akdeniz University in 2014. In this study; firstly, essential oils of thyme (*Origanum onites*), rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and sweet herb (*Stevia rebaudiana*) were obtained by hydrodistillation method. The antibacterial effects of essential oils were investigated on some bacteria (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 *Enterobacter cloacae* ATCC 23355, *Serratia marcescens* ATCC 8100, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028). The antimicrobial effects of oils were evaluated according to the disk diffusion method. As a result; particularly thyme oil showed antibacterial activity against all bacteria tested. While rosemary oil was effective on all bacteria except *P. aeruginosa*, sweet herb oil has been found to be effective against only *S. aureus* and *E. faecalis* strain. According to these results; the highest antimicrobial activity was recorded in thyme oil and the lowest activity was determined in sweet herb oil.

Key words: Antimicrobial activity, thyme, rosemary, sweet herbs

Giriş

Esansiyel yağlar tıbbi ve aromatik bitkilerin farklı organlarında değişik oranlarda bulunmaktadırlar. Oda sıcaklığında sıvı olup, kristalleşebilen, renksiz veya açık sarı renkte, yoğun kokuya sahip, uçucu bileşiklerdir. Esansiyel yağlar

su ile karışmadıklarından yağ olarak tanımlansalar da sabit yağlardan farklı yapıdadırlar. Uzun süreli saklamalarda ışık ve oksijene maruz kaldıklarında reçineleştiklerinden dolayı koyu renkli ve ağzı kapalı şişelerde saklanmalıdır. Kimyasal yapılarında en büyük grubu terpenler oluşturmaktadır. Terpenlerin yanında alkoller, aldehitler, esterler, fenoller, azot ve kükürt içeren bileşikler de içermektedirler. (Ceylan, 1983; Kılıç, 2008).

Esansiyel yağların aktif komponentleri olan fenollerin 19. yüzyılın başlarından beri antimikrobiyal etkileri bilinmektedir ve bu özelliklerinden dolayı dezenfektan madde olarak hali hazırda kullanılmaktadırlar (Yeomans, 1996). Ayrıca fenolik bileşikler yiyecek endüstrisinde antioksidan, antimikrobiyal, antikanser, antiobezite, antidiyabetik ve antimutajenik madde olarak kullanılmaktadırlar (Kunyanga ve ark., 2012).

Origanum cinsi *Lamiaceae* ailesi içinde yer alan önemli cinslerden bir tanesidir ve çoğu *Origanum* türü (%75) özellikle Doğu Akdeniz bölgesinde bulunmaktadır. *Origanum* cinsi Türkiye’de 23 tür, 4 alt tür, 1 varyete ve 6 hibrit ile temsil edilmektedir. Dünyadaki tüm *Origanum* türlerinin yaklaşık % 60’ı Türkiye’ye endemiktir ve ülkemiz bu açıdan *Origanum* türlerinin gen merkezi durumundadır (Köse, 2013). Kimyasal ve aromatik içeriğindeki çeşitlilik nedeniyle, *Origanum* türleri besin ürünlerine tat vermek amacıyla ve parfüm endüstrisinde kullanılmaktadır. Ayrıca antibakteriyel, antioksidan, antitrombin ve antihiperglisemik aktiviteler dahil olmak üzere birçok farmakolojik özelliklere sahiptir (Sarı 2006). Bu bitkiler halk arasında da hazımsızlık giderici ve ayrıca astım, baş ağrısı, romatizma gibi hastalıkları tedavi edici olarak kullanılmaktadır (Ozel ve Kaymaz, 2004). Birçok çalışmanın sonuçlarına göre, *Origanum* türlerinin esansiyel yağ içerikleri oldukça çeşitlilik göstermektedir. Buna göre çoğu *Origanum* türü asıl bileşen olarak kavrakrol ve/veya timol içerirken γ -terpinen ve ρ -simen bileşiklerine de yüksek oranlarda rastlanmaktadır (Daouk ve ark., 1995; Sokovic ve ark., 2002; Esen ve ark., 2007).

Rosmarinus officinalis türü de *Lamiaceae* familyasına aittir (Olmedo ve ark., 2013) ve dünyada Fransa’nın güney bölgesinden başlayarak, ülkemizi de içine alan bir kuşak üzerinde ve Afrika’nın kuzeyindeki Tunus ve Cezayir kıyılarında doğal olarak yayılış göstermektedir. Türkiye’de genellikle Akdeniz maki florası içinde doğal olarak yetişmektedir (Aysel, 2008). Biberiye yağının başlıca bileşenleri, % 20 α -pinen, % 20 1,8-sineol, % 18 kafur, % 7 kamfen, % 6 β -pinen % 5 borneol, % 5 mirsen, % 3 bornil asetat, % 2 terpineol, linalol, limonen, terpineol ve karyofillen’dir (Simon ve ark., 1984; Bayrak 2006). Biberiye’nin sindirim sistemi uyarıcısı, safra artırıcı ve idrar söktürücü etkileri vardır ve ayrıca yaraları tedavi etme amacıyla da kullanılmaktadır (Kırpık, 2005). Ayrıca biberiyeden elde edilen esansiyel yağın antibakteriyel, antifungal, antioksidan ve insektisit aktiviteleri bulunmaktadır (Lemos ve ark., 2015).

Stevia rebaudiana Bertoni. *Asteraceae* familyasından olup, anavatanı Güney Amerika’dır (Anonim, 2011). Şeker otundan elde edilen ekstraktlar; flavonoit, alkoloit, esansiyel yağlar, suda çözünen klorofil, ksantofil ve hidrokisisinnamik asit içermektedirler (Komissarenko, 1994). Ayrıca yaprakları sakkarozdan daha tatlı olan steviosid, rebaudiosid A, B, C, D, E ve dulcosid-A glikozitleri içermektedir (Carneiro ve ark., 1997). Bu bitkinin kuru yaprakları şekerden 15-20 kat, toz ekstraktı ise 300 kat daha tatlı olup sıfır kalorilidir (Singh ve Rao, 2005). *Stevia* tatlandırıcısı geniş oranda diyabetliler ya da diyet yapan kişiler tarafından tüketilmektedir (Fronza ve Folegatti, 2003). İdrar söktürücü, ağrı kesici ve kan basıncını düşürücü özellikleri vardır ve ayrıca kan şekeri düşüklüğünde ve mide ağrılarında bitkisel tedavi amacıyla kullanılır (Argueta ve Cano, 1993). Antimikrobiyal ve antifungal önemli biyolojik aktiviteleri bilinmektedir (Cerde-García-Rojas ve Pereda-Miranda, 2002). Kanser önleyici, antioksidan etkili (Okawa ve ark., 2001) özelliğe sahiptir.

Esansiyel yağların hastalıkları tedavi edici özelliklerinin yanında, 19. yüzyılın başlarından beri antimikrobiyal etkileri bilinmektedir ve dezenfektan olarak

kullanılmaktadırlar. Çalışmamızda yer alan kekik; antimikrobiyal, antiseptik, antihelmintik, kardiyovasküler, stimulan özelliklerinden dolayı bu bağlamda geniş bir kullanım alanına sahiptir (Cingi ve ark., 1991). Biberiye bitki ve ekstraktları antibakteriyel ve antioksidan etkiye sahip olup, bu amaçla et ve yağ oksidasyonuna karşı kullanıldığı bilinmektedir (Simon ve ark., 1984; Oluwatuyi ve ark., 2004; Kırpık, 2005). Antibakteriyel açıdan bu denli önemli olan bu bitkilerin etkilerinin karşılaştırılması amacıyla; kekik, biberiye ve şeker otu bitkilerinden elde edilen esansiyel yağların çeşitli patojen bakteriler üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır.

Materyal ve Metod

Bitki örneklerinin elde edilmesi ve esansiyel yağın izolasyonu

Araştırmada kullanılan bitki örnekleri, 2013 yılında Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü deneme arazilerinde bulunan, kekik (*O. onites*), biberiye (*R. officinalis*) ve şeker otundan (*S. rebaudiana*) elde edilmiştir. Her bir bitkiden 500 gr yaş örnek alınmış ve bu örnekler kurutulmadan küçük parçalara ayrılmıştır. Esansiyel yağ eldesi, su distilasyon yöntemiyle Clevenger cihazı kullanılarak yapılmıştır. Bu yöntemde göre, bitki materyali su ile birlikte cam balon içerisinde 2 saat boyunca kaynatılmıştır. Meydana gelen su buharı ile sürüklenen uçucu yağ molekülleri, soğutucuya ulaşınca yoğunlaşarak cam borunun içerisinde altta su üstte yağ olacak şekilde iki tabaka oluşturmuştur. Toplanan esansiyel yağ miktarı volumetrik olarak ifade edilmiştir. Örnekler uygulamaya yapılacağı zamana kadar kapaklı koyu renk şişelerde -20°C'de saklanmıştır.

Bakteri türleri

Çalışmamızda kullandığımız bakteri türleri "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" tarafından kullanımı önerilen ve duyarlılık özelliği bilinen "American Type Culture Collection (ATCC)" kalite kontrol suşları arasından seçilmiştir. Buna göre çalışmamızda Gram (+) bakterilerden *Staphylococcus aureus*

ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, Gram (-) bakterilerden de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterobacter cloacae* ATCC 23355, *Serratia marcescens* ATCC 8100, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 türleri ile çalışılmıştır.

Antimikrobiyal aktivite testi

Bitki esansiyel yağlarının antimikrobiyal aktivitesini test etmek için CLSI'nin standart disk difüzyon metodu kullanılmıştır (CLSI, 2006). Bu metoda göre, bakteri türleri ilk olarak Kanlı Agar plaklarında bir gece 37°C'de inkübe edilerek çoğaltılmıştır. Daha sonra tüm bakterilerin 0.5 McFarland (1x 10⁸ hücre/ml) standart yoğunluğunda olacak şekilde %0.9 NaCl solüsyonu içerisinde süspansiyonları hazırlanmıştır. Bu bakteri süspansiyonları eküvyon yardımı ile Mueller Hinton Agar (MHA) besi yerlerine yayılmıştır. Altı mm çapındaki steril standart boş antibiyotik disklerine 10 µl esansiyel yağ emdirilerek, bakteri yayılmış besi yerlerine diskler teker teker yerleştirilmiştir. Her bakterinin duyarlılık özelliğine göre CLSI'den seçilen standart antibiyotik diskleri de aynı petrilere pozitif kontrol olarak konulmuştur. Yine aynı petri kutusuna sterilite kontrolü için boş antibiyotik diski de yerleştirilmiştir. Tüm bakteriler 37 °C'de, normal atmosfer şartlarında bir gece inkübe edilmiştir. Süre sonunda disklerin çevresinde üreme olmayan alan mm olarak ölçülerek inhibisyon çapları elde edilmiştir. Her bir test dört kez tekrarlanmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Tüm bitki türlerine ait esansiyel yağlarının disk difüzyon testine göre antimikrobiyal aktivite sonuçları tablo halinde verilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre test edilen bakterilere karşı kekik yağı güçlü antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Özellikle *K. pneumoniae* (41 mm), *S. aureus* (40 mm) ve *S. marcescens* (39 mm) bakterileri üzerinde en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Sadece *P. aeruginosa*'ya karşı 10 mm inhibisyon çapı ile düşük bir aktivite sergilemiştir. Biberiye yağında orta düzeyde

bir antimikrobiyal aktivite tespit edilmiştir. En yüksek aktiviteyi 23 mm zon çapı ile *S. aureus*'a karşı göstermiş olup *P. aeruginosa*'ya karşı ise etkili olamamıştır.

Şeker otu yağı ise sadece *S. aureus* ve *E. faecalis*'e karşı orta düzeyde bir aktivite göstermiş olup diğer bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite gösterememiştir.

Çizelge 1. *O. onites*, *R. officinalis* ve *S. rebaudiana* türlerine ait esansiyel yağların antimikrobiyal aktivite sonuçları

Table 1. The results of antimicrobial activity of essential oils of *O. onites*, *R. officinalis* and *S. to rebaudiana* species

Bakteriler Bacteria	<i>O. onites</i> (mm)	<i>R. officinalis</i> (mm)	<i>S. rebaudiana</i> (mm)	Antibiyotik (mm) Antibiotic (mm)	Negatif kontrol Negative control
<i>S. aureus</i>	40	23	15	34 (P)	-
<i>E. faecalis</i>	32	12	12	22 (VA)	-
<i>P. aeruginosa</i>	10	-	-	30 (MEM)	-
<i>E. cloacae</i>	36	14	-	32 (MEM)	-
<i>S. marcescens</i>	39	15	-	30 (MEM)	-
<i>K. pneumoniae</i>	41	13	-	29 (CAZ)	-
<i>E. coli</i>	37	13	-	23 (AMC)	-
<i>S. typhimurium</i>	36	12	-	19 (AMP)	-

P: Penisilin G (10 ünite), VA: Vankomisin (30µg), MEM: Meropenem (10µg), CAZ: Sefitazidim (30µg), AMC: Amoksasilin/klavulanik asit 2:1 (30µg), AMP: Ampisilin (10 µg).

Tıbbi ve aromatik bitkiler ve esansiyel yağlar; hazır yiyecek ürünlerine ilave edildiğinde gösterdikleri antimikrobiyal etki ile yiyeceklerin depolanma süresini arttırmaktadır (Farag, 1989). Bakteri ve küflere karşı antimikrobiyal etki gösteren esansiyel yağlar arasında kekik ve biberiye yağları da vardır (Nychas, 1995).

Literatürde özellikle *Origanum* cinslerine ait esansiyel yağların antimikrobiyal aktivitesinin çalışıldığı birçok çalışma bulunmaktadır. Baydar ve ark. (2004) yılında yaptıkları araştırmalarında *O. onites*'in test ettikleri tüm bakteriler üzerinde etkili olduğunu tespit etmişlerdir. Arıdoğan ve ark. (2002) da *O. onites* esansiyel yağının güçlü antimikrobiyal etki gösterdiğini bulmuşlardır. Evrendilek (2015), 14 bitki türünden elde edilen esansiyel yağların içinde antimikrobiyal aktivite yönünden en etkilisinin *O. onites* esansiyel yağı olduğunu tespit etmiştir. Tüm bu çalışmaların sonuçları çalışmamızdaki kekik esansiyel yağı için elde edilen sonuçlar ile paralellik göstermektedir.

R. officinalis yağı, çalışmamızda test ettiğimiz bakteriler üzerinde orta düzey bir aktivite göstermiş olup, *O. onites* esansiyel yağı kadar etkili olamamıştır. Literatürde bizim sonuçlarımızı destekleyen çalışmalar bulunmaktadır. *R. officinalis* esansiyel yağı *Cinnamon zeylanicum*, *Syzygium aromaticum* yağları ile karşılaştırıldığında *E.*

coli, *S. aureus* ve *L. monocytogenes*'e karşı zayıf inhibitör etki gösterdiği tespit edilmiştir (Lopez, 2005). *Laurus nobilis*, *Salvia officinalis*, *Rosmarinus officinalis*, *Origanum vulgare*, *Coriandrum sativum* esansiyel yağlarının antimikrobiyal etkilerinin araştırıldığı başka bir çalışmada da en etkili esansiyel yağın kekiğe ait olduğu bulunmuştur (Baratta, 1998).

Diğer iki bitki ile karşılaştırılırsa şeker otunun yağı en düşük aktivite gösteren esansiyel yağ olarak tespit edilmiştir. *Stevia* esansiyel yağı test ettiğimiz Gram (-) bakteriler üzerinde hiçbir aktivite gösterememiştir. Gram (+) bakteriler olan *S. aureus* ve *E. faecalis*'e karşı da düşük bir aktivite göstermiştir. *S. rebaudiana* esansiyel yağının antimikrobiyal aktivitesinin çalışıldığı çok fazla çalışmaya rastlanmamakla birlikte daha çok ekstrakt çalışmaları mevcuttur. Muanda ve ark. (2011) *S. rebaudiana*'nın yapraklarından elde ettikleri ekstrakt ve esansiyel yağın bakteriler üzerinde inhibe edici etkisi olduğunu göstermişlerdir. *S. rebaudiana*'nın su, metanol, etil asetat ve hekzan ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesinin çalışıldığı başka bir araştırmada su ekstraktı hariç diğer üç ekstraktın antimikrobiyal aktivite gösterdiğini saptamışlardır (Tadhani ve Subhash, 2006).

Çalışmamızda *P. aeruginosa* en dirençli bakteri olarak tespit edilmiştir. Bu bakteriye

karşı biberiye ve şeker otu etkili olmazken kekik esansiyel yağı da en düşük aktiviteyi göstermiştir. Aynı şekilde *P. aeruginosa*'ya karşı esansiyel yağın etkisiz kaldığı birçok çalışma rapor edilmektedir. Bunun nedeninin *P. aeruginosa*'nın yağa karşı asıl destek sağlayan yapısının dış membranı olduğu düşünülmektedir (Mann ve ark., 2000).

Sonuç

Bu çalışmada; elde edilen verilere göre kekik tüm bakteriler üzerinde antimikrobiyal etki gösterirken, biberiyenin *P. aeruginosa* bakterisi üzerinde hiçbir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Şeker otu bu açıdan değerlendirildiğinde ise; sadece *S. aureus*, *E. faecalis* olmak üzere iki bakteri üzerinde etki göstermiştir. En fazla antimikrobiyal aktivite *O. onites* ve *R. officinalis* yağlarında görülürken, en az antimikrobiyal aktivite ise *S. rebaudiana* yağında görülmüştür.

Kaynaklar

- Argueta, V.A. and Cano, A.L. 1993. El Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. La Investigación Científica de la Herbolaria Medicinal Mexicana, Secretaria de Salud. México, DF, 103–113.
- Arıdoğan B.C, Baydar H, Kaya, S, Demirci, M, Özbaşar, D and Mumcu, E. 2002. Antimicrobial Activity and Chemical Composition of Some Essential Oils. Arch Pharm Res. 25(6): 860-864.
- Aysel, M.B. 2008. Biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) ve Kekik (*Origanum onites* L.) Bitkilerindeki Antioksidan Aktivite Potansiyellerinin Araştırılması. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, sayfa: 16.
- Anonim 2011. How to Grow Stevia? <http://forums.gardenweb.com/forums/load/herbs/msg0511133820507.html> (Erişim tarihi: 21.09.2011).
- Baratta, M.T., Dorman, H.J.D., Deans, S.G., Biondi, D.M. and Ruberto G. 1998. Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidative Activity of Laurel, Sage, Rosemary, Oregano and Coriander Essential Oils. Journal Essential Oil Research, 10, 618-627
- Baydar, H., Sağdıç, O., Özkan, G. and Karadoğan, T. 2004. Antibacterial Activity and Composition of Essential Oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with Commercial Importance in Turkey. Food Control, 15: 169-172.
- Bayrak, A. 2006. Gıda Aromaları. Gıda Teknolojisi Dernegi, 268-273, Ankara.
- Ceylan, A. 1983. Tıbbi Bitkiler-II. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayını No:481, Bornova-İzmir.
- CLSI (Clinical Laboratory Standarts Institute) 2006. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test. Approved Standard (9th edn). Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, M2-A9.
- Cerda-García-Rojas, C.M. and Pereda-Miranda, R. 2002. The Phytochemistry of *Stevia*: a General Survey. In: Kinghorn, D. (Ed.), The Genus *Stevia*. Taylor & Francis, New York, pp. 86–118.
- Carneiro, J.W.P., Muniz, A.S. and Guedes, T.A. 1997. Greenhouse Bedding Plant Production of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. Canadian Journal of Plant Science, 77: 473-474.
- Cingi, M.I., Kirimer, N., Sarikardasoglu, I., Cingi, C. ve Baser, K.H.C. 1991. Orianum onites ve O. Minutiflorum Uçucu Yağının Farmakolojik Etkileri, IX Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, Eskişehir.
- Daouk, R.K., Dagher, S.M., Sattout, E.J. 1995. Antifungal Activity of The Essential oil of *Origanum syriacum* L. Journal of Food Protection, 58, 1147–1149.
- Esen, G., Azaz, A.D., Kurkcuoglu, M., Baser, K.H.C., Tinnaz, A., 2007. Essential Oil and Antimicrobial Activity of Wild and Cultivated *Origanum vulgare* L. subsp. hirtum (Link) Letswaart from the Marmara Region, Turkey. Flavour and Fragrance Journal 22, 371–376.

- Evrendilek, G.A. 2015. Empirical Prediction and Validation of Antibacterial Inhibitory Effects of Various Plant Essential Oils on Common Pathogenic Bacteria. *International Journal of Food Microbiology*. 202: 35–41.
- Farag, R.S., Daw, Z.Y., Hewedi, F.M., El-Baroty, G.S.A. 1989. Antimicrobial Activity of Some Egyptian Spice Essential Oils. *Journal of Food Protection*, 9: 610-677.
- Fronza, D. and Folegatti, M.V., 2003. Water Consumption of The Stevia (*Stevia rebaudiana* [Bert.] Bertoni) Crop Estimated Through Micro-lysimeter. *Scientia Agricola*, 60:1-5.
- Komissarenko, N.F., Derkach, A.I., Kovalyov, I.P. and Bublik N.P. 1994. Diterpene Glycosides and Phenylpropanoids of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Rast Res*, 1(2):53-64.
- Kunyanga, C.N., Imungi, J.K., Okoth, M.W., Biesalski H.K., Vadivel V. 2012. Total Phenolic Content, Antioxidant and Antidiabetic Properties of Methanolic Extract of Raw and Traditionally Processed Kenyan Indigenous Food Ingredients. *LWT - Food Science and Technology* 45: 269-276.
- Kırpık, M. 2005. Çukurova Bölgesi Kıraç Ve Taban Arazi Kosullarında Yetistirilen Biberiye (*Rosmarinus Officinalis* L.) Çesitlerinin Verim Ve Kalitesi Üzerine Arastirmalar Doktora Tezi, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı Adana.
- Kılıç, A. 2008. Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri, Bartın Orman Fakültesi Dergisi, cilt:10, sayı:13, 37-45.
- Köse, E.O, Öngüt, G., Yanikoglu, A. 2013. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil of Endemic *Origanum bilgeri* P. H. Davis for Turkey. *TEOP* 16 (2): 233 – 242.
- Lemos, M.F., Lemos, MF., Pacheco, H.P., Endringer, D.C. and Scherer, R. 2015. Seasonality Modifies Rosemary's Composition and Biological Activity. *Industrial Crops and Products*, 70,41-47.
- Lopez, P., Sanchez, C., Batlle, R. and Nerin C. 2005. Solid- and Vapor-Phase Antimicrobial Activities of Six Essential Oils: Susceptibility of Selected Foodborne Bacterial and Fungal Strains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 6939-6946.
- Mann, C.M., Cox, S.D. and Markham, J.L. 2000. The Outer Membrane of *Pseudomonas Aeruginosa* NCTC 6749 Contributes to Its Tolerance to The Essential Oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Letters in Applied Microbiology*, 30: 294-297.
- Muanda, F.N., Soulimani, R., Diop B., Dicko A. 2011. Study on Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oil and Extracts from *Stevia rebaudiana* Bertoni Leaves. *LWT - Food Science and Technology*. 44, 1865-1872.
- Nychas G.J.E. 1995. *New Methods of Food Preservation (Natural Antimicrobials from Plants)*. Ed. Gould G.W. Publisher: Springer US Copyright: Holder Chapman & Hall, pp 58-89.
- Okawa, M., Kinjo, J., Nohara, T. and Masateru, O. 2001. DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) Radical Scavenging Activity of Xavonoids Obtained from Some Medicinal Plants. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 24: 1202-1205.
- Ozel, M.Z. and Kaymaz, H., 2004. Superheated Water Extraction, Steam Distillation and Soxhlet Extraction of Essential Oils of *Origanum onites*. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 379: 1127–1133.
- Oluwatuyi, M., Kaatz, G.W., and Gibbons, S. 2004. Antibacterial and Resistance Modifying Activity of *Rosmarinus Officinalis*. *Phytochemistry*, 65, 3249–3254.
- Olmedo, R.H., Nepote, V., Grosso, N.R., 2013. Preservation of Sensory and Chemical Properties in Flavoured Cheese Prepared with Cream Cheese Base Using Oregano and Rosemary Essential Oils. *LWT – Food Sci. Tech.* 53, 409–417.

- Sari, M., Biondi, D.M., Kaabeche, M., Mandalari, G., Darrigo, M., Bisignano, G., Saija, A., Daquino, C. and Ruberto, G. 2006. Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of The Essential Oil of Several Populations of Algerian *Origanum glandulosum* Desf. *Flavour and Fragrance Journal* 21: 890-898.
- Singh, S.D. and Rao, G.P. 2005. Stevia: The Herbal Sugar of 21 st Century. *Sugar Technologies*, 7(1) (2005) : 17-24.
- Simon, J.E., Chadwick A.F. and Craker, L.E. 1984. Herbs: An Indexed Bibliography.1971-1980. The Scientific Literature on Selected Herbs, and Aromatic and Medicinal Plants of the Temperate Zone. Archon Books, 770 pp., Hamden, CT.
- Sokovic, M., Tzakou, O., Pitarakoli, D., Couladis, M., 2002. Antifungal Activities of Selected Aromatic Plants Growing Wild in Greece. *Nahrung/Food* 46 (5), 317–320.
- Tadhani M.B. and Subhash R. 2006. In Vitro Antimicrobial Activity of Stevia Rebaudiana Bertoni Leaves. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 5 (1): 557-560.
- Yeomans, M.R., 1996. Palatability and The Micro-Structure of Feeding in Humans: The Appetizer Effect. *Appetite*, 27(2): 119–33.