

Araştırma Makalesi (Research Article)

Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg., 2023, 60 (2):317-329
<https://doi.org/10.20289/zfdergi.1232824>

Kadir ERTEN^{1*} 

Levend COŞKUNTUNA¹ 

Fisun KOÇ¹ 

¹ Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, 59000, Süleymanpaşa, Tekirdağ, Türkiye

* Sorumlu yazar (Corresponding author):

kerten@nku.edu.tr

Toplam karışım rasyonuna bitki ekstraktları katkısının *in vitro* gaz üretim parametreleri üzerine etkisi

Effect of plant extracts addition to total mixed ration on *in vitro* gas production parameters

Received (Alınış): 12.01.2023

Accepted (Kabul Tarihi): 12.05.2023

Öz

Amaç: Bu çalışmada, toplam karışım rasyonuna %0.25 ve %0.50 oranlarında adaçayı (*Salvia officinalis*), ıhlamur (*Tilia tomentosa*) ve meyan kökü (*Glycyrrhiza glabra*) ekstrakt ilavesinin *in vitro* gaz üretim parametreleri üzerine etkisi araştırılmıştır.

Materyal ve Yöntem: Denemenin yem materyalini günlük 35 kg süt veriminde sahip sağmal ineklerin besin madde gereksinimini karşılamak üzere oluşturulan toplam karışım rasyonu oluşturulmuştur. Yem materyaline %0.25 ve %0.50 oranlarında adaçayı, ıhlamur ve meyan kökü ekstraktları ilave edilerek *in vitro* gaz üretim miktarı belirlenmiş ve organik madde sindirimi, metabolik enerji, net enerji laktasyon değerleri hesaplanmıştır.

Araştırma Bulguları: İnkübasyonun 24. saatinde oluşan *in vitro* gaz üretimi en yüksek %0.25 adaçayı katkılı grupta tespit edilmiştir. %0.25 oranında adaçayı ve ıhlamur ekstraktı ilave edilmesi sindirebilirliği, metabolik enerji ve net enerji laktasyon değerlerini artırmıştır. Toplam karışım rasyonuna %0.25 ve %0.50 oranlarında adaçayı ekstraktı katkısı metan miktarını düşürürken, karbondioksit miktarını artırmıştır. Meyan kökü ekstraktının olumsuz bir etkisi bulunmamıştır.

Sonuç: Rasyona adaçayı ekstraktı katılmasının, ruminant hayvanlarda metan oluşumundan kaynaklanan enerji kaybının önüne geçilmesi ve sera gazı emisyonu azaltmak için olumlu etki göstereceği sonucuna varılmıştır.

ABSTRACT

Objective: In this study, the effect of adding 0.25% and 0.50% sage (*Salvia officinalis*), linden (*Tilia tomentosa*), and licorice (*Glycyrrhiza glabra*) extracts to the total mixture ration on *in vitro* gas production parameters was investigated.

Material and Methods: The feed material of the experiment was the total mixture ration, which was formed to meet the nutrient requirement of dairy cows with a daily milk yield of 35 kg. By adding 0.25% and 0.50% sage, linden, and licorice extracts to the feed material, *in vitro* gas production value was determined and organic matter digestion, metabolic energy, net energy lactation values were calculated.

Results: The highest *in vitro* gas production at the 24th hour of incubation was detected in the group with 0.25% sage added. The addition of 0.25% sage and linden extract increased the digestibility, metabolic energy and net energy lactation values. The addition of 0.25% and 0.50% sage extract to the total mixture ration decreased the amount of methane and increased the amount of carbon dioxide. No adverse effects were found with licorice extract.

Conclusion: Adding that adding sage extract to the ration would have a positive effect on preventing energy loss caused by methane formation and greenhouse gas emission in ruminant animals.

Anahtar sözcükler: Adaçayı, ıhlamur, *in vitro* gaz üretimi, meyan kökü, rumen gazlar

Keywords: Sage, linden, *in vitro* gas production, licorice, rumen gases

GİRİŞ

Günümüzde esansiyel yağ bileşenleri antimikrobiyal, antifungal, antioksidatif aktivitelerinden dolayı gıda ve yemlerin saklanması, dayanıklılığının artırılmasında doğal antimikrobiallerin kaynağı olarak büyük ilgi görmektedirler (Ultee et al., 2000; Periago & Moezelaar, 2001; Uçan, 2008; Erten et al., 2022). Doğal antimikrobiyal bileşiklerin gıda ve yemlerin dayanıklılığının artırılmasında kullanılmasının dışında bitki, hayvan ve insan hastalıklarının kontrolünde de eski zamanlardan beri var olan bir uygulamadır (Tundis et al., 2017). Bitkisel ekstraktların antimikrobiyal aktivitelerin araştırmaları; bitkilerin, yeni anti-enfektif maddelerin potansiyel bir kaynağı olmadıklarını (Uçan, 2008), bununla birlikte asıl öncü bileşimler doğal ürünlerden ilaçların ortaya çıkarılmalarına yardımcı olduklarını göstermektedir (Lawrence, 1999; Ojala et al., 2000).

Çiftlik hayvanlarında antibiyotik kullanımı, 2006 yılından itibaren Avrupa Birliği ülkelerinde ve Türkiye’de kısıtlanması ile birlikte, antibiyotiğe alternatif olacak ürünlerin arayışı içine girilmiştir. Tıbbi ve aromatik bitkiler bu arayış içinde en doğal olan materyallerdir (Alçıçek et al., 2003; Erdoğan et al., 2010). Hayvan beslemede kekik, nane, biberiye, tarçın, karanfil ve kimyon gibi yaygın olarak kullanılan tıbbi ve aromatik bitkiler hayvanlar üzerinde antienflamatuar, antimikrobiyal, antioksidan, antiseptik ve sindirim uyarıcı gibi etkiler göstermektedir (Kaya & Turgut, 2012; Soycan Önenç & Turgud, 2019).

Öte yandan, sürdürülebilir hayvansal üretim için çevre ayak izini azaltacak besleme stratejilerinde geliştirilmesi gereklidir (Kırkpınar & Atan, 2022). Modern hayvancılık, rasyon hazırlanırken hayvanların besin madde ihtiyaçlarını karşılamak ve ekonomik bir karma yem oluşturma amacı ile sınırlı kalmayıp, aynı zamanda çevre ayak izini de korumaya yönelmiştir (Mackenzie et al., 2016; Garcia-Launay et al., 2018; Meriç & Koç, 2021).

Tıbbi ve aromatik bitkilerin sağlık üzerine koruyuculuğu yanında aynı zamanda metanojenleri engelleyici etmenleri de vardır (Agarwal et al., 2009). Metanojenik arkealar, rumende besin madde parçalanmaları ile açığa çıkan H²’yi enerji kaynağı olarak kullanarak metan üretirler (Beauchemin et al., 2020). Üretilen metan erüktasyonla atmosfere salınmaktadır. Bu kayıp brüt enerji gereksiniminin 1/3’ünü oluşturur. Bu durum hem ekonomik hem de ekolojik zarara neden olmaktadır (Aksoy et al., 2000).

Türkiye’de yaygın olarak bulunan ve üretilen Adaçayı (*Salvia officinalis*), ihlamur (*Tilia tomentosa*) ve meyan (*Glycyrrhiza glabra*) bitkileri, çeşitli sektörlerde kullanılması ile ticari öneme sahip tıbbi ve aromatik bitkilerdir (Baydar, 2005). Adaçayı özellikle antienflamatuar, antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerine sahip olması ile birlikte yaygın olarak kullanılan tıbbi ve aromatik bitkidir. Terapötik özelliği ile çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Şahin-Nadeem et al., 2013). Antioksidan etkiye sahip olan adaçayının yapısındaki en önemli fenolik bileşenler karnosik asit, karnosol ve rosmanolur (Luu & Foo, 2001). Adaçayı uçucu yağları, %1.0 ile %3.8 arasında değişmektedir. Uçucu yağdaki ana bileşen 1,8-cineole olup, bunu camphor, thujone, ve β -caryophyllene izlemektedir (Papageorgiou et al., 2008; Aşkun et al., 2010).

Ihlamur, toksik önleyici ve antioksidan içeriğinin yüksek olması ile birlikte yine yaygın olarak kullanılan tıbbi ve aromatik bir bitkidir (Peev et al., 2009). Ihlamur bitkisi bünyesinde, müsilaj (%6.5 *T. plathyphyllos*, %6.2 *T. rubra*, %7.2 *T. tomentosa*), flavonlar, %0.5 oranında uçucu yağ, %2 civarında tanen ve lökoantosiyanidin taşımaktadır. Özellikle uçucu yağ içeriğinde bulunan parnesol maddesi, ihlamurun antimetabolik bozukluk, antienflamatuar, antioksidan ve antibiyotik etkileri göstermesini sağlamaktadır (Toker et al., 2001).

Meyan bitkisi, M.Ö 500 yılından beri tıbbi amaçlı olarak kullanılıp, “bitkilerin büyükbabası” olarak tanımlanmaktadır (Ody, 1993). Meyan kökü yaklaşık 300 farklı flavonoid içeriğine sahiptir. Bunlar arasında, glisirizin, licochalconeA, liquiritigenin, 18 β - glisiretinik asit ve glabridin ana aktif bileşenleridir (Wang et al., 2015). Kuru maddede %4-20 oranında bulunan glisirizin sakkarozdan 50 kat daha tatlıdır. Antienflamatuar, antiviral, antialerjik, antioksidan ve gastrosistem koruyucu olarak tanımlanır (Yang et al., 2013). Meyan kökünde bulunan flavonoidlerinin içerdiği antioksidan aktivitesi, E vitamininin içerdiği antioksidan

aktivitesinden 100 kat daha güçlü olup, bilinen en güçlü doğal antioksidanlar olarak bildirilmiştir (Visavadiya et al., 2009).

Tıbbi ve aromatik bitkiler antienflamatuar, antimikrobiyal ve antioksidan içerikleri nedeni ile yaygın olarak kullanılmakta (Elmas, 2021) ve hayvan beslemede kullanılması ile yemden yararlanmayı artırarak, hayvansal ürünlerin kalitesini iyileştirmektedir (Lee et al., 2003; Spornakova et al., 2007). Aynı zamanda, tıbbi ve aromatik bitki ekstraktlarının ruminant hayvanlar için metan üretimini azalttığı yönünde çalışmalar da mevcuttur (Agarwal et al., 2009; Canbolat, 2012; Curabay et al., 2020).

Bu çalışmada, toplam karışım rasyonuna (TKR) farklı oranlarda adaçayı, ıhlamur ve meyan kökü ekstrakt ilavesinin *in vitro* gaz üretim parametreleri üzerine etkileri belirlenmiştir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Yem materyali

Denemenin yem materyalini oluşturan TKR Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Eğitim Araştırma ve Uygulama Çiftliğinden temin edilmiştir. TKR, 35 kg/gün süt verimine sahip sağmal ineklerin besin madde gereksinimini NRC (2001) karşılamak üzere hazırlanmıştır (Çizelge 1).

Çizelge 1. Toplam karışım rasyonunun (TKR) içeriği ve kompozisyonu

Table 1. Content and composition of the total mixed ration (TMR)

İçerik	% KM
Mısır silajı	24.11
Yüksek nemli dane mısır	18.06
Mısır DDGS	5.36
Arpa	3.37
Ayçiçeği küspesi	1.50
Yonca kuru otu	14.03
Kanola küspesi	5.03
Şeker pancarı posası	0.57
Saman	2.27
Ham dane ayçiçek	0.92
Soya kabuğu	0.93
Çiğit	5.89
Pirinç kepeği	3.68
Razmol	2.43
Melas	0.89
Portakal posası	3.49
Masarasyon suyu	5.12
Mermer tozu	0.62
Vitamin ve mineral premiksi	0.42
Ecomass	0.42
Tamponlayıcı	0.30
Tuz	0.21
Potasyum karbonat	0.20
Omnigen af	0.14
Toksin bağlayıcı	0.04

Bitkisel materyal ve bitki ekstraktların hazırlanması

Denemede kullanılan adaçayı (A), ıhlamur (I) ve meyan kökü (M) Türkiye sınırları içerisinde, doğadan mevsiminde toplanmış ve kurutulmuştur. Bitki ekstraktları Salem (2012)'in bildirdiği yöntemle göre hazırlanmıştır; 10 g bitki materyali 100 ml %10'luk metanol+etanol çözeltisiyle (80 ml saf su, 10 ml

metanol, 10 ml etanol) 3 gün boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir. Elde edilen ham ekstraktlar, süzülüp kullanım zamanına kadar buzdolabında koyu renkli ve sıkıca kapatılmış şişelerde muhafaza edilmiştir.

Bitki ekstraktların fenolik içeriklerinin belirlenmesi

Bitki ekstraktları, likid kromatografi-kütle/kütle spektrometresi (LC-MS/MS) kullanılarak üçlü kuadrupol performansı ile analiz edilmiştir. Analiz işleminde standart bileşikler 5-100 ng/ml konsantrasyonları arasında 5 noktada hazırlanmış ve kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Analiz sonucunda elde edilen piklerin alanı eklenen standardın numunedeki konsantrasyonuna karşı grafiğe geçirilmiştir. Asidik Hidroliz Yöntem'in kullanıldığı çalışmada, 100 µl. numune üzerine 2 M HCl çözeltisinden 200 µl. ilave edilmiş ve 30 sn. vortekslenmiştir. 90 °C'de ultrasonik banyoda 40 dk. Bekletildikten sonra 700 µl. ekstraksiyon solüsyonu (%79 ultra saf su + %20 metanol + %1 formik asit) ilave edilmiştir. Numuneler 9000 rpm'de 5 dk. santrifüj edilmiş ve enjeksiyon için berrak süzüntü cam viallere alınmıştır. Fenolik bileşiklerin analizleri, Agilent 1260 infinity likit kromatografi, Agilent 6460 Triple Quadrupole MS/MS Sistem (Jet Stream Electrospray iyon kaynağı) ile gerçekleştirilmiştir (Kelebek et al., 2018).

Kimyasal analizler

Toplam rasyon karışımının kuru madde (KM), ham protein (HP), ham yağ (HY), ham kül (HK), ham selüloz (HS) ve nişasta analizleri AOAC (2005)'da bildirilen yönteme göre yapılmıştır. Hücre duvarı bileşenlerini oluşturan nötral çözücülerde çözünmeyen lif (NDF) ve asit çözücülerde çözünmeyen lif (ADF) içerikleri ise Van Soest et al. (1991) tarafından bildirilen yönteme göre yapılmıştır. Metabolik enerji (ME) değeri Carpenter & Clegg, (1956)'ın bildirdiği formüle göre hesaplanmıştır (Metabolik enerji hesaplanmasında kullanılan HP, HY ve HS değerleri "g/kg, OM" üzerinden alınmıştır). Azotsuz öz madde (NÖM) değeri ise aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ NÖM} = \% \text{ KM} - (\% \text{ HK} + \% \text{ HP} + \% \text{ HY} + \% \text{ HS})$$

$$\text{ME (kcal/kg, OM)} = 3260 + 0.455 \times \text{HP} + 3.517 \times \text{HY} - 4.037 \times \text{HS}$$

In vitro gaz üretim parametrelerinin belirlenmesi

In vitro gaz üretim değerlerinin belirlenmesinde, Menke & Steingass (1988) tarafından bildirilen Gaz Üretim Tekniği kullanılmıştır. Rumen sıvısı, 2 yaşındaki Holstein ırkı sığırdan kesim sırasında alınmış, yaklaşık 30 dakikada termo-kaplar içerisinde laboratuvara ulaştırılmıştır. Taze rumen içerikleri laboratuvarında karıştırıldıktan sonra 3 katlı steril gazlı bezden süzülerek sıvı ve katı fraksiyonlarına ayrılmış ve analiz için uygun duruma getirilmiştir. Daha sonra, 100 ml hacimli cam enjektörlere 200 mg yem örneği + %0.25 ve %0.50 oranlarında bitki ekstrakt konulmuş, üzerine 30 ml rumen sıvısı/tampon çözelti (½) eklenmiştir. Cam enjektörler inkübasyon dolabında 39 °C'de 48 saat bekletilmiş ve 3, 6, 12, 24 ve 48. saatlerdeki oluşan gaz değerleri ölçülmüştür. Elde edilen veriler sonucunda *in vitro* organik madde sindirimi (OMS), metabolik enerji (ME) ve net enerji laktasyon (NE_L) değerleri hesaplanmıştır. İnkübasyonun 24. saatinde oluşan gaz enjektör yardımı ile alınarak metan (CH₄), karbondioksit (CO₂), amonyak (NH₃), ve hidrojen sülfür (H₂S) gazlarının değerleri MX6 İBRİD Multi-Gaz dedektörü ile ölçülmüştür. Rumen sıvısının pH değeri, dijital pH metre cihazı (WTW Inolab pH 730, marka, USA) ile inkübasyonun 48. saatinde ölçülmüştür.

$$\text{ME (MJ/kg, KM)} = 2.20 + 0.136 \times \text{GÜ} + 0.0057 \times \text{HP} + 0.00029 \times \text{HY}^2$$

$$\text{NE}_L \text{ (MJ/kg, KM)} = 0.101 \times \text{GÜ} + 0.051 \times \text{HP} + 0.112 \times \text{HY}$$

$$\text{OMS (\%)} = 14.88 + 0.889 \times \text{GÜ} + 0.45 \times \text{HP} + 0.0651 \times \text{HK}$$

Burada, GÜ: 24 saatte üretilen gaz üretim miktarı (ml); HP: yem örneklerindeki ham protein (g/kg KM); HY: yem örneklerindeki ham yağ (g/kg KM); HK: yem örneklerindeki ham kül içeriği (g/kg KM)'dir.

İstatistiksel analizler

Çalışma 4 x 3 x 3 deneme desenine göre planlanmıştır. Elde edilen verilerin istatistik analizleri SPSS 22 paket programı kullanılmıştır. Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde, gruplar arası farklılığın belirlenmesinde tek yönlü varyans analizi, grup etkilerinin karşılaştırılmasında ise Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır (Soysal, 2000). Araştırma verilerinin istatistiksel değerlendirilmesinde aşağıdaki modelleme kullanılmıştır.

$$Y_{ijk} = \mu + S_i + K_j + (SK)_{ij} + e_{ijk}$$

Y_{ijk} : i. doz, j. katkı maddesine göre gözlem değeri

μ : Populasyon ortalaması

S_i : i. Dozun etkisi

K_j : j. Katkı maddesinin etkisi

$(SK)_{ij}$: Doz x Katkı maddesinin etkisi

e_{ijk} : Hata

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

TKR'nın besin madde bileşimine ilişkin bulgular

Araştırmada kullanılan TKR'nın kimyasal kompozisyonu Çizelge 2'de verilmiştir. Yem materyalinin besin madde içeriği göz önünde bulundurulduğunda; %55.88 KM değerine sahip TKR, %7.27 HK, %17.00 HP, %15.27 HS, %3.86 HY, %55.68 NÖM ve 2824.70 ME (kcal/kg, OM) içeriğine sahiptir. Hücre duvarı bileşenlerini oluşturan ADF ve NDF değerleri sırasıyla %20.16 ve %39.19 olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 2. Toplam karışım rasyonun (TKR) besin madde bileşimi, %KM

Table 2. Feed value of the total mixed ration (TMR), DM%

Parametreler	Değer
Kuru madde (DH)	55.88
Ham kül	7.27
Ham protein	17.00
Ham yağ	3.86
Ham selüloz	15.27
NÖM	55.68
Nişasta	23.99
NDF	39.19
ADF	20.16
ME	2824.70

DH: Doğal halde, NDF: Nötral çözücülerde çözünmeyen lif, ADF: Asit çözücülerde çözünmeyen lif, NÖM: Nitrojensiz öz madde, ME: Metabolik enerji (kcal/kg, OM).

Bitki ekstraktlarının fenolik bileşiklerine ilişkin bulgular

Araştırmada kullanılan adaçayı, ihlamur ve meyan kökü bitki ekstraktlarının fenolik bileşiklerin ilişkin analiz değerleri Çizelge 3'de verilmiştir.

En yüksek kafeik asit miktarı adaçayı ekstraktında (2.44 mg/lt) görülmüştür. Kafeik asit, antioksidan kapasitesi yüksek fenoliklerden biridir. Serbest radikallerin oluşumunu engellemesini; başka bir molekülle birlikte zincir reaksiyonlarını inhibe ederek ya da metallerle kompleksler oluşturduktan sonra peroksitlerin ayrışmasını inhibe ederek gerçekleştirir (Espíndola et al., 2019). Yine adaçayı ekstraktında yüksek bulunan ferulik asit (5.88 g/lt), iyi bir serbest radikal yakalama mekanizmasına sahip fenolik bileşiktir (Zhao & Moghadasian, 2008).

Çizelge 3. Adaçayı, ıhlamur ve meyan kökü ekstraktlarının fenolik bileşikleri (mg/lt)**Table 3.** Phenolic compounds of sage, linden, and licorice extracts (mg/lt)

Fenolik Bileşikler	A	I	M
Kafeik asit	2.44	1.06	0.88
Gallik asit	0.63	48.05	3.73
p-Kumarik asit	1.66	1.96	9.22
Protokateşik asit	0.42	77.28	11.56
Kuersetin	0.51	14.02	2.11
Trans-Ferulik asit	5.88	0.22	0.43

A: Adaçayı, I: Ihlamur, M: Meyan kökü.

En yüksek gallik asit miktarı ıhlamur ekstraktında (48.05 g/lt) görülmüştür. Gallik asit; antibakteriyel, antiviral, antienflamatuar, antioksidan ve serbest radikal süpürücü olarak güçlü bir fenolik bileşiktir (Asfaram et al., 2017; Dos Santos et al., 2018; You et al., 2018; Zhang et al., 2018).

En yüksek kumarik asit miktarı meyan kökü ekstraktında (9.22 g/lt) görülmüştür. Kumarik asit, lipit peroksidasyonu ve hidrojen peroksit temizleme aktivitesi yüksek, antienflamatuar etkiye sahip bir fenoliktir (Hole et al., 2009).

Ihlamur ekstraktında yüksek miktarda bulunun protokateşik asit (77.28 mg/lt), antibakteriyel, antioksidan, antiviral, antienflamatuar özelliklere sahip fenolik bileşiktir (Wei et al., 2013). Yine ıhlamur ekstraktında yüksek miktarda bulunan kuersetin; antioksidan ve antienflamatuar etkiye sahip olduğu ve serbest radikallerin temizlenmesini sağladığı bildirilmiştir (Nijveldt et al., 2001).

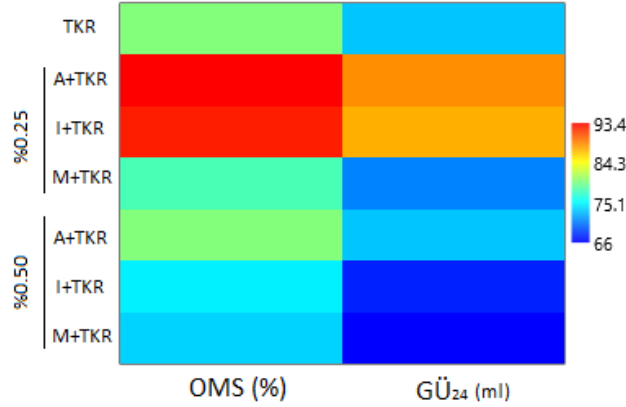
Bitki ekstrakt ve dozlarının *in vitro* gaz üretimi, OMS, ME ve NE_L değerleri üzerine etkisi

TKR ve bitki ekstraktlarının *in vitro* gaz üretim miktarlarına ilişkin analiz sonuçları Çizelge 4 ve Şekil 1'de verilmiştir.

Çizelge 4. TKR ve bitki ekstraktlarının *in vitro* gaz üretim miktarları (ml)**Table 4.** *In vitro* gas production amounts of TMR and plant extracts (ml)

Doz (%)	Katkı	Saat					pH
		3	6	12	24	48	
0.25	A	2.00	3.00	3.50	4.00	6.00	6.87
	I	2.00	3.00	3.50	4.00	5.00	6.91
	M	2.00	3.00	4.00	7.07	9.00	6.92
0.50	A	1.00	2.00	2.50	3.00	11.42	6.88
	I	4.00	4.50	6.00	9.42	9.07	6.96
	M	2.00	3.00	4.00	6.50	8.50	6.91
0	Kontrol	7.00 ^b	16.00 ^{ab}	28.00 ^{ab}	73.03 ^b	77.04 ^{bc}	6.86 ^a
0.25	TKR + A	11.50 ^a	20.50 ^a	32.50 ^a	88.35 ^a	96.35 ^a	6.87 ^a
	TKR + I	10.00 ^{ab}	16.00 ^{ab}	27.00 ^{ab}	87.17 ^a	92.17 ^{ab}	6.85 ^{ab}
	TKR + M	9.00 ^{ab}	15.00 ^{ab}	28.00 ^{ab}	70.68 ^b	76.18 ^c	6.82 ^{bc}
0.50	TKR + A	9.00 ^{ab}	15.00 ^{ab}	27.00 ^{ab}	73.03 ^b	79.04 ^{bc}	6.84 ^{ab}
	TKR + I	6.50 ^b	13.50 ^b	25.50 ^b	67.14 ^b	73.15 ^c	6.85 ^{ab}
	TKR + M	7.00 ^b	13.00 ^b	26.00 ^b	65.96 ^b	70.48 ^c	6.81 ^c
	SEM	0.447	0.566	0.521	1.905	2.075	0.006
P							
Doz		0.003	0.020	0.018	0.000	0.000	0.006
Katkı		0.113	0.064	0.049	0.007	0.005	0.000
Doz*Katkı		0.501	0.258	0.150	0.022	0.031	0.006

^{a-c}: Aynı sütunda farklı harf içeren gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir. TKR: Toplam karışım rasyonu, A: Adaçayı, I: Ihlamur, M: Meyan kökü, SEM: Ortalamalarının standart hatası.



Şekil 1. TKR ve bitki ekstraktlarının *in vitro* gaz üretim₂₄ (ml) ve OMS (%) değerleri.

Figure 1. *In vitro* gas production₂₄ and OMD (%) values of TMR and plant extracts.

İnkübasyonun 48. saatine kadar en yüksek *in vitro* gaz üretim miktarları %0.25 TKR+A grubunda ölçülmüştür. İnkübasyonun 12. saatinde ekstraktlar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuş ($P<0.05$) ve bu önemlilik düzeyi inkübasyonun 24 ve 48. saatlerinde de tespit edilmiştir ($P<0.01$). İnkübasyon süresinin 24 ve 48. saatlerinde TKR'ya %0.25 oranında adaçayı ve ıhlamur ekstrakt katkısının oluşturduğu gaz üretim miktarı, %0.50 oranında katılan adaçayı ve ıhlamur ekstrakt katkılı gruplardan yüksek olmuş ve istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.001$). Bu konuda yapılan bir çalışmada, rasyona katılan adaçayı ekstraktının rumende propiyonat ve valerat oranını yükselttiği, asetat/propiyonat oranı ile bütirat miktarını da düşürdüğü tespit edilmiştir (Castillejos et al., 2008). Meyan kökü ekstraktının her iki dozu da, TKR'nın gaz üretim miktarını olumsuz etkilememiştir ($P>0.05$). Abarghuei & Salem (2021), yaptıkları bir çalışmada ise rasyona farklı oranlarda meyan yaprağı ve meyan posası katkısının *in vitro* gaz üretim ve toplam uçucu yağ asit (TUYA) miktarını düşürdüğü belirlenmiştir.

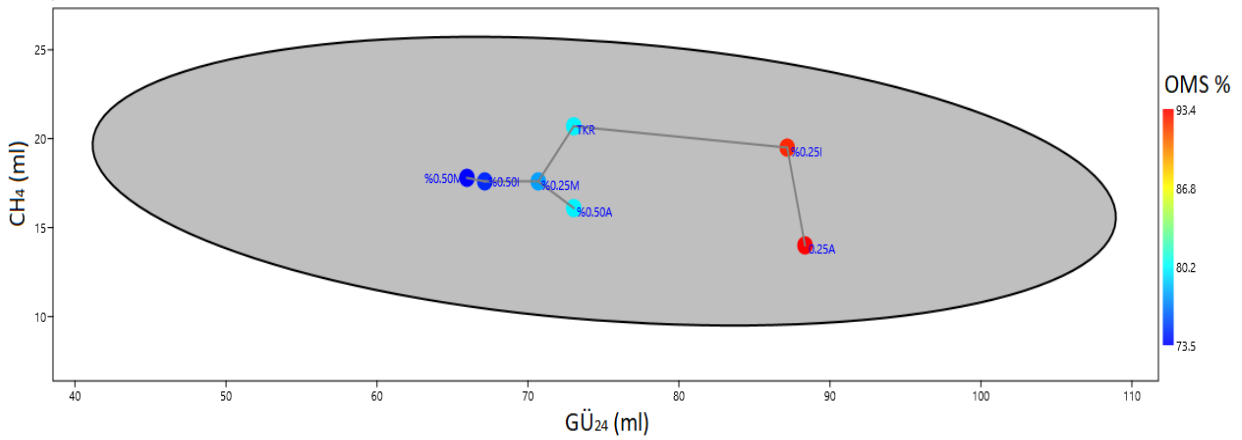
TKR ve bitki ekstraktlarının *in vitro* OMS, ME ve NE_L değerlerine ilişkin analiz sonuçları Çizelge 5, ve Şekil 2'de verilmiştir.

Çizelge 5. TKR ve bitki ekstraktlarının *in vitro* OMS, ME ve NE_L değerlerine ilişkin analiz sonuçları

Table 5. Analysis results of *in vitro* OMD, ME and NE_L values of TMR and plant extracts

Doz (%)	Katkı	OMS	ME	NE _L
0	Kontrol	79.83 ^b	12.13 ^b	8.03 ^{bc}
0.25	TKR + A	93.44 ^a	14.21 ^a	9.97 ^a
	TKR + I	92.40 ^a	14.05 ^a	9.60 ^{ab}
	TKR + M	77.73 ^b	11.81 ^b	7.76 ^c
0.50	TKR + A	79.83 ^b	12.13 ^b	8.48 ^{abc}
	TKR + I	74.59 ^b	11.33 ^b	7.35 ^c
	TKR + M	73.54 ^b	11.17 ^b	7.21 ^c
	SEM	1.694	0.259	0.227
		P		
Doz		0.000	0.000	0.001
Katkı		0.007	0.007	0.003
Doz*Katkı		0.022	0.022	0.019

^{a-c}: Aynı sütunda farklı harf içeren gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir. TKR: Toplam karışım rasyonu, A: Adaçayı, I: Ihlamur, M: Meyan kökü, OMS: Organik madde sindirilebilirlik (%), ME: Metabolik enerji (MJ/kg, KM), NE_L: Net enerji laktasyon (MJ/kg, KM), SEM: Standart ortalamalarının hatası.



Şekil 2. TKR ve bitki ekstraktlarının *in vitro* gaz üretimi₂₄ (ml), metan üretimi (ml) ve OMS (%) değerleri arasındaki ilişki.

Figure 2. The relationship between *in vitro* gas₂₄, methane production (ml) and OMD (%) values of TMR and plant extracts.

İnkübasyonun 48. saatinde ölçülen rumen sıvısının pH değerleri 6.81-6.96 arasında değişmiştir. En yüksek pH değeri (6.96) rumen sıvısına %0.50 oranında katılan ıhlamur grubunda görülürken, en düşük (6.81) %0.50 TKR+M grubunda tespit edilmiştir. %0.50 TKR+M grubu kontrole göre pH değerini düşürmüştü ve aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.001$). pH değerleri bakımından, %0.25 TKR+A grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak fark olmamıştır ($P > 0.05$).

Yemlerin OMS değerleri %73.54-93.44 arasında değişmiştir. En yüksek OMS değeri (%93.44) %0.25 adaçayı katkılı grupta görülürken, en düşük (%73.54) %0.50 meyan kökü katkılı grupta tespit edilmiştir. TKR'ya adaçayı ve ıhlamurun ilavesi, OMS değerini yükseltmiş ve meyan köküne göre daha yüksek tespit edilmiştir, bu yüzden katkı etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.01$). Dozun artması ile birlikte OMS değeri düşmüştür, bitki ekstraktlarında %0.25 katkısı %0.50 katkısına göre etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.001$).

Yemlerin ME değerleri 11.17-14.21 MJ/kg, KM arasında değişmiştir. En yüksek ME değeri (14.21 MJ/kg, KM) %0.25 adaçayı katkılı grupta görülürken, en düşük (11.27 MJ/kg, KM) %0.50 meyan kökü katkılı grupta tespit edilmiştir. Adaçayı ve ıhlamurun TKR'ya katılması, ME değerini artırmış ve meyan köküne göre değerler daha yüksek tespit edilmiştir, bu nedenle Doz x Katkı etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.01$). Dozun artması ile birlikte ME değeri düşmüştür, %0.25 katkısı %0.50 katkısına göre etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.001$). Ham besin maddeleri üzerinden formül ile hesaplanan TKR'nın ME değerinin, *in vitro* ME değerinden düşük çıkmasının sebebi ise, *in vitro* gaz üretimde kullanılan regrasyon eşitliğindeki farklılıktan kaynaklanmaktadır.

Yemlerin NE_L değerleri 7.21-9.97 (MJ/kg, KM) arasında değişmiştir. En yüksek NE_L değeri (9.97 MJ/kg, KM) %0.25 adaçayı katkılı grupta bulunurken, en düşük (7.21 MJ/kg, KM) %0.50 meyan kökü katkılı grupta tespit edilmiştir. Adaçayının TKR'ya katılması, NE_L değerini artırmıştır. Adaçayı ve ıhlamur ekstraktları meyan köküne göre fazla miktarda etki göstermektedir, bu etki istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.01$). Dozun artması özellikle ıhlamur grubunu olumsuz etkilemiş ve NE_L değerini düşürmüştür, bu olumsuz etki istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.001$).

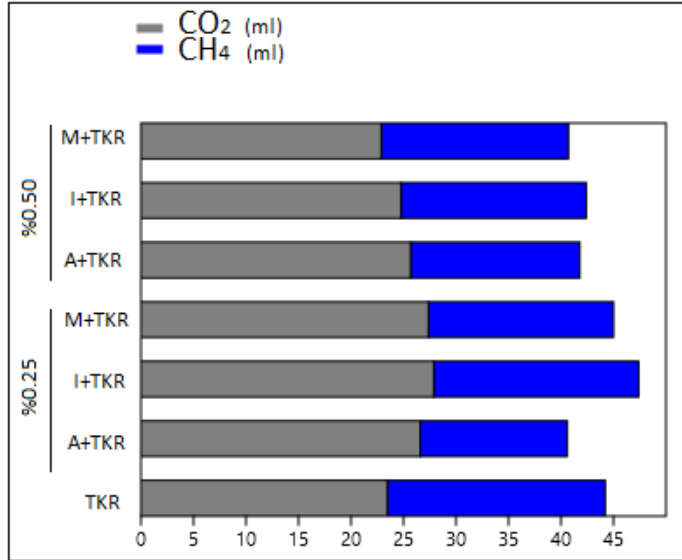
Bitki ekstrakt ve dozlarının rumen gaz parametreleri üzerine etkisi

TKR ve bitki ekstraktlarının rumen gaz parametreleri üzerine etkileri Çizelge 6, Şekil 2, Şekil 3 ve Şekil 4'te verilmiştir.

Çizelge 6. TKR ve bitki ekstraktlarının rumen gaz parametrelerine ilişkin analiz sonuçları**Table 6.** Analysis results of rumen gas parameters of TMR and plant extracts

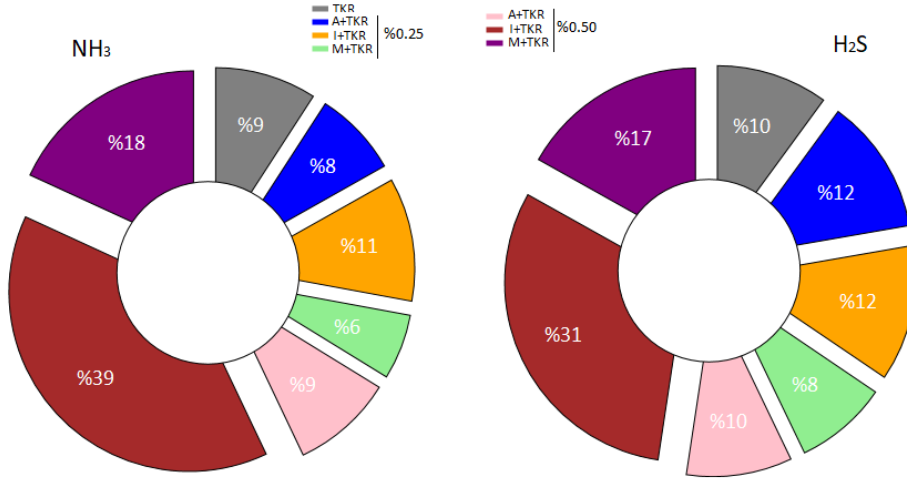
Doz (%)	Katkı	CH ₄	CO ₂	NH ₃	H ₂ S
0.25	A	0.49	7.98	2.60	48.80
	I	1.22	11.39	2.60	34.50
	M	1.32	12.48	3.00	40.00
0.50	A	0.52	7.85	2.60	22.80
	I	1.47	13.12	6.40	50.76
	M	1.09	9.83	2.60	29.56
0	Kontrol	20.70 ^a	23.55 ^{de}	64.40 ^c	697.66 ^b
0.25	TKR + A	14.00 ^c	26.60 ^{ab}	54.30 ^c	850.50 ^b
	TKR + I	19.50 ^{ab}	27.96 ^a	78.60 ^c	854.50 ^b
	TKR + M	17.60 ^{abc}	27.47 ^a	41.60 ^c	583.00 ^b
0.50	TKR + A	16.10 ^{bc}	25.70 ^{bc}	64.60 ^c	660.48 ^b
	TKR + I	17.60 ^{abc}	24.85 ^{cd}	275.40 ^a	2142.50 ^a
	TKR + M	17.80 ^{ab}	22.97 ^e	128.00 ^b	1173.80 ^b
	SEM	0.553	0.434	16.688	111.981
P					
Doz		0.000	0.000	0.000	0.000
Katkı		0.003	0.007	0.000	0.000
Doz*Katkı		0.016	0.000	0.000	0.000

^{a-e}: Aynı sütunda farklı harf içeren gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir. TKR: Toplam karışım rasyonu, A: Adaçayı, I: İhlamur, M: Meyan kökü, CH₄: Metan (ml), CO₂: Karbondioksit (ml), NH₃: Amonyak (ppm), H₂S: Hidrojen sülfür (ppm), SEM: Standart ortalamalarının hatası.

**Şekil 3.** TKR ve bitki ekstraktlarının CH₄ ve CO₂ değerleri (ml).**Figure 3.** CH₄ and CO₂ values of TMR and plant extracts (ml).

İnkübasyonun 24. saatinde oluşan CH₄ miktarları 0.49-20.70 ml arasında değişmiştir. En yüksek CH₄ miktarı (20.70 ml) kontrol grubunda görülürken, en düşük (0.49 ml) adaçayı ekstraktında görülmüştür.

TKR'ya eklen adaçayı ekstraktının her iki dozu da CH₄ miktarını düşürmüştür. %0.25 TKR+A katkısı, %0.25 TKR+I katkısına göre istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.01). Ayrıca 0.25 TKR+A katkısı %0.50 TKR+M katkısına göre CH₄ miktarını önemi derecede azaltmıştır (P<0.001).



Şekil 4. TKR ve bitki ekstraktlarının NH₃ ve H₂S değerleri (%).

Figure 4. NH₃ and H₂S values of TMR and plant extracts (%).

İnkübasyonun 24. saatinde oluşan CO₂ miktarları 7.85-27.96 ml arasında değişmiştir. En yüksek CO₂ miktarı (27.96 ml) %0.25 TKR+I katkılı grupta görülürken, en düşük (7.85 ml) %0.50 A grubunda görülmüştür. Kontrol grubuna göre TKR'ya %0.25 oranında adaçayı, ıhlamur ve meyan kökü ekstraktı eklenmesinin CO₂ miktarını artırdığı tespit edilmiştir (P<0.01). %0.50 oranındaki doz kullanımını %0.25 oranındaki doz kullanımına göre CO₂ miktarını istatistiksel olarak düşürmektedir (P<0.001). Bu konuda yapılan benzer bir çalışmada meyan yaprağı ve posasının CH₄, CO₂ ve NH₃-N miktarlarını düşürdüğü belirlenmiştir (Abarghuei & Salem, 2021).

İnkübasyonun 24. saatinde oluşan NH₃ miktarları 2.60-275.40 ppm arasında değişmiştir. Ekstraktlar arasında en yüksek NH₃ miktarı (6.40 ppm) %0.50 ıhlamur ekstraktında görülmüştür ve ıhlamur ve meyan kökü ekstraktlarının TKR'ya katılması ile NH₃ miktarı artmıştır. En yüksek NH₃ değeri %0.50 TKR+I katkılı grupta (275.40 ppm) tespit edilmiştir. Doz ve katkı interaksiyonları istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.001). Castillejos et al. (2008), yaptıkları benzer bir çalışmada adaçayı ekstraktının rumende NH₃ değerini artırdığını bildirmiştir.

İnkübasyonun 24. saatinde oluşan H₂S miktarları 22.80-2142.50 ppm arasında değişmiştir. Ekstraktlar arasında en yüksek H₂S miktarları (50.76 ppm) %0.50 ıhlamur ekstraktında, en düşük (22.80 ppm) %0.50 adaçayı ekstraktında görülmüştür. ıhlamur ve meyan kökü ekstraktlarının TKR'ya katılması ile H₂S miktarı yükselmiştir, en yüksek H₂S değeri (2142.50 ppm) %0.50 TKR+I katkılı grupta tespit edilmiştir. Doz ve katkı interaksiyonları istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.001).

İnkübasyon boyunca en yüksek gaz üretimi₂₄ (88.35 ml) %0.25 TKR+A grubunda, daha sonra %0.25 TKR+I grubunda (87.17 ml) tespit edilmiştir (P<0.01). Aynı zamanda TKR'ya %0.25 oranında adaçayı ve ıhlamur ekstraktı ilave edilmesi ile birlikte OMS, ME ve NE_L değerlerinde artış görülmüştür, en yüksek OMS, ME ve NE_L değerleri TKR+A gruplarında görülürken, en düşük %0.50 TKR+M grubunda görülmüştür ve gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.01).

TKR'ya hem %0.25 hem de %0.50 oranlarında adaçayı ekstraktı katkısı CH₄ miktarını düşürürken, CO₂ miktarını artırmıştır (P<0.01). Araştırmacılar bunun sebebinin, rumende besin madde parçalanması

ile CO₂ ve H₂ açığa çıkması ve metanojenik arkealar H₂'yi enerji olarak kullanıp, CH₄ oluşumunu sağlamasına bağlamaktadır (Beauchemin et al., 2020). Araştırmada, adaçayı TKR'nın sindirilebilirliğini artırarak ortamda CO₂'in artışına neden olurken diğer taraftan içerdiği yüksek antioksidan kapasitesi ile CH₄ oluşumunu engellemiştir. En yüksek NH₃ ve H₂S değerleri TKR+I katkılı gruplarda görülürken, en düşük %0.50 TKR+M grubunda görülmüştür (P<0.001). TKR'ya meyan kökü ekstraktı katkısının ise olumsuz bir etkisi olmamıştır.

SONUÇ

Bu çalışmada, TKR'ya farklı oranlarda adaçayı, ihlamur ve meyan kökü ekstraktı ilavesinin *in vitro* gaz üretim parametreleri incelenmiştir. TKR'ya %0.25 ve %0.50 oranlarında adaçayı ekstraktı ilavesi sindirilebilirliği artırırken, sera gazı oluşumunu sağlayan CH₄ gazı seviyesini düşürmüştür. Elde edilen veriler ışığında TKR'ya adaçayı ekstraktı katılmasının olumlu etkileri olacağı söylenebilir. Ancak rasyonlara eklenecek adaçayı ekstraktının hayvansal üretim ve yem tüketimi üzerine etkisinin bütünüyle ortaya konulabilmesi için *in vivo* çalışmalar ile desteklenmelidir.

KAYNAKLAR

- Abarghuei, M. J. & A. Z. M. Salem, 2021. Sustainable impact of pulp and leaves of *Glycyrrhiza glabra* to enhance ruminal biofermentability, protozoa population, and biogas production in sheep. *Environmental Science and Pollution Research*, 28 (25): 33371-33381.
- Agarwal, N., C. Shekhar, R. Kumar, L. C. Chaudhary & D. N. Kamra, 2009. Effect of peppermint (*Mentha piperita*) oil on *in vitro* methanogenesis and fermentation of feed with buffalo rumen liquor. *Animal Feed Science and Technology*, 148 (2-4): 321-327.
- Aksoy, A., M. Macit & M. Karaoğlu, 2000. Hayvan Besleme Ders Kitabı. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Zootekni Böl. Erzurum, 179-199.
- Alcicek, A., M. Bozkurt & M. Çabuk, 2003. The effect of an essential oil combination derived from selected herbs growing wild in Turkey on broiler performance. *South African Journal of Animal Science*, 33 (2): 89-94.
- AOAC, 2005. Official Methods of Analysis for protein. Association of Official Analytical, Chemists. 18th Ed. Arlington VA 2209, USA, (13): 984.
- Asfaram, A., M. Ghaedi & K. Dashtian, 2017. Rapid ultrasound-assisted magnetic microextraction of gallic acid from urine, plasma and water samples by HKUST-1-MOF-Fe₃O₄-GA-MIP-NPs: UV-vis detection and optimization study. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34: 561-570.
- Aşkun, T., K. Başer, G. Tümen & M. Kürkçüoğlu, 2010. Characterization of essential oils of some *Salvia species* and their antimicrobial activities. *Turkish Journal of Biology*, 34 (1): 89-95.
- Baydar, H., 2005. Tıbbi aromatik ve keyf bitkileri bilim ve teknolojisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Yayın, 51: 135-143.
- Beauchemin, K. A., E. M. Ungerfeld, R. J. Eckard & M. Wang, 2020. Fifty years of research on rumen methanogenesis: Lessons learned and future challenges for mitigation. *Animal*, 14 (S1): s2-s16.
- Canbolat, Ö., 2012. Bazı esansiyel yağların *in vitro* sindirim, rumen fermantasyonu ve metan gazı üretimi üzerine etkileri. *Iğdır University Journal of the Institute of Science & Technology*, 2 (1): 91-98.
- Carpenter, K. J. & K. M. Clegg, 1956. The metabolizable energy of poultry feeding stuffs in relation to their chemical composition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 7 (1): 45-51.
- Castillejos, L., S. Calsamiglia, J. Martín-Tereso & H. Ter Wijlen, 2008. *In vitro* evaluation of effects of ten essential oils at three doses on ruminal fermentation of high concentrate feedlot-type diets. *Animal Feed Science and Technology*, 145 (1-4): 259-270.
- Curabay, B., İ. Filya & Ö. Canbolat, 2020. Bazı esansiyel yağların yonca kuru otunun *in vitro* sindirilebilirliği, rumen fermantasyonu ve metan gazı üretimi üzerine etkileri. *Bursa Uludağ Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 34 (1): 19-35.
- Dos Santos, J. F., S. R. Tintino, T. S. de Freitas, F. F. Campina, R. D. A. Irwin, J. P. Siqueira-Júnior & F. A. Cunha, 2018. *In vitro* e *in silico* evaluation of the inhibition of *Staphylococcus aureus* efflux pumps by caffeic and gallic acid. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 57: 22-28.

- Elmas, S., 2021. Türkiye'de adaçayı yetiştiriciliği ve ticari önemi. Uluslararası Doğu Anadolu Fen Mühendislik ve Tasarım Dergisi, 3 (1): 298-332.
- Erdoğan, Z., S. Erdoğan, Ö. Aslantaş & S. Çelik, 2010. Effects of dietary supplementation of synbiotics and phytobiotics on performance, caecal coliform population and some oxidant/antioxidant parameters of broilers. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 94 (5): e40-e48.
- Erten, K., H.E. Samlı & F. Koç, 2022. Evaluation of antifungal activity of essential oils against potentially mycotoxigenic *Aspergillus Parasiticus* and *Aspergillus flavus* in corn and wheat grain. 4th International Symposium for Agriculture and Food, 12.10.2022 - 14.10.2022.
- Espíndola, K. M. M., R. G. Ferreira, L. E. M. Narvaez, A. C. R. Silva Rosario, A. H. M., A. G. B. Da Silva & M. C. Monteiro, 2019. Chemical and pharmacological aspects of caffeic acid and its activity in hepatocarcinoma. Frontiers in Oncology, 541.
- Garcia-Launay, F., L. Dusart, S. Espagnol, S. Laisse-Redoux, D. Gaudré, B. Méda & A. Wilfart, 2018. Multiobjective formulation is an effective method to reduce environmental impacts of livestock feeds. British Journal of Nutrition, 120 (11): 1298-1309.
- Hole, A. S., S. Grimmer, K. Naterstad, M. R. Jensen, I. Paur, S. G. Johansen & S. Sahlstrøm, 2009. Activation and inhibition of nuclear factor kappa B activity by cereal extracts: role of dietary phenolic acids. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57 (20): 9481-9488.
- Kaya, A. & L. Turgut, 2012. Yumurtacı tavuk rasyonlarına değişik oranlarda katılan adaçayı (*Salvia officinalis*), kekik (*Thymbra spicata*), nane (*menthae piperitae*) ekstraktları ile vitamin E'nin performans, yumurta kalitesi ve yumurta sarısı TBARS değerleri üzerine etkileri. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 43 (1): 49-58.
- Kelebek, H., S. Diblan, P. Kadiroğlu, O. Kola & S. Selli, 2018. Kurutma işlemlerinin incirlerin (*Ficus carica* L.) fenolik bileşikler, antioksidan kapasite ve diğer önemli bazı kalite kriterleri üzerine etkileri. Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 33 (2): 127-136.
- Kırkpınar, F. & H. Atan, 2022. Kanatlı hayvanların beslenmesinde sürdürülebilirlik stratejileri. Ege Univ. Ziraat Fak. Derg., 59 (4): 733-744.
- Lawrance, R. N., 1999. Rediscovering Natural Product Biodiversity. Drug Discovery Today, 4: 449-451.
- Lee, K. W., H. Everts, H. J. Kappert, M. Frehner, R. Losa & A. C. Beynen, 2003. Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. British Poultry Science, 44 (3): 450-457.
- Lu, Y. & L. Y. Foo, 2001. Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). Food Chemistry, 75 (2): 197-202.
- Mackenzie, S. G., I. Leinonen, N. Ferguson & I. Kyriazakis, 2016. Towards a methodology to formulate sustainable diets for livestock: accounting for environmental impact in diet formulation. British Journal of Nutrition, 115 (10): 1860-1874.
- Menke, K. H. & H. Steingass, 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. Anim. Res. Develop., (28): 7-55.
- Meriç, Ş. & F. Koç, 2021. Mısırdan elde edilmiş kurutulmuş damıtma tane ve çözümlerinin (DDGS) bazı kalite ve risk kriterleri yönünden incelenmesi. Hayvan Bilimi ve Ürünleri Dergisi, 4 (1): 96-109.
- National Research Council, 2001. Nutrient requirements of dairy cattle, 7th Rev. Ed. National Academy Press, Washington, DC, 319 pp.
- Nijveldt, R. J., E.L.S. Van Nood, D.E. Van Hoorn, P.G. Boelens, K. Van Norren, & P.A. Van Leeuwen, 2001. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. The American Journal of Clinical Nutrition, 74 (4): 418-425.
- Ody, P., 1993. The Complete Medicinal Herbal. New York, Dorling Kindersley Limited, 70: 138-139.
- Ojala, T., S. Remes, P. Haansuu, H. Vuorela, R. Hiltunen, K.V. Haahtela & P. Vuorela, 2000. Antimicrobial activity of some coumarin containing herbal plants growing in Finland. Journal of Ethnopharmacology, 73: 299-305.
- Önenç, S., S. & F.K. Turgud, 2019. Effect of Oregano, Cumin and Cinnamon Essential Oils on Fermentation Quality in Alfalfa Silages, Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg., 56 (3): 367-373.
- Papageorgiou, V., C. Gardeli, A. Mallouchos, M. Papaioannou & M. Komaitis, 2008. Variation of the chemical profile and antioxidant behavior of *Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia fruticosa* Miller grown in Greece. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56 (16): 7254-7264.

- Peev, C., C. Dehelean, D. Antal, S. Feflea, L. Olariu & C. Toma, 2009. *Tilia tomentosa* foliar bud extract: phytochemical analysis and dermatological testing. *Studia Universitatis Vasile Goldis, Seria Stiintele Vietii*, 19: 163-165.
- Periago, P. M. & R. Moezelaar, 2001. Combined effect of nisin and carvacrol at different pH and temperature levels on the viability of different strains of *B. cereus*. *International Journal of Food Microbiology*, 68: 141-148.
- Salem, A. Z. M., S. López & P. H. Robinson, 2012. Plant bioactive compounds in ruminant agriculture—Impacts and opportunities. *Animal Feed Science and Technology*, 176 (1-4): 1-4.
- Soysal, İ., 2000. Biometrinin Prensipleri (İstatistik I ve II Ders Notları). T.Ü. Tekirdağ Ziraat Fak. Yayınları, Yayın, 95 s.
- Spernakova, D., D. Mate, H. Rozanska & G. Kovac, 2007. Effects of dietary rosemary extract and alpha-tocopherol on the performance of chickens, meat quality, and lipid oxidation in meat stored under chilling conditions. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 51 (4).
- Şahin-Nadeem, H., C. Dinçer, M. Torun, A. Topuz & F. Özdemir, 2013. Influence of inlet air temperature and carrier material on the production of instant soluble sage (*Salvia fruticosa* Miller) by spray drying. *LWT-Food Science and Technology*, 52 (1): 31-38.
- Toker, G., M. Aslan, E. Yeşilada, M. Memişoğlu & S. Ito, 2001. Comparative evaluation of the flavonoid content in officinal *Tiliae flos* and Turkish lime species for quality assessment. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 26 (1): 111-121.
- Tundis, R., D. Iacopetta, M. S. Sinicropi, M. Bonesi, M. Leporini, N. G. Passalacqua, J. Ceramella, F. Menichinia & M. R. Loizzo, 2017. Assessment of antioxidant, antitumor and pro-apoptotic effects of *Salvia fruticosa* Mill. subsp. *thomasi* (Lacaita) Brullo, Guglielmo, Pavone & Terrasi (Lamiaceae). *Food and Chemical Toxicology*, (106): 155-164.
- Uçan, F., 2008. DL-Limonenin Mayalar Üzerine Antifungal Etkisi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, (Basılmamış) Yüksek Lisans Tezi. Adana.
- Ultee, A. & E.J. Smid, 2001. Influence of carvacrol on growth and toxin production by *B. cereus*. *International Journal of Food Microbiology*, 64: 373-378.
- Van Soest, P. V., J. B. Robertson & B. A. Lewis, 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74 (10): 3583-3597.
- Visavadiya, N. P., B. Soni & N. Dalwadi, 2009. Evaluation of antioxidant and anti-atherogenic properties of *Glycyrrhiza glabra* root using in vitro models. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60 (sup2): 135-149.
- Wang, L., R. Yang, B. Yuan, Y. Liu & C. Liu, 2015. The antiviral and antimicrobial activities of licorice, a widely-used Chinese herb. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 5 (4): 310-315.
- Wei, M., X. Chu, M. Guan, X. Yang, F. Liu, C. Chen, & X. Deng, 2013. Protocatechuic acid suppresses ovalbumin-induced airway inflammation in a mouse allergic asthma model. *International Immunopharmacology*, 15 (4): 780-788.
- Yang, L., L. L. Li, T. T. Liu, Y. G. Zu, F. J. Yang, C. J. Zhao, L. Zhang, X. Q. Chen & Z. H. Zhang, 2013. Development of sample preparation method for isoliquiritigenin, liquiritin, and glycyrrhizic acid analysis in licorice by ionic liquids-ultrasound based extraction and high-performance liquid chromatography detection. *Food Chemistry*, 138 (1): 173-179.
- You, H. L., C.C. Huang, C.J. Chen, C.C. Chang, P.L. Liao, & S.T. Huang, 2018. Anti-pandemic influenza A (H1N1) virus potential of catechin and gallic acid. *Journal of the Chinese Medical Association*, 81 (5): 458-468.
- Zhang, J., B. Li, H. Yue, J. Wang & Y. Zheng, 2018. Highly selective and efficient imprinted polymers based on carboxyl-functionalized magnetic nanoparticles for the extraction of gallic acid from pomegranate rind. *Journal of Separation Science*, 41 (2): 540-547.
- Zhao, Z. & M.H. Moghadasian, 2008. Chemistry, natural sources, dietary intake and pharmacokinetic properties of ferulic acid: A review. *Food Chemistry*, 109 (4): 691-702.