

**Balıkesir Yöresinden Toplanan Biberiye ve Fesleğen Bitkilerine Ait Uçucu Yağların Antioksidan ve Antimikotik Özelliklerinin Belirlenmesi\***


Determination of Antioxidant and Antimycotic Properties of Essential Oils of Rosemary and Basilicum Collected from Balıkesir Region

Merve Nur ASLAN ÖZ<sup>1</sup>, Hasan Murat VELİOĞLU<sup>2\*</sup>

**Öz**

Son yıllarda bitkisel kaynaklı antioksidan ve antimikrobiyal maddelere olan ilginin artmasıyla birlikte uçucu yağlar üzerinde yapılan bilimsel çalışmalar literatürde daha çok yer almaya başlamıştır. Bu çalışmada, Balıkesir yöresinden toplanan biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) ve fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) bitkilerine ait uçucu yağların antioksidan ve antimikotik özellikleri incelenmiştir. Bitkilerden hidrodistilasyon yöntemiyle elde edilen uçucu yağların antimikotik etkileri sırasıyla küf ve maya örnekleri olarak seçilen *Aspergillus parasiticus* (DSM 5771) ve *Zygosaccharomyces rouxii* (ATCC 28253) üzerinde *in vitro* olarak araştırılmıştır. Uçucu yağların antioksidan özelliklerini belirlemek amacıyla toplam fenolik madde analizi ve toplam antioksidan yakalama kapasitesi tayini yapılmıştır. Çalışma kapsamında elde edilen sonuçların endüstriyel olarak üretimi ve son tüketiciye satışı yapılan örneklerle kıyaslanması için uçucu yağların, ticari muadilleri de antimikotik ve antioksidan özellikler açısından incelenmiştir. Araştırma bulguları Balıkesir yöresinden toplanan biberiye ve fesleğen bitkilerinin değişen oranlarda antimikotik ve antioksidan özellikte olduğunu göstermiştir. Çalışma sonuçları, farklı lokasyonlardan toplanan bitkilerin antimikotik ve antioksidan özellikleri arasında istatistiki olarak önemli ( $P < 0.05$ ) farklar bulunduğunu göstermiştir. Elde edilen tüm analiz sonuçları içerisinde en yüksek antimikotik etkiyi, küf üzerine 68.83 mm'lik inhibisyon çapıyla, denizden en yüksek ve en uzak konumda olan Sındırgı ilçesinden toplanan fesleğene ait uçucu yağın gösterdiği ortaya konmuştur. Fenolik madde içeriği sonuçlarına göre; en yüksek değer Bigadiç ilçesi menşeli fesleğen uçucu yağında 17305.3 mg GAE L<sup>-1</sup>, Altteylül ilçesi menşeli biberiye yağında 4497.8 mg GAE L<sup>-1</sup> olarak tespit edilmiştir. DPPH metodu ile tespit edilen antioksidan kapasite değerleri ise 0.91-18.65 µmol troloks mL<sup>-1</sup> yağ aralığında değişmiştir. Çalışma kapsamında analiz edilen ticari uçucu yağların yaklaşık tamamında antimikotik etki, fenolik madde içeriği ve antioksidan kapasite değerleri laboratuvar ortamında üretilen uçucu yağlara göre düşük bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** *Rosmarinus officinalis* L., *Ocimum basilicum* L., Biberiye, Fesleğen, Antimikrobiyal aktivite, Antioksidan aktivite

<sup>1</sup>Merve Nur Aslan Öz, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü Değirmenaltı Kampüsü, Tekirdağ, Türkiye. E-mail: [mervenuraskan90@gmail.com](mailto:mervenuraskan90@gmail.com)  OrcID: 0000-0003-2380-9120

<sup>2</sup>\*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Hasan Murat Velioglu, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü Değirmenaltı Kampüsü, Tekirdağ, Türkiye. E-mail: [mvelioglu@nku.edu.tr](mailto:mvelioglu@nku.edu.tr)  OrcID: 0000-0002-8275-6965

Atıf: Aslan Öz, M. N., Velioglu, H. M. (2024). Balıkesir yöresinde doğal olarak yetişen biberiye ve fesleğen bitkilerine ait uçucu yağların antioksidan ve antimikotik özelliklerinin belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21(3): 783-794.

Citation: Aslan Öz, M. N., Velioglu, H. M. (2024). Determination of antioxidant and antimycotic properties of essential oils of rosemary and basilicum collected from Balıkesir Region. *Journal of Tekirdag Agricultural Faculty*, 21(3): 783-794.

\*Bu çalışma Yüksek Lisans tezinden üretilmiş ve Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından NKUBAP.03.YL.16.028 nolu proje ile desteklenmiştir.

©Bu çalışma Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi tarafından Creative Commons Lisansı (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) kapsamında yayımlanmıştır. Tekirdağ 2024

## Abstract

In recent years, with the increasing interest in plant-derived antioxidant and antimicrobial substances, scientific studies on essential oils have started to take place more in the literature. In this study, we examined the antioxidant and antimycotic properties of the essential oils of rosemary and basil plant that collected from Balikesir region. Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L) and basilicum (*Ocimum basilicum* L.) herb plant species were used as study material. *Zygosaccharomyces rouxii* (ATCC 28253) and *Aspergillus parasiticus* (DSM 5771) were used to determine *in vitro* antimycotic effect of essential oils obtained from plants by hydro distillation method. The total phenolic component analysis and the total antioxidant capacity were implemented to determine the antioxidant properties of essential oils. In order to compare the results obtained within the scope of the study with the samples produced industrially and sold to the end consumer, commercial equivalents of essential oils were also examined in terms of antimycotic and antioxidant properties. The study proved the antioxidant and antimycotic properties of the rosemary and basil plant collected from Balikesir region. Furthermore, it was also observed that there are some important differences ( $P<0.05$ ) between antimycotic and antioxidant characteristics of aromatic plants that were collected from different locations. It was revealed that among all the analysis results obtained, the essential oil of basil collected from the Sındırgı district, which is at the highest and furthest location from the sea, with an inhibition diameter of 68.83 mm, showed the highest antimycotic effect on mold. The highest phenolic substance content was found as 17305.3 mg GAE L<sup>-1</sup> and 4497.8 mg GAE L<sup>-1</sup> for basil from Bigadiç and rosemary from Alteylül county, respectively. The antioxidant capacity values determined by the DPPH method ranged from 0.91-18.65 µmol trolox mL<sup>-1</sup> oil. Antimycotic effect, phenolic content and antioxidant capacity values of nearly all commercial essential oils analyzed within the scope of the study were found to be lower than the essential oils produced in the laboratory.

**Keywords:** *Rosmarinus officinalis* L., *Ocimum basilicum* L., Rosemary, Basil, Antimicrobial activity, Antioxidant activity

## 1.Giriş

18. yüzyıldan sonra kimya biliminin gelişmesi ve ilerlemesi, bitkilerle tedavi yöntemlerinin yerini alarak, saf, sentetik veya yarı sentetik ilaç hammaddelerinin kullanımını arttırmıştır. Ancak modern ilaçların istenmeyen yan etkilere sahip olması son yıllarda tekrar doğal kaynaklardan elde edilen ilaçların tercihine neden olmuştur (Baytop 1984).

Bitkisel ürün veya bitkisel ilaç, işlenmemiş ya da işlenerek bir veya daha fazla bitkiden oluşturulan bileşim maddesi içeren tedavi edici özelliği olan veya diğer insanların sağlığına yararı olan bitkilerden türetilen maddeler veya ürünlerdir (WHO 1998). Son yıllarda tıbbi aromatik bitkiler üzerindeki çalışmalar ve bu bitkilere karşı artan ilgi dikkat çekmektedir. Özellikle kalkınma aşamasındaki ülkelerde yeterli maddi olanakların ve ilaç endüstrisinin olmayışı bu bitkileri kolay ve ucuz tedavi yöntemleri olarak öne çıkarmaktadır. Diğer taraftan bazı ilaç hammaddelerinin bitkisel kaynaktan üretimi sentetik muadillerine göre daha ucuz ve kolay olabilmekte ve bitkisel bileşenler birden fazla etkiye sahip olabilmektedir (Abay, 2006).

Tıbbi olarak tüketilen birçok bitkinin antimikrobiyal ve antioksidan etkisinin olduğu, ülkemizde ve yurt dışında yapılan çalışmaların birçoğunda görülmüştür (Panizzi ve ark. 1993; Benli ve ark., 2007; Ertürk ve ark., 2010; Şahan ve ark, 2021). Biberiye ve fesleğen, gerek çesni maddesi olarak gerekse esansiyel yağ kaynağı olarak kullanılan aromatik bitkiler arasında yer almakta olup ülkemizde de geniş bir alanda doğal yayılım göstermektedir (Telci ve ark. 2005; Malayoğlu 2010).

Biberiye (*Rosmarinus officinalis*) Akdeniz kıyısında, kalkerli tepelerde, sürekli yeşil kalan, doğal olarak yetişebilen çok yıllık bir bitki olup, rosmarin, kuşdili, pürem ve süpürge çalısı gibi yöresel isimlerle anılan *Lamiaceae* familyasına ait değerli bir uçucu yağ ve baharat bitkisidir (Baytop, 1984). Esas kökeni Akdeniz Bölgesi olan bu bitkinin kültürünün en çok yapıldığı ülkeler ise Fransa, İspanya, Portekiz, İngiltere, İtalya, Yunanistan, Balkan Ülkeleri, Tunus, Amerika Birleşik Devletleri ve Meksika'dır. Yabani olarak Akdeniz ikliminin hakim olduğu her yerde yetişebilir (Malayoğlu, 2010). Biberiye 50-150 cm boylanan, otsu veya ağaççık görünüşünde sapı lifli, küçük ince narin, açık veya koyu yeşil yapraklı, yaprak arkası kül renkli ve tüylüdür. Çiçekleri ise açık mavi beyazımsıdır ve bütün sene çiçeklidir. Bir eksen üzerinde salkım halinde bulunan çiçekler aromatik ve güzel kokuludur (Baytop, 1984). Fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) tek yıllık ve otsu, 20-60 cm boylu, beyaz-mor çiçekli bir bitkidir. Olgunlaşmış fesleğenlerin boyları genellikle 20 ile 60 cm arasında değişmektedir. Fesleğen özellikle Batı ve Güney Anadolu'da yetiştirilmektedir. *Ocimum basilicum* L. tür içerisinde geniş morfolojik ve kimyasal çeşitliliğe sahiptir. Bu nedenle de pek çok alt tür ve varyetelere ayrılarak incelenmektedir. Bazı yörelerde özellikle doğu illerinde mor renkli tipler fazla görülmektedir ve reyhan olarak isimlendirilmektedir. Batı illerinde daha yaygın olan yabancı literatürde 'sweet basil' olarak bilinen yeşil renkli çeşit ise fesleğen olarak bilinmektedir (Telci ve ark., 2005).

Biberiye yapraklarının tavuk yemi katkısı olarak kullanımı (Ürüşan, 2021), biberiye esansiyel yağının antimikrobiyal etkisinin araştırılması (Yeşil-Çeliktaş ve ark., 2007) ve fesleğen esansiyel yağının kimyasal kompozisyonunun ortaya konması hakkındaki çalışmalar literatürde sıklıkla yer almaktadır (Özcan ve Calchat, 2002).

Bu araştırmanın amacı Balıkesir ili sınırları dahilinde farklı lokasyonlarda doğal olarak ve/veya kültür bitkisi olarak yetişen *Lamiaceae* familyasına ait 2 bitki türünden (*Rosmarinus officinalis*, *Ocimum basilicum*) elde edilmiş uçucu yağların antimikrobiyal ve antioksidan etkilerinin belirlenmesi ve ticari muadilleri ile karşılaştırılmasıdır.

## 2. Materyal ve Metot

Balıkesir'in bazı ilçelerinden (Altteylül, Ayvalık, Burhaniye, Bigadiç, Erdek, Gömeç, Karesi, Sındırgı) doğal olarak yetişen veya kültüre alınmış biberiye ve fesleğen bitkileri 2017 yılı ilkbahar döneminde toplanmıştır. Her lokasyondan toplanan bitki örnekleri 200-400 g arasındadır. Toplanan bitkiler köklerinden ayrılarak toprak kalıntıları temizlendikten sonra düz bir zemine yayılarak uygun koşullarda (oda sıcaklığında ve gölgede) kurumaya bırakılmıştır. Kurutulan bitki materyalleri yapılacak laboratuvar çalışmalarına kadar, ağzı klipsli şeffaf poşetlerde muhafaza edilmiştir. Bitki materyallerinin toplandığı yerde, yerin enlem ve boylamı GPS yardımıyla, bitkinin toplandığı yerin yüksekliği ise altimetre yardımıyla ölçülmüştür. Çalışmada kullanılan bitkilere verilen kodlar ve toplandığı lokaliteler *Tablo 1* ve *2*'de verilmiştir. Laboratuvar ortamında üretilen uçucu yağlar ile karşılaştırmak

amacıyla yerel market ve eczanelerden fesleğen yağı ve biberiye yağı adıyla satışı yapılan örnekler temin edilmiştir. İçerik bilgilerine göre sadece uçucu yağ içerdiği ifade edilen bu örneklerden fesleğen yağları T1, T2, T3 ve T4 olarak, biberiye yağları ise T5, T6, T7 ve T8 olarak kodlanarak çalışmada kullanılmıştır.

**Tablo 1. Biberiye numuneleri alınan bölgelere ait bilgiler**

*Table 1. Information on the regions where rosemary samples were taken*

Kod	İlçe	Enlem	Boylam	Yükselti (m)	Denizden Uzaklık (km)
1	Burhaniye	39°50'	26°94'	10	7
3	Ayvalık	39°32'	26°70'	7	2
5	Bigadiç	39°39'	28°13'	180	126
9	Gömeç	39°39'	28°17'	14	2
17	Erdek	40°41'	27°77'	10	1
19	Altıeylül	39°64'	27°89'	151	87

**Tablo 2. Fesleğen numuneleri alınan bölgelere ait bilgiler**

*Table 2. Information on the regions where basilicum samples were taken*

Kod	İlçe	Enlem	Boylam	Yükselti (m)	Denizden Uzaklık (km)
2	Burhaniye	39°49'	26°93'	10	7
4	Ayvalık	39°33'	26°65'	14	2
6	Bigadiç	39°37'	28°13'	180	126
8	Sındırgı	39°24'	28°17'	230	149
14	Karesi	39°71'	27°98'	139	89
20	Altıeylül	39°63'	27°87'	151	87

Kurutulan bitki örnekleri mekanik öğütücü yardımıyla daha küçük parçalar haline getirildikten sonra bitkisel materyaller 2000 mL kapasiteli cam balona yerleştirilmiştir. Ardından kuru bitki örneği ağırlığının 5 katı olacak şekilde saf su ilave edilip balon çalkalanmıştır. Balonun yerleştirildiği ısıtıcı mantonun sıcaklığı kademeli olarak artırılarak kaynama başlatılmış ve yaklaşık 3 saat boyunca su buharı distilasyon yöntemiyle özütlenerek, uçucu yağların toplanması sağlanmıştır. Distilasyon tamamlandıktan sonra Clevenger aparatının toplama kabında toplanan uçucu yağlar eppendorf tüplerinin içerisine alınmıştır. Elde edilen uçucu yağda su bulunması olasılığına karşı bir müddet bekletildikten sonra tüpün üst yüzeyinde kalan uçucu yağlar pastör pipeti yardımı ile çekilip, başka bir eppendorf tüpüne aktarılmış ve saf olarak elde edilmiştir.

Elde edilen uçucu yağların konulduğu eppendorf tüplerin ağız kısmı hava geçişini engellemek için parafilmle sarılmıştır. *In vitro* ortamda antimikotik etki denemelerinde kullanılmak üzere +4°C'de saklanmıştır.

Çalışmada kullanılan küf ve maya örnekleri Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarından temin edilmiştir.

Antimikotik etkinin belirlenmesinde, Güner (2014) tarafından Braga ve ark. (2007)'den modifiye edilen yöntem kullanılmıştır. Aseptik koşullarda, petri kaplarına yaklaşık 15-20 mL olacak şekilde dökülen PDA besiyerlerinin sertleşmesi ve oda sıcaklığına gelmesini takiben, daha önceden hazırlanan maya ve küf süspansiyonlarından mikropipet yardımıyla 0.1 mL alınarak, PDA besiyeri üzerine yüzeye yayma yoluyla ekim yapılmıştır. Besiyerinin, inokulumu tamamen emmesi için yaklaşık 1 saat beklendikten sonra, steril pipet ucuyula besiyeri üzerinde 5 mm çapında bir çukur açılmış, iç kısımda kalan besiyeri parçası çıkarılmayarak petri içerisinde bırakılmıştır. Sonrasında 5 mm çapındaki izin merkezine, daha önce hazırlanan uçucu yağ-metanol karışımları ve ticari uçucu yağlar 20 µL mikropipet yardımıyla boşaltılmıştır. Boşaltılan tüm sıvı, öncelikle çember şeklindeki ize dolup, sonrasında besiyeri üzerinde yayıldığı için dökülme noktası merkezli tam bir daire oluşturacak şekilde yayılım göstermiştir. Hem mikroorganizma süspansiyonu içeren hem de uçucu yağ-metanol karışımı içeren tüpler aktarım öncesi vorteksenerek homojenite sağlanmıştır. Uygulamaların tamamı kontrollü ve aseptik koşullar

altında yapılmıştır. Hazırlanan petri kaplarının inkübatörde 26.5°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmasının ardından ilk gözlem sayımı yapılmıştır. Ertesi gün, kontrol sayımı yapılarak sayma işlemi tamamlanmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda besiyeri yüzeyinde mikrobiyal gelişmenin olmadığı dairesel alanın çapı dijital kumpas yardımıyla ölçülerek kaydedilmiştir. Bu ölçüm, direkt olarak inhibisyon zonu çapı olarak değerlendirilmiştir. Antimikotik etkinin ölçülmesi için yapılan tüm *in vitro* analizler 2 tekerrürlü gerçekleştirilmiştir.

Araştırmada, uçucu yağların toplam antioksidan kapasite değerleri, hem ABTS<sup>+</sup> radikal katyonu tarafından tutulan antioksidan madde miktarı analizi hem de DPPH radikal temizleme aktivitesi metotları kullanılmıştır.

Çalışılan biberiye ve fesleğen bitkilerinin fenolik madde miktarlarının analizi Singleton ve Rossi (1965) tarafından tanımlanan Folin-Ciocalteu yöntemine göre yapılmıştır.

Fenolik madde analizi için, ekstraksiyonlar 2 mL'lik eppendorf tüpü içerisinde homojenize edilerek hazırlanmıştır. Hazırlanan eppendorf tüpleri falkon tüplerinin içerisine yerleştirilerek, karıştırıcıda 1 saat boyunca karıştırılarak bekletilmiş, işlem tamamlandıktan sonra tüpler Hettich Universal 320R tipi soğutmalı santrifüjde 3500 rpm de 10 dakika santrifüjlenmiştir.

Farklı ilçelerden toplanarak hazırlanan biberiye bitkilerinin ekstraktlarından 40 µL alınarak, spektrofotometre küvetine konulmuştur. Ekstraktın üzerine sırasıyla 3.16 mL saf su, 200 µL FCR, 600 µL %20'lik Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> konularak vorteks yardımıyla karıştırıldıktan sonra, karışımın çok açık mavi ya da çok koyu mavi olması istenmediğinden, karışımın homojen ve iyi bir sonuç verebilmesi için gözlem yapılmış ve karışım 2 saat boyunca bekletilmiştir.

Yine daha önceden fesleğen bitkilerinden elde edilen saf yağların yoğunluğundan dolayı üzerine eklenen kimyasalların ardından yağın renginde ya hiç açılma görülmemiş ya da renk olduğundan fazla açılmıştır. Bu nedenle saf yağlarda ekstrakt miktarı ½ oranında azaltılarak, ticarilerde ise tam tersi 2 kat artırılarak renk yoğunluğu ayarlanmıştır. Farklı ilçelerden toplanan fesleğen bitkilerinden elde edilen saf ekstraktlardan alınan 20 µL yağın üzerine sırasıyla 3.18 mL saf su, 200 µL FCP ve 600 µL %20 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> konulmuş ve karışım 2 saat boyunca bekletilmiştir.

Ticari olarak satın alınan ekstraktlarda ise, 80 µL yağ ekstraktı üzerine 3.12 mL saf su, 200 µL FCP, 600 µL %20 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> konularak, 2 tekerrürlü hazırlanan karışımlar 2 saat bekletildikten sonra Shimadzu UVmini-1240 tip spektrofotometrede 765 nm'de absorbans ölçümleri yapılmıştır. Standart kalibrasyon eğrisi, katekol kullanılarak hazırlanmış ve sonuçlar bu kalibrasyon grafiği yardımıyla hesaplanmıştır (Turan 2005).

DPPH analizi Brand-Williams ve ark. (1995)'e göre yapılmıştır. Yöntemin esası DPPH içeren çözelti ile hidrojen atomu verme eğilimi olan bir molekülün (antioksidan) çözeltilsinin karıştırılması sonucu DPPH radikalinin indirgenmesine ve çözeltilinin başlangıçta mor olan renginin kaybolmasına dayanır. Mor renkli çözeltilinin 520 nm civarındaki absorbansının azalması ölçülerek reaksiyon takip edilir. Antioksidan aktivite başlangıçtaki DPPH derişiminin %50'sinin azalması için harcanan antioksidan miktarını ifade eden IC50 (etkin konsantrasyon) değeri ile verilir (Brand-Williams ve ark. 1995).

Spektrofotometre küvetinin içerisine 25, 50 ve 75'er mL'lik ekstraktlar konularak üç ayrı paralel hazırlanmıştır. Ekstraktlara, çeker ocakta 1950 mL DPPH radikali eklenerek vorteksle karıştırılmıştır. 30 dakika karanlık ortamda bekletilerek, 517 nm'de absorbansları okunmuştur. Kontrol; 50 µL metanol ve üzerine 1950 mL DPPH konularak hazırlanmıştır. Ölçüm yapılmadan önce spektrofotometre metanole sıfırlanmıştır. Fenolik ekstreden elde edilen biberiye ekstraktı antioksidan analizinde olduğu gibi kullanılırken, fesleğen ekstraktı saf yağlarda 10 kat metanolla seyreltilmiştir. Ticari fesleğen yağları ise fenolikte olduğu gibi aynı şekilde kullanılmıştır. İşlemler 3 tekerrürlü (n=3) yapılmıştır. Yüzde inhibisyon (DPPH Radikal Süpürücü Aktivite) aşağıdaki formülle hesaplanmıştır:

$$\% \text{İnhibisyon} = [AK - A\ddot{O} / AK] \times 100 \quad (\text{Eş. 1})$$

AK: Kontrolün absorbansı

AÖ: Örneğin absorbansı

Farklı derişimlerle ölçülen absorbanslarla grafik çizilmiş,  $y = ax + b$  denkleminde DPPH derişimini yarıya düşüren örnek miktarı  $\mu\text{g/mL}$  cinsinden bulunarak, IC50 değerleri hesaplanmıştır.

Örneklerin absorbans değerleri, örnek ve şahidin (phosphate buffered saline, PBS) aynı anda konulabildiği çift huzmeli (double beam) spektrofotometre kullanılarak belirlenmiştir. Bu yöntemin ayrıntıları Kırca ve Özkan (2007) tarafından verilmiştir. Küvetlerin bulunduğu bölümün sıcaklığı sirkülasyonlu su banyosuyla 30°C’de sabit tutulmuştur. Analize başlamadan önce ABTS<sup>+</sup> radikal çözeltisinden 1 mL (Stok çözeltiden her 100 mL için 1 mL civarı ABTS<sup>+</sup> radikali) alınarak, 734 nm’de absorbans değeri 0.700±0.02 olacak şekilde yaklaşık 90-100 mL PBS ile seyreltilmiştir.

ABTS<sup>+</sup> seyreltiğinin ölçümleri 734 nm’de 1.5 mL hacimde 1 cm ışık yolu uzunluğunda, tek kullanımlık mikro küvetlerde yapılmıştır. Elde edilen ABTS<sup>+</sup> seyreltiğinin 734nm’de 700 civarı değer vermesi beklenir. Bu alınan değer ise kontrol olarak kaydedilir. İstenilen değerler 700-718 nm arasında istenir. Bu değer yüksek çıkarsa PBS, düşük çıkarsa ABTS<sup>+</sup> eklenir.

Seyreltilmiş ABTS<sup>+</sup> radikal çözeltisinden 1 mL mikro küvete alınmış, PBS çözeltisine karşı okuma yapmak üzere spektrofotometreye yerleştirilerek, başlangıç absorbans değeri belirlenmiştir. Daha sonra küvet içeriği 1 mL olacak şekilde, mikro küvete eklenen 990  $\mu\text{L}$  radikal çözeltisi üzerine örnekten 10  $\mu\text{L}$  eklenir eklenmez kronometre çalıştırılmıştır. 6 dakika boyunca, her bir dakikada absorbans ölçümü yapılarak sonuçlar kaydedilmiştir. Fenolik madde analizi için; ticari olarak temin edilen biberiye ve fesleğen yağ örneklerinden alınan örnek, ekstraktla aynı oranda alınırken, biberiye bitkisinde 17 numaralı örnek hariç saf ekstraktlarda 5 kat, fesleğen bitkisinde ise 6 numaralı örnek hariç 20 kat PBS ile seyreltilmiştir. 6. dakikanın sonunda saptanmış olan absorbans değeri esas alınarak, başlangıç değerine göre yüzde azalma oranı (inhibisyon oranı) aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$\text{İnhibisyon oranı (\%)} = (\text{BAD} - \text{SAD})/\text{BAD} \quad (\text{Eş. 2})$$

BAD: Başlangıç Absorbans Değeri, SAD: Son Absorbans Değeri

10  $\mu\text{L}$  örnek alınarak yapılan bu işlemler en az 3 kez tekrarlanmış ve inhibisyon oranları hesaplanarak bunların ortalaması alınmıştır. Daha sonra, örnek hacmi değiştirilerek 20 ve 30  $\mu\text{L}$  hacimlerde aynı işlemler tekrarlanmıştır. Her defasında küvet içeriği 1 mL olacak şekilde farklı miktarlarda ABTS<sup>+</sup> radikal çözeltisi eklenmiş ve 6 dakika bekletilmiştir. Ölçüm yapılmadan önce spektrofotometre PBS ile sıfırlanmış ve ölçümler spektrofotometre cihazıyla yapılmıştır. Elde edilen ortalama yüzde inhibisyon değerleri örnek hacimlerine (10, 20, 30  $\mu\text{L}$ ) karşı bir grafiğe aktarılmış ve bu verilere doğrusal regresyon analizi uygulanarak örneğe ilişkin eğriye ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır. Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmeleri, SPSS 18.0 paket programında yapılmıştır. Verilere varyans analizi uygulanıp, birbirleriyle karşılaştırılmalarında %5 güven aralığında ( $P < 0.05$ ) belirlenmiştir. Varyasyon kaynaklarının ortalamalarının karşılaştırılmasında Duncan’s Çoklu Karşılaştırma Testi uygulanmıştır.

### 3. Araştırma Sonuçları ve Tartışma

Biberiye ve fesleğen uçucu yağ verimleri hesaplanmıştır. Buna göre 6 farklı biberiye örneği için uçucu yağ verimi kuru madde üzerinden ortalama %1.5 iken en yüksek verim %1.64 ve en düşük verim %1.32 olarak tespit edilmiştir. Fesleğen örneklerinde ise ortalama uçucu yağ verimi %1 seviyesinde bulunmuştur. Fesleğen örneklerinde en yüksek uçucu yağ verimi %1.15 olurken en düşük verim %0.89 olarak tespit edilmiştir. Biberiye ve fesleğen bitkilerinden elde edilen uçucu yağların ve ticari biberiye ve fesleğen yağlarının *A. parasiticus* ve *Z. rouxii* üzerindeki antimikotik aktivite tayinleri agar difüzyon yöntemiyle belirlenmiştir. İnkübasyon sonrası PDA besiyeri merkezinde oluşan zonların ölçüm sonuçları *Tablo 3*’te verilmiştir.

Maya üzerinde en yüksek antimikotik etkiye sahip ticari uçucu yağın T8 kodlu biberiye yağı olduğu görülmektedir ( $P < 0.05$ ). T7 kodlu diğer biberiye yağı en düşük antimikotik etkiye sahipken ( $P < 0.05$ ), T5 ve T6 kodlu ticari biberiye yağlarında herhangi bir inhibisyon etkisi gözlenmemiştir. Ticari fesleğen yağlarına ait sonuçlara bakıldığında ise; T2 ve T3 kodlu örneklerin tüm örnekler içinde en düşük antimikotik etkiye sahip olduğu ( $P < 0.05$ ), diğer taraftan T1 ve T4 kodlu ticari fesleğen yağlarının herhangi bir inhibisyon zonu oluşturmadığı tespit edilmiştir. Laboratuvar ortamında üretimi yapılan uçucu yağlar açısından da önemli antimikotik etki farklılıkları gözlenmiştir ( $P < 0.05$ ). 4, 6 ve 20 kodlu fesleğen yağlarının diğer örneklerden daha

yüksek etki gösterdiği, özellikle Altıeylül ilçesinden elde edilen fesleğen örneklerine ait uçucu yağın (20 kodlu) tüm örnekler içerisinde maya üzerine antimikotik etkisinin en yüksek olduğu görülmüştür ( $P<0.05$ ) (Tablo 3).

**Tablo 3. İnkübasyon sonrası PDA besiyeri merkezinde oluşan zonların ölçüm sonuçları**

Table 3. Measurement results of zones formed in the center of PDA medium after incubation

Uçucu yağ kodu	İnhibisyon çapı
T1	-
T2	14.87±0.17 <sup>e</sup>
T3	12.49±1.75 <sup>e</sup>
T4	-
T5	-
T6	-
T7	11.59±0.95 <sup>e</sup>
T8	51.96±6.21 <sup>b</sup>
1	16.76±2.21 <sup>d,e</sup>
2	-
3	-
4	23.32±0.08 <sup>d</sup>
5	-
6	35.96±1.52 <sup>c</sup>
9	15.06±1.23 <sup>e</sup>
14	-
17	13.15±0.13 <sup>e</sup>
20	67.30±1.55 <sup>a</sup>

\* Elde edilen sonuçlar ortalama değer ± standart hata olarak verilmiştir. Farklı üst indis harflerle gösterilen değerler istatistiki olarak birbirinden farklıdır ( $P<0.05$ ).

Laboratuvar ortamında üretimi yapılan uçucu yağların *Z. rouxii* üzerindeki antimikotik etkisi, bileşimlerinde bulunan etken maddelere bağlıdır. Uçucu yağların etken madde bileşimlerindeki farklılıkların da bitkinin yetiştiği bölgeye bağlı çevresel faktörlerden etkilendiği bilinmektedir (Akgül, 1989). Fesleğen uçucu yağının, mayalar üzerindeki etkisinin incelendiği bir çalışmada (Avetisyan ve ark. 2017), *Debaryomyces hansenii* ve *Candida guilliermondii* üzerinde fesleğen yağının önemli antimikotik etki gösterdiği belirtilmiştir. Vieira ve ark. (2014) tarafından yapılan bir başka çalışmada, linalool açısından zengin fesleğen yağlarının *Candida* cinsi mayalar üzerindeki inhibisyon etkisi incelenmiş ve oldukça yüksek seviyede etkili olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma kapsamında laboratuvar ortamında esansiyel yağ üretimi yapılan fesleğen örneklerinden Altıeylül ve Bigadiç ilçesi kaynaklı olanlarda (6 ve 20 nolu örnekler) yüksek antifungal etki gözlenmesi, bu ilçelerin yükselti ve denize uzaklık bakımından diğer ilçelerden (Sındırgı hariç) farklılaşmasıyla bağlantılı olabilir. Daha yüksek ve denizden uzak lokasyonların çevresel etkilerden daha az etkileneceği, daha soğuk bir iklime sahip olacağı ve bu sebeplerle bitkilerin yapısındaki etken madde miktar ve çeşitlerinin değişiklik gösterebileceği düşünülebilir. Bu çalışma kapsamında, bu değişim, bitkilere ait esansiyel yağların maya üzerindeki inhibisyon etkisini arttırdığı görülmektedir. Örnekler arasında 9 ve 17 kodlu biberiye esansiyel yağlarının Gömeç ve Erdek ilçelerinden elde edildiği ve bu ilçelerin deniz kenarında bulunan ilçeler olduğu bilinmektedir. Biberiye uçucu yağının, kekik, adaçayı, okaliptüs ve rezene uçucu yağlarıyla beraber farklı funguslar üzerindeki antifungal etkisinin incelendiği bir çalışmada, en düşük etkiye sahip yağın biberiye uçucu yağı olduğu bildirilmiştir. Carvalhinho ve ark. (2012) tarafından 40 farklı *Candida albicans* suşu üzerinde farklı uçucu yağların inhibisyon etkisinin araştırıldığı bir çalışmada ise biberiye uçucu yağının antimikotik etkisi, tarçın, defne, nane ve okaliptüs uçucu yağlarından düşük, limon, ladin reçenesi ve mandalina uçucu yağlarından yüksek bulunmuştur. Fesleğenden elde edilen uçucu yağın, *Candida glabrata* ve *Candida albicans*'a karşı incelendiği bir çalışmada hem etanolik ekstraktlarla hem de uçucu yağlarla orta derecede antifungal aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Rezzoug ve ark., 2019). Aktepe ve ark. (2019) tarafından biberiye uçucu yağında 1.78 mm'lik inhibisyon zonu ölçülerek, *Erwinia amylovora*'ya karşı antibakteriyel etkisinin, negatif kontrole (steril su) aynı grupta yer alarak, etkisiz olduğu rapor edilmiştir. Literatür çalışmaları biberiye uçucu yağının farklı bitkilere ait uçucu yağlara göre mayalar üzerinde daha düşük inhibitör etki gösterdiğini bildirmesine karşın bu çalışmada ortaya konulan bulguların beklenenden de düşük olduğu kabul edilmektedir. Bu çalışma kapsamında *Z. rouxii* üzerine laboratuvar ortamında üretilen biberiye uçucu yağ örneklerinin

düşük etki göstermesinin ana sebebi, bitkilerin temin edildiği coğrafi bölgedeki dış etkenlerin uçucu yağ bileşimindeki etken madde konsantrasyonlarını olumsuz etkilemesi olabilir.

Hem saf halde hem de metanolla seyreltilerek yapılan uygulamalar incelendiğinde laboratuvar ortamında üretilen uçucu yağların ticari muadillerine kıyasla önemli ölçüde yüksek antimikotik etki gösterdiği ortaya çıkmaktadır ( $P<0.05$ ). Metanolla yapılan seyreltmenin, tüm uçucu yağlarda antimikotik etkiyi azalttığı görülmektedir. Saf halde uçucu yağlar dikkate alındığında *A. parasiticus* üzerinde en etkili örneğin 8 nolu fesleğen uçucu yağı olduğu görülmekte olup, 2 ve 4 nolu fesleğen yağları ile 3 nolu biberiye yağının istatistiki olarak aynı oranda antimikotik etkiyi gösterdiği anlaşılmaktadır. Metanolla seyreltme sonrası 14 nolu fesleğen yağının besiyeri üzerinde herhangi bir inhibisyon zonu oluşturulmaması deneysel bir hata olarak düşünülmektedir. Diğer taraftan ticari örnekler içerisinde T8 kodlu biberiye yağı saf halde ve seyreltilmiş halde diğer ticari yağlara oranla daha yüksek antimikotik etki göstermiştir ( $P<0.05$ ). Tada ve ark. (1996) tarafından yapılan çalışmada fesleğen ekstraktının antifungal etkisinin olmadığı bildirilmesine karşın, bu çalışmada tam tersi sonuçlar elde edilmiştir. Diğer taraftan Avestiyan ve ark. (2017), 3 farklı fesleğen türünden elde ettikleri uçucu yağları kullandıkları çalışmada, nerol açısından zengin fesleğen uçucu yağının en yüksek antimikrobiyal etkiyi gösterdiğini, fesleğen uçucu yağının ilaç ve gıda sanayinde antimikrobiyal olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçlarının paralellik gösterdiği bir diğer araştırmada ise Kocic-Tanackov ve ark. (2015) fesleğen uçucu yağının 7 mg ml<sup>-1</sup> konsantrasyonda kullanıldığında gıdalarda önemli bir kontaminant olan *Cladosporium cladosporioides* küfü üzerinde inhibitör etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada, antimikotik etkileri araştırılan uçucu yağların *A. parasiticus* üzerindeki inhibitör etkisi değişkenlik göstermiştir. Bu durumun nedenleri de uçucu yağların antimikrobiyal etkisinin bileşimlerdeki etken maddelerin kalitatif ve kantitatif değerleri, uçucu yağın elde edildiği bitkinin yetiştiği coğrafik bölgeden kaynaklanan etkenler ve bitkinin yetiştiği sezondaki iklim şartlarından etkilenmesi olarak belirtilmiştir (Reyes-Jurado ve ark., 2015). Laboratuvar ortamında üretilen uçucu yağların elde edildikleri bitkilere ait coğrafi lokasyon bilgileri incelendiğinde, en yüksek inhibitör etkiyi gösteren 8 nolu örneğin Sındırgı ilçesinden temin edilen fesleğene ait olduğu ve bu ilçenin örnek toplanan ilçeler arasında en yüksek ve denize en uzak konumda bulunduğu görülmektedir. Bu durum, ortam koşullarının bitkiye ait uçucu yağ bileşimini olumlu yönde etkilemiş olabileceği hipotezini desteklemektedir. Ancak diğer taraftan Ayvalık ve Burhaniye gibi hem denize yakın hem de alçak bir lokasyonda bulunan ilçelerden elde edilen 2 ve 4 kodlu fesleğen ile 3 kodlu biberiye uçucu yağlarının da istatistiki olarak 8 nolu örneğe yakın inhibisyon etkiye sahip olması bu durumun tersini göstermektedir. Bu benzerliğin sebeplerinden birinin bitkilerin sahile yakın kesimde yetişse dahi yüksek kesimde yetişen bitkilere benzer etken maddeleri yapılarında tutmaları olduğu söylenebilir.

Bitkisel uçucu yağların, gıda ve tarım sektöründe oksidasyonu engelleyici ajan olarak kullanımı her geçen gün artmaktadır. Aynı zamanda uçucu yağların yapısındaki fenolik bileşikler, flavonoidler ve diğer fitokimyasallar gibi antioksidan özellikli maddelerin iyi birer serbest radikal tutucu olarak aktivite gösterdiği bilinmektedir. Lipit oksidasyon prosesini geciktirme etkisine de sahip olan uçucu yağlar, aynı zamanda eklendikleri gıda maddelerinin aromasını da genellikle olumlu etkilemektedir (Tohidi ve ark. 2017). Bu çalışmada, laboratuvar ortamında üretilen ve piyasadan temin edilen ticari fesleğen ve biberiye uçucu yağlarının fenolik bileşen içeriklerine göre, laboratuvar ortamında üretilen uçucu yağların çoğunda 2.600 mg GAE L-1 seviyesinden yüksek fenolik bileşen bulunmuş olup, en yüksek değer 17.305,2 mg GAE L-1 ile Bigadiç ilçesinden toplanan 6 nolu fesleğene ait uçucu yağda tespit edilmiştir. Fesleğen bitkisinin antioksidan özelliğinin araştırıldığı bir çalışmada Naidu ve ark. (2016) toz haline getirdikleri kurutulmuş bitkiden metanolla ekstraksiyon yapmışlar ve elde ettikleri ham ekstraktın fenolik içeriğini tespit etmişlerdir. Araştırmacıların bildirdiğine göre fesleğen ham ekstraktı 45.38 mg GAE g-1 seviyesinde fenolik içeriğe sahiptir. Bu değer bizim çalışmamızda bulunan değer oldukça altındadır, ancak kullanılan materyalin uçucu yağ olmaması ve araştırmacıların kaç gram bitkiden ne kadar ekstrakt elde ettiğiyle ilgili detayı bildirmemiş olması karşılaştırma yapmayı zorlaştırmaktadır. Biberiyeden elde edilen ekstraktlar ve uçucu yağların önemli flavonoidleri ve fenolik maddeleri içerdiği literatürde bildirilmiştir. Rozmarinik asit, kafeik asit esterleri, gekwanin, diosmin ve cirsimaritin bu maddelerden bazılarıdır (Hanson, 2016). Çalışmada, uçucu yağı elde edilen biberiye örnekleri incelendiğinde, en yüksek fenolik bileşik miktarının 4.497,8 mg GAE L-1 seviyesiyle Altieylül ilçesinden elde edilen 19 nolu örnekte tespit edilmiştir. En düşük fenolik içeriğe sahip 3 nolu örneğin Ayvalık ilçesinden elde edildiği göz önüne alındığında, iki ilçe arasındaki yükselti ve denize olan uzaklık farkının fenolik madde içeriğine etki ettiği sonucu çıkarılabilir.



Ticari uçucu yağların tamamında fenolik madde içeriği, laboratuvarda üretilen örneklerden düşüktür ( $P<0.05$ ). Bu durum, ticari olarak satışa sunulan uçucu yağların denetiminde yetkili kurumlar tarafından ciddi önlemler alınması gerektiğini, bu ürünlerin etken madde içeriklerinin tespiti üzerinde kapsamlı çalışmalar yapılması gerektiğini düşündürmektedir. Bu çalışma kapsamında etken madde analizi yapılmamış olsa da ticari ürünlerdeki düşük fenolik madde içeriği bazı etken maddelerin düşük olduğuna veya bu ürünlerde taşış olması ihtimaline işaret etmektedir.

Bu çalışmada, uçucu yağlarda antioksidan kapasite değerleri, iki yöntemle tespit edilmiştir. ABTS<sup>+</sup> radikal katyonu tarafından yakalanan antioksidan madde miktarı analiz sonuçları ve DPPH radikal temizleme aktivitesi analiz sonuçları  $\mu\text{mol}$  troloks mL<sup>-1</sup> yağ cinsinden verilmiştir. Fenolik madde içeriklerine paralel olarak antioksidan özellik sonuçları da laboratuvar ortamında üretilen uçucu yağların ticari muadillerinden daha yüksek değerlere sahip olduğunu göstermiştir ( $P<0.05$ ). Alves-Silva ve ark. (2013) tarafından kişniş, kereviz ve fesleğen uçucu yağlarının antioksidan kapasite tayinini de kapsayan bir çalışma yapılmış olup, en yüksek antioksidan özellik değeri, bizim çalışmamızın da gösterdiği gibi, fesleğen uçucu yağında tespit edilmiştir. Bu çalışmada, 6 nolu fesleğen örneğinde tespit edilen 18.65  $\mu\text{L}$  mL<sup>-1</sup> değeri, Avetisyan ve ark. (2017) tarafından *O. basilicum* var. *purpureus* fesleğen türü için bulunan 22  $\mu\text{L}$  mL<sup>-1</sup> değerine oldukça yakındır. Aynı çalışmada araştırmacılar iki farklı fesleğen türünü daha test etmiş olup, daha düşük değerlere ulaşmışlardır. Antioksidan kapasite sonuçları biberiye uçucu yağları açısından incelendiğinde, en yüksek değer (3.10  $\mu\text{L}$  mL<sup>-1</sup>) Altieylül ilçesinden temin edilen bitkilerden üretilen 19 nolu örnekte bulunduğu görülmektedir. İlçenin görece olarak daha yüksek bir konumda olması ve denizden uzak oluşu bu duruma sebep olmuş olabilir.

#### 4. Sonuç

Çalışmada biberiye (*Rosmarinus officinalis* L) ve fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) bitkilerine ait uçucu yağların antimikotik ve antioksidan özellikleri araştırılmıştır. Balıkesir'in farklı ilçelerinden temin edilen biberiye ve fesleğen bitkilerinden hidrodistilasyon yöntemiyle elde edilen uçucu yağların literatür verilerine yakın seviyelerde antimikotik ve antioksidan etkiye sahip olduğu ve aynı zamanda laboratuvar ortamında üretilen bu yağların ticari muadillerinden daha yüksek antimikotik ve antioksidan etki gösterdiği belirlenmiştir. Fesleğen uçucu yağı, beklenildiği gibi, biberiye uçucu yağına göre daha yüksek antimikotik ve antioksidan etkiye sahip olarak bulunmuştur. Bitkilerin toplandığı lokasyonların denizden yüksekliği ve denize uzaklığının elde edilen uçucu yağın özelliklerini önemli ölçüde etkilediğinin görülmesi önemli bir bulgudur. Bu çalışmanın ışık tuttuğu sonuçlar doğrultusunda ilerleyen dönemlerde, farklı aromatik bitkiler ya da bunların kombinasyonları, farklı muamele konsantrasyonları ve farklı fungal kültürlerle yapılacak araştırmalar, aromatik bitkilerle sağlanan koruyuculuk etkisinin daha kapsamlı şekilde ortaya konmasını sağlayabilecektir.

Balıkesir ilçelerinden toplanan bu aromatik bitkilerin sahip oldukları koruyucu özelliklerinin yanı sıra antioksidan etkilerinin gıdalarda ilave fonksiyonel nitelikler kazandırma potansiyeline mevcut olduğu düşünülmektedir. Biyoaktif besin bileşenlerinin tespiti için yapılan toplam fenolik madde içeriği ve toplam antioksidan kapasite analizleri sonucunda, aktivite açısından en yüksek değer fesleğen uçucu yağında görülmüştür. Aromatik bitkilerin gıdalarda doğal koruyucu olarak kullanımına yönelik çalışmalarda, aromatik bitkinin, ürünün tat ve aromasında göstereceği değişimlerin tüketici tarafından kabul edilebilmesi adına önemli bir kriterdir.

Bu konuyla ilgili daha fazla araştırma ve yatırım yapıldığı takdirde, bitki çeşitliliği fazla bir ülke olan Türkiye'de bitkisel drog eldesi, bunlardan ilaç yapılması ve baharat, bitki çayı olarak kullanımı büyük bir gelişme gösterecektir. İhtiyaç fazlasının satılmasıyla da yeni bir pazar oluşması mümkündür.

#### Teşekkür

Bu çalışma Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi tarafından NKUBAP.03.YL.16.028 Nolu Yüksek Lisans Projesi olarak desteklenmiştir.

#### Etik Kurul Onayı

Bu çalışma için etik kuruldan izin alınmasına gerek yoktur.

#### Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları olarak aramızda herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederiz.

### **Yazarlık Katkı Beyanı**

Planlama: Aslan Öz, M. N., Veliöđlu, H. M.; Materyal ve Metot: Aslan Öz, M. N., Veliöđlu, H. M.; Veri toplama ve İşleme: Aslan Öz, M. N.; İstatistiki Analiz: Aslan Öz, M. N.; Literatür Tarama: Aslan Öz, M. N.; Makale Yazımı, İnceleme ve Düzenleme: Aslan Öz, M. N., Veliöđlu, H. M.

### Kaynakça

- Abay, E. (2006). *Bazı bitki ekstraktlarının antibakteriyel etkilerinin disk difüzyon yöntemiyle araştırılması*. (Yüksek Lisans Tezi) Kafkas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Kars.
- Akgül, A. (1989). Baharatların antioksidan özellikleri. *Journal of Agriculture and Forestry*, 13:11-24.
- Aktepe, B. P., Mertoğlu, K., Evrenosoğlu, Y. ve Aysan, Y. (2019). Farklı bitki uçucu yağların *Erwinia amylovora*'ya karşı antibakteriyel etkisinin belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16(1):34-41.
- Alves-Silva, J. M., Santos, S. M. D., Pintado, M. E., Perez-Alvarez, J. A., Fernandez-Lopez, J. and Viuda-Martos, M. (2013). Chemical composition and *in vitro* antimicrobial, antifungal and antioxidant properties of essential oils obtained from some herbs widely used in Portugal. *Food Control*, 32:371-378.
- Avetisyan, A., Markosian, A., Petrosyan, M., Shakyan, N., Babayan, A., Aloyan, S. and Trchounian, A. (2017). Chemical composition and some biological activities of the essential oils from basil *Ocimum* different cultivars. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(60): 1-8.
- Baytop, T. (1984). Türkiye'de Bitkilerle Tedavi. İ.Ü. Yayın No:3255, Ecz. Fak. Yayın No: 40, İstanbul.
- Benli, M., Güney, K., Bingöl, Ü., Geven, F. and Yiğit, N. (2007). Antimicrobial activity of some endemic plant species from Turkey. *African Journal of Biotechnology*, 6: 1774-1778.
- Braga, F. G., Bouzada, M. L. M., Fabri, R. L., Matos, M. O., Moreira, F. O., Scio, E. and Coimbra, E. S. (2007). Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, 111: 396-402.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1): 25-30.
- Carvalho, S., Costa, A. M., Coelho, A. C., Martins, E. and Sampaio, A. (2012). Susceptibilities of *Candida albicans* mouth isolates to antifungal agents, essential oils and mouth rinses. *Mycopathologia*, 174: 69-76.
- Ertürk, R., Çelik, C., Kaygusuz, R. ve Aydın, H. (2010). Ticari olarak satılan kekik ve nane uçucu yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri. *Cumhuriyet Tıp Dergisi*, 32: 281-286.
- Güner, K. G. (2014). Çeşitli aromatik bitkilerin, meyve kurutmada küf-mayaya gelişimi, fonksiyonel ve duyuşsal özelliklere etkileri. (Yüksek Lisans Tezi) Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Tekirdağ.
- Hanson, J. R. (2016). Rosemary, the beneficial chemistry of a garden herb. *Science Progress*, 99: 83-91.
- Kırca, A. ve Özkan, M. (2007). Değişik Amaçlı Bazı Test ve Analiz Yöntemleri. Gıda Analizleri, Cemeroglu, B. (ed.), s. 463-486, Bizim Büro Basımevi, Ankara.
- Kocic-Tanackov, S., Dimic, G., Mojovic, L., Pejin, J., Tanackov, I. and Djukic-Vukovic, A. (2015). Inhibitory effect of basil extract on the growth of *Cladosporium cladosporioides*, *Emericella nidulans*, and *Eurotium* species isolated from food. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39: 887-895.
- Malayoğlu, H. B. (2010). Biberiyenin (*Rosmarinus officinalis* L) antioksidan etkisi. *Hayvansal Üretim*, 51(2): 59-67.
- Naidu, J. R., Ismail, R. B. and Sasidharan, S. (2016). Chemical profiling and antioxidant activity of Thai basil (*Ocimum basilicum*). *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 19:750-755.
- Özcan, M. and Chalchat, J. C. (2002). Essential oil composition of *Ocimum basilicum* and *O. minimum* in Turkey. *Czech Journal of Food Science*, 20(6): 223-228.
- Panizzi, L., Flamini, G., Cioni, P. L. and Morelli, I. (1993). Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. *Journal of Ethnopharmacology*, 39: 167-170.
- Reyes-Jurado, F., Franco-Vega, A., Ramirez-Corona, N., Palou, E. and Lopez-Malo, A. (2015). Essential oils: Antimicrobial activities, extraction methods, and their modeling. *Food Engineering Reviews*, 7: 275-297.
- Rezzoug, M., Bakchiche, B., Gherib, A., Roberta, A., Kilinçarslan, Ö., Mammadov, R. and Bardaweel, S. K. (2019). Chemical composition and bioactivity of essential oils and Ethanolic extracts of *Ocimum basilicum* L. and *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. from the Algerian Saharan Atlas. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19(1): 1-10.
- Singleton, V. L. and Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology Viticulture*, 16: 144-158.
- Şahan, Z., Tel, A. and Kutay, H. (2021). Effect of *Cyclotrichium niveum* essential oil on rumen microbial fermentation and *in vitro* digestibility of barley. *Journal of Tekirdağ Agricultural Faculty*, 18: 138-145.
- Tada, H., Ikeda, Y., Omoto, T., Shimomura, K. and Isimaru, K. (1996). Rosmarinic acid and related phenolics in adventitious root cultures of *Ocimum basilicum* L. *Plant Tissue Culture Letters*, 13(1): 69-71.

- Telci, İ., Bayram, E., Yılmaz, G. ve Avcı, A. B. (2005). Türkiye’de kültürü yapılan yerel fesleğen (*Ocimum spp*) genotiplerinin morfolojik, agronomik ve teknolojik özelliklerinin karakterizasyonu ve üstün bitkilerin seleksiyonu. Tübitak-Togtag (3102) Proje Sonuç Raporu.
- Tohidi, B., Rahimmalek, M. and Arzani, A. (2017). Essential oil composition, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of *Thymus* species collected from different regions of Iran. *Food Chemistry*, 220: 153-161.
- Turan, P. (2005). *Ocimum Basilicum* L.’den elde edilen polifenol oksidaz enziminin saflaştırılması, kinetik ve elektroforetik özelliklerinin incelenmesi. (Yüksek Lisans Tezi) Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir.
- Ürüşan, H. (2021). Yüksek enerjili yemlere biberiye yaprağı (*Rosmarinus officinalis*) ilavesinin, yumurtacı tavuklarda performans, yumurta kalite kriterleri, serum lipit profile ve karaciğer yağ oranı üzerine etkisi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18:115-124.
- Vieira, R. R. N., Morais, S. M., Bezerra, F. H. Q., Ferreira, P. A. T., Oliveira, I. R. and Silva, M. G. V. (2014). Chemical composition and antifungal activity of essential oils from *Ocimum* species. *Industrial Crops and Products*, 55: 267-271.
- World Health Organization (WHO). (1998). Guidelines for the Appropriate Use of Herbal Medicines. WHO, Manila. WHO Regional Publications, Western Pacific Series no. 23. [http://www.wpro.who.int/publications/pub\\_9290611243.htm](http://www.wpro.who.int/publications/pub_9290611243.htm)
- Yeşil-Çelikaş, Ö., Hames-Kocabaş, E. E., Bedir, E., Vardar-Sukan, F., Özek, T. And Baser, K. H. C. (2007). Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*, 100: 553-559.