



## Determination of Antioxidant Properties and Composition of Rosemary and Thyme Essential Oils

Sercan Özbek Yazıcı<sup>1,a,\*</sup>, Buket Aşkın<sup>2,b</sup>, Gülce Bedis Kaynarca<sup>2,c</sup>

<sup>1</sup>Department of Nutrition and Dietetics, Faculty of Health Sciences, Mehmet Akif Ersoy University, 15030 Burdur, Turkey

<sup>2</sup>Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Kırklareli University, 39100 Kırklareli, Turkey

\*Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><i>Research Article</i></p> <p>Received : 01/05/2020 Accepted : 23/06/2020</p> <p><b>Keywords:</b> DPPH Rosemary Phenolic Thyme Essential oil</p>	<p>This study aimed to determine the antioxidant activity and chemical composition of essential oils obtained from thyme and rosemary. In our study, the yield for thyme essential oil was determined as 1.34% and the yield for rosemary essential oil was determined as 0.40%. It has been determined that there are components such as carvacrol, gamma-terpinen, thymol, terpineol, alpha-pinene, borneol, linalol in thyme essential oil. The most important components of rosemary essential oil are components such as eucalyptol, camphor, carvacrol, endo-borneol, delta-3-karen, terpineol, bornyl-acetate, o-simene. In addition, the total phenol content, antioxidant activity (DPPH) and p-anisidine values of essential oils were determined. Total phenol contents and DPPH IC<sub>50</sub> values were found to be 18.72±0.37 mg GAE/g DW and 4.74 µg extract/mL for thyme, whereas 12.11±0.29 mg GAE/g DW and 2.75 µg extract/mL for rosemary. Our study also showed good antioxidant activity of thyme and rosemary essential oils. As a result, these properties show that thyme and rosemary essential oils have a very strong potential applicability as antioxidant agents for the food and pharmaceutical industries.</p>

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 8(10): 2105-2112, 2020

## Kekik ve Biberiye Esansiyel Yağlarının Uçucu Bileşenleri ve Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi

MAKALE BİLGİSİ	ÖZ
<p><i>Araştırma Makalesi</i></p> <p>Geliş : 01/05/2020 Kabul : 23/06/2020</p> <p><b>Anahtar Kelimeler:</b> Biberiye DPPH Fenolik bileşikler Kekik Uçucu yağ</p>	<p>Bu çalışmada, kekik ve biberiyeden elde edilen bu uçucu yağların antioksidan aktivitesinin ve kimyasal bileşiminin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmamızda kekik uçucu yağı için verim %1.34 ve biberiye uçucu yağı için verim %0.40 olarak belirlenmiştir. Kekik uçucu yağında karvakrol, gamma-terpinen, timol, terpineol, alfa-pinen, borneol, linalol gibi bileşenler mevcut olduğu belirlenmiştir. Biberiye uçucu yağının en önemli bileşenleri ise ökaliptol, kamfor, karvakrol, endo-borneol, delta-3-karen, terpineol, bornil-asetat, o-simen olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, uçucu yağlara ait toplam fenol içeriği, serbest radikalleri yakalama aktivitesi (DPPH) ve p-anisidin değerleri belirlenmiştir. Toplam fenol içerikleri ve DPPH IC<sub>50</sub> değerleri, kekik için sırasıyla 18,72±0,37 mg GAE/g DW ve 4,74 µg ekstrakt/mL bulunurken biberiye için 12,11±0,29 mg GAE/g DW ve 2,75 µg ekstrakt/mL olarak hesaplanmıştır. Sonuç olarak elde edilen bulgular, kekik ve biberiye uçucu yağlarının iyi antioksidan aktivite değerine sahip olduğunu göstermektedir. Bu özellikler kekik ve biberiye uçucu yağlarını gıda ve ilaç endüstrileri için antioksidan ajanlar olarak çok güçlü bir potansiyel sahip olduğunu göstermektedir.</p>

<sup>a</sup> [sozbekekyazici@hotmail.com](mailto:sozbekekyazici@hotmail.com)

<sup>b</sup> <https://orcid.org/0000-0003-3406-4291>

<sup>c</sup> [buketaskin@klu.edu.tr](mailto:buketaskin@klu.edu.tr)

<https://orcid.org/0000-0001-6327-0946>

<sup>c</sup> [gulcebedis@klu.edu.tr](mailto:gulcebedis@klu.edu.tr)

<https://orcid.org/0000-0001-7896-457X>



## Giriş

Tıbbi ve aromatik bitkiler eski çağlardan bu yana aroma verici, koruyucu, renklendirici ve antioksidan olarak önemli bir yere sahiptir. Özellikle gıdalarda, kozmetikte ve parfümlerde aroma arttırıcı özelliklerinden faydalanılmaktadır. Bunların yanı sıra, baharat olarak kullanılması ve uçucu yağ elde edilmesi en çok tercih edilen değerlendirme yöntemi olmakla birlikte, geleneksel tıpta da yaygın kullanıma sahiptir (Viuda-Martos ve ark., 2010; Pehlivan ve Sevindik, 2018). Çok sayıda çalışma, baharatların, çoğunlukla içlerinde bulunan polifenolik bileşiklerin miktarı ve kalitesinden dolayı güçlü antioksidan özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. Bu özellik birçok gıda uygulamasında baharatlardan elde edilen ekstraktların kullanılmasına yol açmıştır. Baharatların içerdiği biyoaktif bileşenlerin antioksidan, hipolipidemik ve antibakteriyel, antienflamatuvar, antiviral ve antikanserojenik aktivitesi olduğunu gösteren birçok çalışma mevcuttur (Hossain ve ark., 2011; Cindric ve ark., 2013; Sonmezdağ ve ark., 2016; Sevindik ve ark., 2017; Mohammed ve ark., 2019). Ayrıca, sentetik koruyucuların neden olduğu sağlık sorunları, gıda ürünlerinin raf ömrünü uzatmak için uçucu yağların kullanımını popüler hale getirmektedir (Teixeira ve ark., 2013). Tüm kültürlerde baharatlar beslenmede önemli bir yere sahiptir. Gıda aromasını öne çıkartarak tuz ihtiyacını ve yağların gereksinimi düşürmekle birlikte antioksidan aktivitenin de artmasına katkı sağlamaktadır (Viuda-Martos ve ark., 2010; Mohammed ve ark., 2018).

Kekik ve biberiye ülkemizdeki aromatik bitki türleri arasında en çok bilinenlerdendir. Birçok ülkede de geleneksel tıp alanında yer almış, özellikle ilaç, kimya, gıda endüstrilerinde sağlığı iyileştirici potansiyeli sebebiyle medikal çalışmalara konu olmuştur (Viuda-Martos ve ark., 2010). Birçok esans yağının ve bileşeninin antibakteriyel ve antioksidan özellikleri incelenmiştir. Fakat bitkinin türü, hasat mevsimi, coğrafi kökeni ve ayrıca ekstraksiyon yöntemi gibi faktörler bitki esansiyel yağlarının kimyasal bileşimini ve sonuç olarak biyoaktif özelliklerini etkiler (Teixeira ve ark., 2013). Bu yüzden bu çalışmada ülkemizde ve dünyada yaygın kullanılan ve endüstriyel öneme sahip kekik ve biberiye bitkilerinden elde edilen bu uçucu yağlarının antioksidan aktivitesi ve kimyasal bileşiminin değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

## Materyal ve Yöntem

### Materyal

Çalışmada kullanılan kekik (*Thymus vulgaris* L.) ve biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) örnekleri yerel bir marketten satın alınmıştır. Örnekler, kekik ve biberiye bitkilerinin sap ve yaprak kısımlarından oluşmaktadır.

### Esansiyel Yağ Hidrodistilasyonu ve Esansiyel Yağ Veriminin Belirlenmesi

Kekik ve biberiye bitkilerine ait uçucu yağ örnekleri Clevenger düzeneğinde 3 saatlik su distilasyonu yöntemi elde edilmiştir. Esansiyel yağ verimi (v/w) hem kekik hem de biberiye yağları için hesaplanmıştır.

Uçucu yağ distilasyonu yapılacak öğütülmüş bitki örneklerinden 60 g tartılıp, 1000 mL şilifli balona konulmuş ve 600 mL distile su eklenmiştir. Kaynama başladıktan sonra bulanık sıvı akışı bitene kadar, 3 saat

boyunca distilasyona devam edilmiştir. Kaynayan bitki örnekleri su karışımında bulunan uçucu yağ su buharı ile birlikte düzeneğe yükselmekte ve düzeneğin soğutma kısmında kondanse olduktan sonra toplama balonunda iki faz halinde birikmektedir. Üst kısımda uçucu yağ olup alt kısımda biriken su geri kazanım tüpünden şilifli balona geri sirküle olmaktadır. Distilasyon sona erdiğinde musluk yardımıyla uçucu yağ toplanmıştır. Yağlardaki nemi uzaklaştırmak amacıyla susuz sodyum sülfat eklenerek çalkalanmış ve süzülmüştür. Elde edilen uçucu yağlar amber şişelerde -20°C'de analiz edilinceye kadar saklanmıştır.

### Uçucu Yağların Toplam Fenol İçeriklerinin Belirlenmesi

Esansiyel yağ örneklerine ait toplam fenol içeriği Folin-Ciocaltaeu yöntemine göre belirlenmiştir (Singleton ve Rossi, 1965). Yöntemde hazırlanan gallik asit standart eğrisi yardımıyla toplam fenolik madde miktarı "mg Gallik Asit Eşdeğeri (GAE)/g DW" olarak saptanmıştır. Örneklerle uygulanan deney prosedürü standart gallik asit çözeltisine de uygulanmıştır. Tüm deneyler üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

### Uçucu Yağların Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi

Antioksidan aktivite, DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikali yöntemi ile değerlendirildi (Sanchez-Moreno ve ark., 1998). Tüm deneyler üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Ekstrakt konsantrasyonlarının inhibisyonunu (%) Formül (1) kullanılarak hesaplanmış sonuçlar IC<sub>50</sub> = µg ekstrakt /mL olarak verilmiştir.

$$\text{Inhibisyon (\%)} = 100 \times (\text{kontrol}_{\text{abs}} - \text{örnek}_{\text{abs}} / \text{kontrol}_{\text{abs}}) (1)$$

Esansiyel yağ örneklerine ait %50 inhibisyonu sağlayan miktarları (IC<sub>50</sub>) hesaplanmıştır.

### Anisidin Değerinin Belirlenmesi

100 mL p-anisidin veya çözücü ile 1 gram yağın reaksiyonu sonucu 350 nm dalga boyunda oluşan absorpsiyon 100 katı olarak tanımlanır. Reaksiyon ürünü spektrofotometrede ölçülür. Bu test yağda bulunan ikincil parçalanma ürünlerinden aldehitlerin özellikle de 2 alkenallerin miktarını belirler (IUPAC, 1991). 25 mL'lik balon içerisine 0,5 g yağ örneği tartılacak ve iso-oktan ile hacme tamamlanmıştır. Bu çözeltinin 350 nm'de saf iso-oktana karşı absorpsiyonu okunmuştur. Ardından, iki farklı deney tüpünden birine hazırlanmış olan yağ-iso-oktan çözeltisinden 5 mL yağ solüsyonu (B1 tüpü) diğerine ise 5 mL iso-oktan (B2 tüpü) koyulmuştur. Her iki tüpe de 1 mL p-anisidin çözeltisi (asetik asit ile hazırlanmış, %0,25 w/v) ilave edilecektir. İyice vortekslenen tüpler 10 dak. süre ile karanlıkta bekletilmiştir. Bu süre sonunda B2 tüpüne karşı B1 tüpünün absorpsiyonu 350 nm'de okunmuştur. Yağ örneğine ait p-anisidin değeri Formül (2) ile hesaplanmıştır. Örneğe ait p-anisidin değeri 1-20 aralığında olmalıdır. Analizler 3 paralel ve 2 tekerrür halinde yapılmıştır.

$$\text{p-anisidin değeri} = [25 \times (1,2 \times E_b - E_a)] / W (2)$$

### **Uçucu Yağ Kompozisyonunun Belirlenmesi**

Elde edilen kekik ve biberiye yağı örneklerinin uçucu yağ bileşenleri GC/MS cihazında (Agilent 5975 C Agilent 7890A GC) aşağıdaki koşullarda belirlenmiştir: Kapiler kolon: CP-Wax 52 CB (50 m × 0,32 mm, 0,25 µm), Fırın sıcaklık programı: dakikada 2°C artarak 60°C'den 220°C'ye ulaşmış ve 220°C'de 20 dakika kadar bekletilmiştir, Toplam koşturma süresi: 95 dakika, Enjektör sıcaklığı: 240°C, Detektör sıcaklığı: 250°C, Taşıyıcı gaz: Helyum (20 mL/dak.).

### **Bulgular ve Tartışma**

#### **Uçucu Yağ Verimlerinin ve Toplam Fenolik İçeriklerinin Belirlenmesi**

Çalışmada, kekik ve biberiye bitkilerinde sırasıyla ortalama 1,34 mL/100g, 0,40 mL/100g oranlarında verimlerle esansiyel yağ elde edilmiştir (Çizelge 1). Bu çalışmada bulunan uçucu yağ değerleri yapılan bazı çalışmalarla benzerlik göstermektedir (Maral ve ark. 2017; Başkaya ve ark., 2016; Hendel ve ark., 2016; Bahtiyarca Bağdat ve ark., 2015).

Gıdalarda oksidasyonu engelleyici etkiye sahip olan esansiyel yağlar, aynı zamanda eklendikleri gıdanın aromasına da katkıda bulunmaktadır. Ayrıca, uçucu yağların yapısında bulunan fenolik bileşikler, flavonoidler ve diğer fitokimyasallar gibi doğal antioksidanların iyi birer serbest radikal tutucusu olarak aktivite gösterdiği bilinmektedir (Tohidi ve ark., 2017).

Kekik ve biberiye esansiyel yağı örneklerine ait toplam fenol miktarı sırasıyla 18,72 mg GAE/g DW ve 12,11 mg GAE/g DW olarak tespit edilmiştir (Çizelge 1). Esansiyel yağ örneklerinin toplam fenolik madde miktarları 0,9998 kalibrasyon ve  $y=0,0107x+0,1718$  standart kurve denkliği ile elde edilmiştir.

Literatürde kekik ve biberiye esansiyel yağlarının toplam fenolik miktarlarına ilişkin sonuçların çalışmamızda belirlemiş olduğumuz değerler ile benzerlik gösterdiği görülmektedir (Maral ve ark., 2017; Hendel ve ark., 2016; Nadia ve Rachid, 2016; Lemos ve ark., 2015; Alizadeh ve ark., 2013). Nadia ve Rachid (2016) tarafından yapılan çalışmada biberiyenin toplam fenol içeriği ve antioksidan aktivitesi araştırılmıştır. Çalışmada biberiyenin toplam fenol içeriği 10,42 mg GAE/g DW olarak tespit edilmiştir. Alizadeh ve ark. (2013) ise yaptıkları çalışmada farklı hasat zamanlarda hasat edilen kekiklerden elde edilen kekik esansiyel yağlarının toplam fenol içeriği ve antioksidan aktivitesi belirlenmiştir. Araştırmacılar örnekler için toplam fenol değerinin 18,82 ile 18,97 mg GAE/g DW arasında değiştiğini belirlemiştir.

Bazı çalışmalarda ise kullanılan materyalin uçucu yağ olmaması ve araştırmacıların kaç gram bitkiden ne kadar ekstrakt elde edildiği ile ilgili detay bildirmemiş olması karşılaştırma yapmayı zorlaştırmaktadır (Hendel ve ark., 2016; Alizadeh ve ark., 2013). Hendel ve ark. (2016) biberiyenin toplam fenolik içeriği metanol ekstraksiyonu ile belirlenmiş ve 128,976 mg GAE/g ekstrakt olarak belirtilmiştir. Diğer çalışmada ise, 6 farklı kekik çeşidine ait kekik yağının toplam fenol ve antioksidan aktivite özellikleri tespit edilmiştir (Maral ve ark., 2017). Araştırmacılar, kekik yağlarının toplam fenol içeriklerini 41,18-344,24 mg GAE/g ekstrakt aralığında tespit edilmiştir. Lemos ve ark. (2015) tarafından yürütülen bir

çalışmada farklı yıllar ve farklı mevsimlerde toplanan biberiyelere ait ham ekstraktlarda toplam fenolik madde miktarı araştırılmıştır. Farklı tarihlerde toplanan bitkilerin fenolik madde içerikleri 75,2-99,0 mg GAE/g ham ekstrakt aralığında tespit edilmiştir. Araştırmacılar ekstraktların bileşimindeki fenolik madde miktarının değişiklik göstermesini hava sıcaklığı, yağmur miktarı gibi iklimsel değişimlerle açıklamışlardır.

#### **Uçucu yağların antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi**

Kekik ve biberiye, *Labiatae* familyasına ait olup, yurdumuzda doğal olarak yayılış gösterirler (Gülbaba ve Özkurt, 2002). Kekik etken bileşikler, başlıca olarak %20'den fazla fenolik madde (timol+karvakrol) içermesi, ayrıca flavonoid bileşikler ve başta triterpenik maddeler kekiğe antioksidan özellik kazandıran fenolik bileşiklerdir (Botsoglou ve ark., 2003). Biberiye yapraklarında ise karnosol, rozmarinik asit ve karnosik asit gibi güçlü antioksidanlar bulunmaktadır. Karnosik asitin karnosoldan üç kat, BHT ve BHA'dan ise yedi kat fazla antioksidan aktivite gösterdiği bulunmuştur. Biberiyenin antioksidan etkisinin; öncelikli olarak türe, hasat zamanına, işlemin tipine ve en önemli faktörlerden olan gelişme ortamının çevresel ve ekolojik karakteristiklerine bağlı olduğu bildirilmektedir (Malayoğlu, 2010).

Araştırmamız kapsamında uçucu yağlarda antioksidan kapasite değerleri DPPH radikal temizleme aktivitesi analizi ile yapılmış ve IC<sub>50</sub> değerleri hesaplanarak sonuçları µg/mL ekstrakt cinsinden verilmiştir. Kekik ve biberiye esansiyel yağlarının IC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 4,74 µg ekstrakt/mL ve 2,75 µg ekstrakt/mL olarak belirlenmiştir. (Çizelge 1). Literatürde, kekik ve biberiye esansiyel yağlarının antioksidan özelliklerinin içermiş oldukları uçucu bileşenler nedeniyle yüksek olduğu bildirilmektedir (Ruberto ve Baratta, 2000). Çünkü bu bileşenlerin başlangıçta fenolik hidroksil gruplarından hidrojen vererek serbest yağ asidi radikallerinin oluşumunu engellediği ve oksidasyonu geciktirdiği düşünülmektedir (Turhan ve Tural, 2017). Yapılan birçok çalışmada kekik ve biberiye yağlarının IC<sub>50</sub> değerleri 3 µg/mL ekstrakt 12 µg/mL ekstrakt arasında olduğu ve elde ettiğimiz sonuçlarla yakın olduğu görülmektedir (Sirocchi ve ark., 2016; Hendel ve ark., 2016; Alizadeh ve ark. 2013). Ancak bazı çalışmalar ile farklılıklar gözlemlenebilmektedir. Daha önce belirtildiği gibi çeşit, hasat zamanı, çevre koşulları, ekstraksiyon yöntemi, kullanılan çözügen, aktif bileşen içeriği gibi faktörler bu farklılıklara neden olmaktadır (Turhan ve Tural, 2017).

#### **p-anisidin Değerlerinin Belirlenmesi**

Gıdaların hazırlanması ve tüketilmesi sırasında ortaya çıkan en önemli değişikliklerden biri oksidasyondur. Bu nedenle gıdalarda bazı sentetik ve doğal antioksidanlar kullanılmaktadır. Yapısında flavonoidler, fenolik bileşikler ve onların türevleri olan bitkisel ürünlerin otooksidasyonu önlemede etkili oldukları ortaya konmuş ve etki mekanizmaları serbest radikalleri temizleme, metal iyonlarla bileşik oluşturma, oksijen oluşumunu engelleme veya azaltma şeklinde açıklanmıştır. Ayrıca bu bileşikler aromatik halkalarının hidroksil gruplarındaki hidrojeni vererek besin maddelerinin serbest radikallerce okside olmalarını engellemektedir. Özellikle son yıllarda fenolik

bileşiklerce zengin adaçayı, kekik, biberiye ve karanfil gibi tıbbi ve aromatik bitkilerin gıdalarda koruyucu madde olarak kullanımlarına yönelik çalışmalar artmıştır. Bu amaçla özellikle biberiye ticari kullanımının da mevcut olduğu bilinmektedir (Malayoğlu, 2010).

p-anisidin testi, işleme sırasında yağlarda oluşan uçucu olmayan karbonil bileşikler hakkında faydalı bilgiler sağlar. Genellikle ikincil oksidasyon ürünlerini tespit etmek için kullanılır. Doymamış aldehitler ve trigliserit dimerler ve anisidin ile reaksiyona giren yağ asitlerinin uçucu olmayan kısımları gibi yüksek moleküler ağırlıklı ayrışma ürünleri, lipit oksidasyonunun iyi göstergeleridir. p-anisidin değerine sahip kolorimetrik yanıt, aldehit bileşenlerinin miktarına ve ayrıca yapılarına bağlıdır (Gökoğlu ve ark. 2012). Çalışmalarda, kaliteli bir yağ için p-anisidin değerinin ikiden az olması gerektiği ifade edilmiştir (Choo, 2007). Çalışmamızda kekik esansiyel yağı p-anisidin değeri 1,5507 ve biberiye esansiyel yağı p-anisidin değeri 0,9850 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 1). Literatürde p-anisidin değerleri, çörek otu yağı 0,72-2,01, ısırgan otu yağı için 0,25-1,43, keten yağı için 0,25-1,43, susam yağı için 0,36-1,04, üzüm çekirdeği yağı için 0,19-1,21 kabak çekirdeği yağı için 0,83-3,46 aralıklarında yer almıştır (Vujasinovic ve ark., 2010; Choo, 2007). Depolama gibi oksidasyonu teşvik eden faktörlere maruz kalındığında yağların p-anisidin değerlerinde artış

meydana gelmektedir. Örneğin Prescha ve ark. (2014) kabak çekirdeği yağında yaptıkları çalışmada, 12 ay depolamanın sonunda artan oksidasyon ile p-anisidin değerlerinin %33 oranında arttığını tespit etmiştir. Diğer birçok çalışmada ise, kızartma yağlarına baharat uçucu yağları ilave edilerek oksidatif stabiliteilerinin artırılması hedeflenmiştir. Yang ve ark. (2016)'nın yaptıkları çalışmada bitkisel yağa biberiye özü ilave edilmiş, sentetik antioksidan ilave edilmiş ve antioksidan ilave edilmemiş yağların oksidatif stabiliteileri karşılaştırılmıştır. Araştırmacılar, biberiye özü ilave edilmiş yağların oksidatif stabilitesinin antioksidan ilave edilmemiş ya da sentetik antioksidan ilave edilmiş yağlardan daha yüksek olduğunu tespit etmiştir. Çalışmada, biberiye özünün yağlarda doğal antioksidan olarak kullanılabileceği sonucuna ulaşılmıştır. Maskan ve ark. (2006) kara kekik ekstraktının kızartma işleminde kullanılan mısır özü yağı üzerine olan etkilerini araştırmış, 50 kızartmanın sonunda p-anisidin değeri kızartma boyunca kontrol örneklerinde 9,08-64,30 aralığında değişirken ekstrakt katkılı yağda 9,08-34,94 olduğu belirtilmiştir. Literatürde benzer şekilde birçok çalışmada, çeşitli bitkisel yağlara kekik ve biberiye uçucu yağları veya ekstraktları ilave edilerek bitkisel yağların oksidasyon stablitesinin artırıldığı ortaya konmuştur (Akçar ve Gümüskesen, 2012; Nilüfer ve ark., 2004).

Çizelge 1. Kekik ve biberiye esansiyel yağı örneklerine ait verim, toplam fenol miktarları (mg GAE/g DW), IC50 ve p-anisidin değerleri.

Table 1. Yield, total phenol amounts (mg GAE/g DW), IC50 and p-anisidine values of Thyme and Rosemary essential oil.

Örnek	Verim (%)	Toplam Fenol Miktarı (mg GAE/g DW)	IC <sub>50</sub> (µg ekstrakt /mL)	p-anisidin
Kekik	1,34±0,23	18,72±0,37	4,74±0,17	1,5507±0,03
Biberiye	0,40±0,16	12,11±0,29	2,75±0,19	0,9850±0,03

\*Elde edilen sonuçlar ortalama değer ± standart sapma olarak verilmiştir.

### Uçucu Bileşenlerinin Belirlenmesi

GC/MS analizlerine göre kekik ve biberiye esansiyel yağlarını meydana getiren uçucu bileşenlerinin asiklik monoterpen alkoller (linalool, terpineol, borneol, timol, karvakrol gibi), siklik monoterpenler (fellandren, beta-fellandren, limonen, trans beta karyofilen gibi), seskiterpen hidrokarbonlar (alloaromadendrene, beta-bisabolene gibi), oksitler (karyofilen oksit gibi), alken ve aldehitler (alfa-pinen, nonanal, karvakrol metil eter gibi) olduğu tespit edilmiştir.

Kekik esansiyel yağında 26 adet ve biberiye yağında 40 adet uçucu bileşen tespit edilmiştir. Kekik yağında bulunan majör komponentler karvakrol (%59,79), gamma terpinen (%11,16), linalool (%6,5), timol (%5), borneol (%2,38), beta-bisabolene (%2,33), alfa-terpinen (%1,80), alfa-tujen/alfa-pinen (%1,80), terpineol (%1,78), trans-betakaryofillen (%1,33)'dir (Çizelge 2). Diğer bileşenler ise %1'den daha az oranda bulunmaktadır.

Uçucu bileşikler, kekik türlerinin en önemli özelliklerinden biridir ve kekik ile kekik içeren gıda ürünlerinin tüketici kabulünü büyük ölçüde etkilemektedir. Kekik monoterpenler, seskiterpenler, alkoller, hidrokarbonlar, oksitler, aldehitler ve fenoller içeren uçucu bileşenlerin kaynağı olarak kabul edilmektedir (Botsoglou ve ark., 2003; Sonmezdag ve ark., 2016). Kekik esansiyel yağında bulunan uçucu bileşenleri araştıran oldukça fazla sayıda literatür bulunmaktadır. Ancak,

çalışmalarda yer alan bir diğer bilgi kekik uçucu bileşenlerinin yetiştiği yere göre farklılık taşımasıdır (Martins ve ark., 2015; Sonmezdag ve ark., 2016). Bu durum yöresel farklılıkların aynı tür üzerinde farklı oranlarda bileşenlerin ortaya çıkabileceğini göstermektedir. Çevre faktörlerinin de (sıcaklık, yağış, ışıklandırma süresi ve şiddeti, rakım, bakı, kuraklık, tuzluluk, toprak besin maddeleri ve toprak yapısı gibi) etken madde sentezi ve birikimi üzerine büyük etki ettiği bilinmektedir (Baydar, 2007). Bu farklılık, literatürde kekik yağı antioksidan aktivite değerlerinin geniş bir aralıkta değişim göstermesini de açıklamaktadır. Örneğin, çalışmalarda bazı *Thymus* türlerinde majör bileşen timol iken, bazılarında ise karvakrol olduğu belirlenmiştir. *Origanum dubium*, *O. vulgare* subsp. hirtum ve *Thymbra spicata* gibi kekik türlerinde karvakrol ve diğer oksijenli bileşikler yüksek oranda bulunduğu için yüksek toplam fenolik etki göstermiştir (Maral ve ark., 2017).

Bu bileşenlerin biyosentezini inceleyen çalışmalarda ise, gama-terpinenin aromatisasyon aşamasından sonra p-simen'e dönüştüğü ve ardından hidroksilasyon ile timol ve karvakrol oluştuğu yer almaktadır (Alizadeh ve ark., 2013). Yine bu çalışmalarda varılan ortak görüş, oluşan timol miktarının çiçeklenme aşamasında en yüksek seviyeye ulaşması ve bu dönemin hemen sonrasında ise miktarının azalması olmuştur.

Biberiye uçucu yağında ise ökaliptol (1,8-sineol) (%26,17), endo-borneol (%13,26), delta-3-karen (%11,54), kamfor (%9,70), alfa-tujen/alfa pinen (%7,16), kamfen (%4,09), bornil asetat (%3,35), 4-terpineol (%2,89), karvakrol (%2,40), selta-terpineol (%2,33), o-simen (%2,29), bisiklo[3.1.1] heptan-3-one, 2,6,6-trimetil-pinanone (%1,20), karofillen oksit (%1,16), isopinokamfon (%1,15) ve timol (%1,03)'dür (Çizelge 3). Diğer bileşenler ise %1'den daha az oranda bulunmaktadır (Çizelge 3). Yapılan çalışmalarda biberiyenin genotiplerine göre uçucu bileşenlerinde farklılık görüldüğü yer almaktadır (Kırpık, 2005). Çalışmamızda biberiyede en çok ökaliptol (1,8-sineol) (%26,17) bileşiği tespit edilmiştir. Ancak yapılan çalışmalarda farklı bölgede, ilde ve hatta aynı ile ait farklı yüksekliklerde bulunan ilçelerde yetişen biberiyelere ait esansiyel yağların majör uçucu bileşenlerinin farklılık gösterebileceği bildirilmiştir. Birçok çalışmada, biberiye uçucu yağının ökaliptol (1,8-sineol), kamfor-borneol, alfa pinen-verbönen ve mirsen tipi olduğu yer almıştır. Bazı çalışmalarda sineol, verbönen ve kamphor-alfa pinen-borneol olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır (Kırpık, 2005; Tewari ve Virmani, 1987). Farklı çalışmalarda biberiye esansiyel yağının başlıca iki farklı bileşene göre ayırt edildiği ifade edilmiştir (Yıldırım, 2018). Birinci grup %40'tan fazla ökaliptol (1,8-sineol) içeren biberiye uçucu yağları (Fas, Tunus, Türkiye, Yugoslavya, Yunanistan, İtalya, Fransa) ve ikinci grup ise yaklaşık olarak eşit oranda ökaliptol (1,8-sineol), alfa pinen ve kamfor içeren biberiye uçucu yağlarıdır (İspanya, Fransa, İtalya, Bulgaristan, Yunanistan). Diğer bazı

çalışmalarda ise biberiye uçucu yağlarının genel olarak, İspanya çeşitlerinin  $\alpha$ -pinen kemotipi, Fransa çeşitlerinin bornil asetat kemotipi, Portekiz çeşitlerinin mirsen kemotipi ve Mısır çeşitlerinin verbenon kemotipi olduğu ifade edilmiştir (Satyal ve ark., 2017; Yıldırım, 2018).

Tvassoli ve ark. (2011) ve Rahman ve ark. (2007) gibi birçok çalışmada biberiye uçucu yağının majör uçucu bileşeni ökaliptol (1,8-sineol) olarak tespit edilmiştir. Yıldırım (2018), Tawfeeq ve ark. (2016) ve Ait Ouazzou ve ark. (2012) gibi çalışmalarda da biberiye esansiyel yağının  $\alpha$ -pinene bileşeni olduğu bildirilmiştir.

Elde edilen veriler her bir bileşen için distilasyon süresinin farklı düzeyde ve yönde etkisinin olabileceğini göstermektedir. Araştırma bulguları distilasyon süresine bağlı olarak elde edilen uçucu yağ oranlarında önemli farklılıklar olduğunu göstermiştir. Toplam uçucu yağın ilk on dakikalık distilasyon süresinde yarım fazlasının elde edildiğini göstermektedir. Bu veriler distilasyon süresinin ilerleyen aşamalarında eşit zaman aralığı için elde edilen uçucu yağ miktarında oransal bir azalma olduğunu göstermektedir (Gölükçü ve ark., 2017). Literatürde, biberiye esansiyel yağının uçucu bileşen kompozisyonu üzerine etkili olan diğer bir faktörün kuraklık stresi olduğu yer almaktadır. Uçucu bileşenlerden alfa-pinen,  $\beta$ -misen ve kafur yüzdesinin kuraklıkla arttığı, ancak  $\beta$ -pinen yüzdesinin azaldığı ortaya konmuştur (Kulak, 2019). Biberiye esansiyel yağının uçucu bileşen kompozisyonu üzerine etkili olan bu faktörlerin dışında toprak, iklim, rakım ve mevsim de etkili olmaktadır (Yıldırım, 2018).

Çizelge 2. Kekik Esansiyel Yağlarına ait Uçucu Bileşen Kompozisyonları  
Table 2. Volatile Compositions of Thyme Essential Oils

Bileşen	RT	Oran, %
Alfa-tujen/Alfa-pinen	16,012	1,798
Kamfen	18,100	0,488
Beta pinen	20,174	0,185
Beta-mirsen	21,916	1,48
Fellandren	23,288	0,161
Alfa-terpinen	24,046	1,804
D1-limonen	25,261	0,351
Beta-fellendren	25,817	0,241
Gamma-terpinen	27,874	11,156
Alfa-terpinolen	30,189	0,218
1-octen-3-ol	33,696	0,185
Nonanal	34,453	0,022
Linalool oksit	35,315	0,048
2,3,3-Tirmitil-3-siklopenten asetaldehit	39,348	0,078
Linalool	40,890	6,500
2-sikolhekzen-1-ol, 1-metil-4-(1-metiletil)-trans	42,731	0,205
Terpineol	45,970	1,782
Karvakrol metal ester	47,041	0,332
Borneol	50,007	2,376
2-siklohekzen-1-one, 2-metil-5-(1-metiletetil)-, (S)-	52,598	0,424
Trans beta karyofillen	54,107	1,325
Alloaromadendren	55,124	0,237
Timol	56,311	5,008
Beta-bisabolen	60,143	2,329
Karyofilen oksit	71,229	0,924
Karvakrol	73,774	59,789
Kadinen	78,391	0,555

Çizelge 3. Biberiye Esansiyel Yağlarına ait Uçucu Bileşen Kompozisyonları

Table 3. Volatile Compositions of Rosemary Essential Oils

Bileşen	RT	Oran, %
Alfa-tujen/Alfa-pinen	16,205	7,163
Kamfen	18,068	4,093
Verbenen	19,728	0,170
Beta pinen	20,244	0,523
Beta-mirsen	21,911	0,666
Fellandren	23,268	0,064
Alfa-terpinen	24,044	0,185
Ökaloitol (1,8-sineol)	25,451	26,173
O-simen	25,729	2,285
Alfa-terpinolen	30,109	0,052
3-oktenol	31,444	0,010
1-Okten-3-ol	33,686	0,191
Cis Linalool oksit	35,283	0,026
Filifolon	35,783	0,084
Isopropeniltoluen	36,548	0,135
Kamfolaldehit	39,392	0,104
Kamfor	41,226	9,701
Bisiklo[3,1,1]heptan-3-one, 2,6,6-trimetil-/pınanone	41,678	1,196
İsopinokamfon	43,241	1,148
Fençil alkol	43,699	0,78
Metil kamfenilol	45,282	0,428
4-terpineol	45,955	2,887
Bornil asetat	46,883	3,346
Verbenol	47,879	0,465
Delta-terpineol	48,703	2,326
Endo-borneol	50,108	13,255
Delta-3-karen	50,347	11,539
2-sikloheksan-1-one, 2-metil-5-(1-metiletlenil)-/Karvon	52,542	0,796
Beta-sitronellol	53,006	0,555
Trans-karyofilen	54,112	0,265
Bis(Biklo[2,1,1]heksan	54,687	0,265
p-simen-7-ol	56,313	0,677
Bisiklo[4,1,0]heptan, 7-(1-metiletiden)-	58,744	0,168
Neril aseton	61,375	0,174
Piperitenon	62,037	0,179
Metilögenol	65,989	0,203
Timol	71,227	1,031
Karvakrol	73,478	2,403
Karofillen oksit	83,642	1,164

## Sonuç

Aromatik bitkiler ve bu bitkilerden elde edilen esansiyel yağlar, yüzlerce yıldır tüm dünyada ve ülkemizde gıdalarda koruyucu, aroma ve lezzet verici olarak, halk arasında alternatif bitkisel tedavilerde, kozmetik alanında ve aromaterapi amaçlı kullanılmaktadır. Kekik ve biberiye antioksidan ve fenolik bileşen içeriği ile önemli olan aromatik bitkilerdendir. Çalışmamızda kekik esansiyel yağı için 27 adet ve biberiye için 39 adet uçucu bileşen tespit edilmiştir. Ayrıca uçucu yağların, yüksek toplam fenol içerik ve antioksidan aktivite gösterdiği bulunmuştur. Bu nedenle kekik ve biberiyeden elde edilen uçucu yağların antioksidan etkilerinin gıdalarda ilave fonksiyonel nitelikler kazandırma potansiyeli olduğu görülmektedir. Sonuç olarak bu özellikler kekik ve biberiye uçucu yağlarını, gıda ve ilaç endüstrileri için potansiyel antioksidan ajanlar olarak öne çıkartmaktadır.

## Kaynaklar

- Ait Ouazzou A, Abdenour LS, Arakrak A, Laglaoui A, Rota C, Herrera A, Pagan R, Conchello P. 2012. Evaluation of the chemical composition and antimicrobial activity of *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea*, and *Cyperus longus* essential oils from Morocco. Food Res Int, 45(1):313-319. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.09.004>.
- Akçar HH, Gümüşkesen AS. 2012. Çeşnili Zeytinyağlarının Kalite Kriterlerinin Belirlenmesi. GIDA, 37(6):333-340.
- Alizadeh A, Alizadeh O, Amari G, Zare M. 2013. Essential oil composition, total phenolic content, antioxidant activity and antifungal properties of Iranian *Thymus daenensis* subsp. *daenensis* Celak. as influenced by ontogenetical variation. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 16(1):59-70. DOI: <https://doi.org/10.1080/0972060X.2013.764190>
- Bahtiyarca Bağdat R, Ipek A, Arslan N. 2015. Comparison of the yield and quality parameters of certain 'kekik' species grown in central Turkey. International Journal of Advanced Research in Engineering and Applied Sciences, 4(2): 45-58.

- Başkaya Ş, Ayanoğlu, F, Bahadırılı P. 2016. Biberiye (*Rosmarinus officinalis L.*) Bitkisinin Uçucu Yağ Oranı, Uçucu Yağ Bileşenleri ve Antioksidan İçeriğinde Morfogenetik ve Ontogenetik Varyabilite, Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 21(1):12-20.
- Baydar H. 2007. Tıbbi, Aromatik ve Keyf Bitkileri Bilimi ve Teknolojisi (2. Baskı). Süleyman Demirel Üniversitesi Yayın No: 51. Isparta.
- Botsoglou NA, Grigoropoulou SH, Botsoglou E, Govaris A, Papageorgiou G. 2003. The effects of dietary oregano essential oil and  $\alpha$ -tocopherol acetate on lipid oxidation in raw and cooked turkey during refrigerated storage. Meat Sci, 65:1193–1200. DOI:http://doi.org/10.1016/S0309-1740(03)00029-9.
- Choo CW. 2007. Information seeking in organizations: epistemic contexts and contests. Information Research, 12(2):12-2.
- Cindric IJ, Zeiner M, Glamuzina E, Stingeder G. 2013. Elemental characterisation of the medical herbs *Salvia officinalis L.* and *Teucrium montanum L.* grown in Croatia. Microchem J, 107:185–189. DOI:http://doi: 10.1016/j.microc.2012.06.013.
- Gököğlü N, Yerlikaya P, Topuz OK. 2012. Effects of tomato and garlic extracts on oxidative stability in marinated anchovy. Journal of Food Processing and Preservation, 36(3), 191-197. DOI: http://doi: 10.1111/j.1745-4549.2011.00576.x .
- Gölükçü M, Tokgöz H, Turgut DY. 2017. Defne (*Laurus nobilis*) Uçucu Yağ Bileşimi Üzerine Distilasyon Süresinin Etkisi. Food and Health, 4(1):37-42. DOI:http://doi: 10.3153/JFHS18005
- Gül Baba, AG, Özkurt, N. 2002. Adana ve Mersin Yöresi Doğal Biberiye (*Rosmarinus officinalis L.*) Pouplasyonlarının Alan, Yaprak ve Yağ Verimlerinin Belirlenmesi, 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiriler
- Hendel N, Belbey L, Larous L. 2016. Antioxidant activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) and its in vitro inhibitory effect on *Penicillium digitatum*. Food Res Int, 23(4): 1725-1732.
- Hossain MB, Barry-Ryan C, Martin-Diana AB, Brunton NP. 2011. Optimisation of accelerated solvent extraction of antioxidant compounds from rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*), marjoram (*Origanum majorana L.*) and oregano (*Origanum vulgare L.*) using response surface methodology. Food Chemistry, 126(1), 339-346. DOI:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.076.
- IUPAC Commission on Macromolecular Nomenclature, Nomenclature of regular single-strand organic polymers (Recommendations 1975), Pure Appl Chem, 48: 373-385 (1976); Compendium of Macromolecular Nomenclature', Blackwell Scientific Publications, Oxford (1991).
- Kırpık M. 2005. Seasonal and Diurnal Variability of Essential Oil and its Components in *Origanum onites L.* Grown in the Ecological Conditions of Çukurova. Grasa Aceites, 56 (4): 254-258. DOI: http://doi.org/10.3989/gya.2005.v56.i4.89.
- Kulak M. 2019. A Time-Course Study on Essential Oil of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) Under Drought Stress. ADYU J SCI, 9(1): 165-189.
- Lemos MF, Lemos MF, Pacheco HP, Endringer DC, Scherer R. 2015. Seasonality Modifies Rosemary's Composition and Biological Activity. Ind Crop Prod, 70: 41- 47. DOI: https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.02.062
- Malayoğlu BH. 2010. Biberiye'nin (*Rosmarinus officinalis L.*) antioksidan etkisi. Hayvansal Üretim, 51(2):59-67.
- Maral H, Türk M, Çalışkan T, Kafkas, NE, Kırıcı S. 2017. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils of six Labiates growing in Southern Turkey. Natural Volatiles and Essential Oils, 4(4):62-68.
- Martins N, Barros L, Santos-Buelgo C, Henriques M, Silva S, Ferreira ICFR. 2015. Evaluation of bioactive properties and phenolic compounds in different extracts prepared from *Salvia officinalis L.* Food Chemistry, 170:378–385, DOI: doi:10.1016/j.foodchem.2014.08.096.
- Maskan M, Nacaroğlu S, Göğüş F. 2006. Kara kekik (*Thymbra spicata*) uçucu yağının kızartma işleminde kullanılan mısır özü yağının kalite değerleri üzerine etkisi, Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu, 365-368.
- Mohammed FS, Karakaş M, Akgül H, Sevindik M. 2019. Medicinal Properties of *Allium calocephalum* Collected from Gara Mountain (Iraq). Fresen Environ Bull, 28(10): 7419-7426.
- Mohammed FS, Akgul H, Sevindik M, Khaled BMT. 2018. Phenolic content and biological activities of *Rhus coriaria var. zebaria*. Fresenius Environmental Bulletin, 27(8): 5694-5702.
- Nadia Z, Rachid M. 2016. Antioxidant Activity of Flavonoids Isolated from *Rosmarinus officinalis L.* Journal of Plant Science & Research, 3 (1): 142-148.
- Nilüfer D, Alkan O, Capanoglu E, Boyacioglu D. 2004. Antioxidative effect of different herbs and garlic in olive oil. IFT Annual Meeting, 12-16 July 2004, Las Vegas, USA.
- Prescha, A, Grajzer, M., Dedyk, M, Grajeta, H. 2014. The Antioxidant Activity and Oxidative Stability of Cold-Pressed Oils. J. Am. Oil Chem. Soc. 91:1291–1301.
- Pehlivan M, Sevindik M. 2018. Antioxidant and antimicrobial activities of *Salvia multicaulis*. Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology, 6(5): 628-631.
- Rahman AK, Singh SK, Singh A, Yadav A, Khanuja SP. 2007. Qualitative analysis of essential oil of *Rosmarinus officinalis L.* cultivated in Uttaranchal Hills, India. Journal of Spices and Aromatic Crops, 16: 55–57.
- Ruberto G, Baratta MT, 2000. Antioxidant Activity of Selected Essential Oil Components in Two Lipid Model Systems. Food Chemistry, 69:167-174:DOI: http://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00247-2.
- Sanchez-Moreno, C, Larrauri, JA, Saura-Calixto, FA. 1998. Procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. J Sci Food Agric, 76:270–276
- Satyal P, Jones TH, Lopez EM, McFeeters RL, Awadh Ali NA, Mansi I, Al-kaf AG, Setzer WN. 2017. Chemotypic Characterization and Biological Activity of *Rosmarinus officinalis*. Foods, 6: 20-28. DOI: http://doi.org/10.3390/foods6030020.
- Sevindik M, Akgul H, Pehlivan M, Selamoglu Z. 2017. Determination of therapeutic potential of *Mentha longifolia ssp. longifolia*. Fresen Environ Bull, 26(7): 4757-4763.
- Singleton V, Rossi J. 1965. Colorimetry of Total Phenolic Compounds with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16: 144-158.
- Sirocchi V, Devlieghere F, Peelman N, Sagrotini G. 2016. Effect of *Rosmarinus officinalis L.* essential oil combined with different packaging conditions to extend the shelf life of refrigerated beef meat. Food Chemistry, 221:1069-1076. DOI: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.054.
- Sonmezdağ AS, Kelebek H, Selli S. 2016. Characterization of aroma active and phenolic profiles of wild thyme *Thymus serpyllum* by GC MS Olfactometry and LC ESI MS MS. J Food Sci Tech Mys, 53(4): 1957–1965. DOI: https://doi: 10.1007/s13197-015-2144-1
- Tawfeeq A, Culham A, Davis F, Reeves M, Michael N. 2016. The influence of genetic variation on essential oil composition in *Rosmarinus officinalis L.* the common rosemary. 9th Joint Natural Products Conference, 24-27 July, Copenhagen, Denmark.
- Teixeira B, Marques A, Ramos C, Neng NR, Nogueira JM, Saraiva JA, Nunes ML. 2013. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. Ind Crop Pros, 43: 587-595. DOI: https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.07.069.

- Tewari R, Virmani, OP. 1987. Chemistry of Rosemary Oil: A Review. Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants, 9:185-197.
- Tvassoli SK, Mousavi M, Djomeh ZE, Razavi SH. 2011. Chemical composition and evaluation of antimicrobial properties of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil. Afr J Biotechnol, 10(63):13895-13899. DOI: [https://doi: 10.5897/AJB11.788](https://doi.org/10.5897/AJB11.788).
- Tohidi B, Rahimmalek M, 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. DOI: [https://doi: 10.1016/j.foodchem.2016.09.203](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.203).
- Turhan S, Tural S. 2017. Kekik (*Thymus vulgaris* L.), Biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) ve Defne (*Lauris nobilis* L.) Uçucu Yağlarının ve Karışımlarının Antimikrobiyal ve Antioksidan Özellikleri. GIDA, 42(5):588-596. DOI: [https://doi:10.15237/gida.GD17030](https://doi.org/10.15237/gida.GD17030).
- Viuda-Martos M, Navajas, YR, Zapata ES, Fernández-López J, Pérez-Álvarez JA. 2010. Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet. Flavour and Fragrance Journal, 25(1):13-19. DOI:<https://doi.org/10.1002/ffj.1951>.
- Vujasinovic PV, Djilas S, Dimic E, Romanic R, Takaci A. 2010. Shelf Life of Cold-Pressed Pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) Seed Oil Obtained with a Screw. J Am Oil Chem Soc, 87:1497-1505. DOI: <https://10.1007/s11746-010-1630-x>.
- Yang Y, Song X, Sui X, Qi B, Wang Z, Li Y, Jiang L. 2016. Rosemary extract can be used as a synthetic antioxidant to improve vegetable oil oxidative stability. Industrial Crops and Products, 80:141-147. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.11.044>.
- Yıldırım ED. 2018. The Effect of Seasonal Variation on *Rosmarinus officinalis* (L.) Essential Oil Composition. Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi, 4(1):33-38. DOI: <https://doi.org/10.24180/ijaws.381564>.