

KONYA GIDA VE TARIM ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

***CİSTUS* EKSTRAKTININ KOKTEYL SOSİSLERDE
ANTIOKSİDAN OLARAK KULLANIMININ
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

A***r P***K**

KONYA

HAZİRAN, 2021

KONYA GIDA VE TARIM ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***CİSTUS* EKSTRAKTININ KOKTEYL SOSİSLERDE ANTİOKSİDAN
OLARAK KULLANIMININ ARAŞTIRILMASI**

A***r P***K**

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Aa G*****U**

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Meram-KONYA

HAZİRAN, 2021

A*****r P***K tarafından hazırlanan '*Cistus* Ekstraktının Kokteyl Sosislerde Antioksidan Olarak Kullanımının Araştırılması' adlı bu çalışma 24/06/2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI'nda YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi A**a G*****U
Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi

Başkan : Prof. Dr. M*****r S*****N
Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. A*****h Ö***Z
Necmettin Erbakan Üniversitesi

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Doç. Dr. G***a B***E
Anabilim Başkanı

Fen Bilimleri Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. S*****r B*****L
Müdür

ÖZET

CİSTUS EKSTRAKTININ KOKTEYL SOSİSLERDE ANTIOKSİDAN OLARAK KULLANIMININ ARAŞTIRILMASI

P***K, A*****r

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi A**a G*****U

Haziran 2021, 89 sayfa

Bu çalışmanın amacı *Cistus creticus* bitkisinin su bazlı ekstraktının antioksidan potansiyelini, kokteyl tipi sosislerde araştırmaktır. Bu amaçla (1) sulu ekstraksiyon uygulanarak elde edilen *Cistus* ekstraktının antioksidan kapasitesi DPPH ve FRAP metotları kullanılarak analiz edilmiş ve toplam fenolik ve flavonoid madde miktarı belirlenmiştir. (2) Toz halindeki *Cistus* ekstresi kokteyl sosis formülasyonunda askorbik asit ve sodyum askorbat yerine antioksidan olarak kullanılmış ve kalite parametreleri üzerindeki etkisi (TBARS, hem demir, nitrosomyoglobin, su aktivitesi, pH, su tutma kapasitesi, renk (L^* , a^* , b^*)) ve mikrobiyal bozulmaya yol açan organizmaların gelişimlerine etkisi modifiye atmosfer ile paketlenmiş, 4 °C'de saklanmış ürünlerde depolama periyotlarında araştırılmıştır. *Cistus* ekstraktının %0,1 oranında kullanıldığı CC3 örnek grubunun, askorbik asit ve sodyum askorbat içeren kontrol örnek grubuna (K) karşı 1 hafta daha geç bozulduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, kontrol (K) ve *Cistus* ekstresi ile hazırlanan örnek grupları (CC1, CC2, CC3) arasında lipid oksidasyonu açısından bir fark görülmemiştir ($p > 0,05$). Bu çalışmada *Cistus creticus* ekstresinin kokteyl sosislerde antioksidan olarak askorbik asit ve sodyum askorbat yerine kullanılabilir doğal bir alternatif olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: *Cistus creticus*, Sosis, Antioksidan, DPPH, TBARS, Toplam mezofilik bakteri

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE USE OF *CISTUS* EXTRACT AS AN ANTIOXIDANT IN COCKTAIL SAUSAGES

P***K, A*****r

MSc in Food Engineering Program

Supervisor: Dr. A**a G*****U

June 2021, 89 pages

The purpose of the study was to investigate the antioxidant potential of *Cistus creticus* extract in cocktail sausages. For this purpose (1) DPPH and FRAP antioxidant values as well as total polyphenol and total flavonoid values of *Cistus creticus* water extract was determined. (2) Powder form of cistus extract was used in the sausage formulation against the control formulation which had sodium ascorbate and ascorbic acid as antioxidants. The effect of cistus extract on cocktail sausage quality parameters (TBARS, WHC, a_w , pH, Hunter color values (L^* , a^* , b^*), heme iron, nitrosomyoglobin, total mesophilic bacteria, total psychrophilic bacteria, lactic acid bacteria and, yeast and mold) was investigated under modified atmosphere packaging during storage at 4 °C. CC3 samples, which had 0.1% *Cistus* extract, extended the shelf life of the cocktail sausages one week in comparison to control sausages. Furthermore, the results of the lipid oxidation was not different ($p > 0.05$) between control (C) and *Cistus* extracts (CC1, CC2, CC3). This study demonstrated that *Cistus creticus* extract can be used in sausage formulations as a natural alternative to ascorbic acid and sodium ascorbate.

Anahtar Kelimeler: *Cistus creticus*, Sausage, Antioxidant, DPPH, TBARS, Total mesophilic bacteria

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın yürütülmesinde ve araştırmamın her aşamasında bana destek olan, bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösteren, karşılaştığım her zorlukta yardımcı olan ve beni motive eden saygıdeğer hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi A**a G*****U'na minnettarım.

Çalışmamın ortaya çıkmasında hiçbir konuda yardımını esirgemeyen kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. M*****r S*****N'e ve araştırmalarımda bana yol gösteren Sayın Dr. Öğr. Üyesi E**i A***Ç hocama, tezimin yazım aşamasında desteğini aldığım Prof. Dr. S*****r B*****L hocama, bu araştırmanın gerçekleşmesinde katkıda bulunan Panagro Tarım Hayvancılık Gıda Sanayii ve Ticaret A.Ş.'ye, Panagro Et ve Süt Entegre Tesisi Et AR-GE Birimi çalışanlarına özellikle E***e B***K, T*****y Ö***R ve R*****a B*Ş'a ve tez dönemim boyunca çalışmalarına devam etmemde önemli katkı sağlayan Stratejik Ürünler Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi (SARGEM)'e, özellikle SARGEM Müdürü Sayın Dr. M. K****t I**K, S*****k A*****N, O***n A*****Ş, F***a T*****U ve A**e B*****r U***L'a teşekkürlerimi sunarım.

Beni bugünlere getirmek için hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, maddi ve manevi desteklerini benden esirgemenyen, üzerimde sonsuz emekleri olan canım annem F***a P***K ve canım babam R***p P***K'a yürekten teşekkür ediyorum.

A*****r P***K

Haziran, 2021

YEMİN METNİ

Yüksek Lisans Tezi Olarak Sunduğum ‘*Cistus* Ekstraktının Kokteyl Sosislerde Antioksidan Olarak Kullanımının Araştırılması’ adlı çalışmanın tarafımdan bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın yazıldığını ve yararlandığım eserlerin bibliyografyada gösterilenlerden oluştuğunu, bunlara atıf yapılarak yararlanılmış olduğunu ve bunu onurumla doğrularım.

24/06/2021

A*****r P***K

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
YEMİN METNİ	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER	ix
TABLolar	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. <i>Cistaceae</i> Familyası ve <i>Cistus</i> L.....	3
2.1.1. <i>Cistus creticus</i> L.....	4
2.2. <i>Cistus</i> L. Türlerinin Kimyasal Kompozisyonu	6
2.2.1. Fenolik Bileşikler.....	6
2.2.2. Terpenler.....	13
2.2.3. Yağ Asitleri	14
2.2.4. Fitohormonlar ve Vitaminler	15
2.3. <i>Cistus</i> Türlerinin Kullanımı ve Biyolojik Aktiviteleri	15
2.3.1. Antimikrobiyal Aktivite.....	16
2.3.2. Sitotoksik Aktivite.....	18
2.3.3. Antioksidan Aktivite	20
2.4. Et ve Et Ürünlerinde Lipit Oksidasyonu	27
3. MATERYAL VE METOD.....	30
3.1. Materyaller	30
3.2. Metod.....	30
3.2.1. <i>Cistus creticus</i> Üretimi ve Kimyasal Analizler	30
3.2.1.1. <i>Cistus creticus</i> Sulu Ekstresinin Eldesi.....	30
3.2.1.2. <i>Cistus</i> Ekstresine Uygulanan Kimyasal Analizler	32
3.2.1.2.1. 2,2-Difenil-1-pikrihidrazil (DPPH) Radikal Söndürücü Kapasite Analizi	32
3.2.1.2.2. Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü (FRAP) Analizi	32
3.2.1.2.3. Toplam Fenolik Madde Miktarı Analizi	33
3.2.1.2.4. Toplam Flavonoid Madde Miktarı Analizi.....	33

3.2.2. Kokteyl Sosis Üretimi ve Depolama	34
3.2.2.1. Sosis Örneklerinin Fizikokimyasal Analizleri	37
3.2.2.1.1. Tiyobarbitürik Asit Reaktif Madde (TBARS) Analizi	37
3.2.2.1.2. Hem Demir Miktarının Belirlenmesi.....	38
3.2.2.1.3. Nitrosomyoglobin Konsantrasyonunun Belirlenmesi	38
3.2.2.1.4. Renk Analizi.....	39
3.2.2.1.5. pH Analizi	39
3.2.2.1.6. Su Aktivitesi Analizi.....	39
3.2.2.1.7. Su Tutma Kapasitesinin Belirlenmesi	39
3.2.2.1.8. Sosis Örneklerinin Kimyasal Kompozisyonunun Belirlenmesi	40
3.2.2.2. Sosis Örneklerinin Mikrobiyolojik Analizleri	40
3.2.2.2.1. Toplam Mezofil Bakteri Sayımı	40
3.2.2.2.2. Toplam Psikrofil Bakteri Sayımı	40
3.2.2.2.3. Toplam Laktik Asit Bakteri Sayımı	41
3.2.2.2.4. Toplam Küf ve Maya Sayımı.....	41
3.2.2.3. İstatiksel Analiz	41
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	42
4.1. Cistus Ekstresi Analiz Sonuçları	42
4.1.1. 2,2-Difenil-1-pikrihidrazil (DPPH) Radikal Söndürücü Kapasite Analiz Sonuçları	42
4.1.2. Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü (FRAP) Analiz Sonuçları	43
4.1.3. Toplam Fenolik Madde Miktarı Analiz Sonuçları.....	44
4.1.4. Toplam Flavonoid Madde Miktarı Analiz Sonuçları.....	44
4.2. Sosis Örneklerinin Fizikokimyasal ve Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları.....	45
4.2.1. Sosis Örneklerinin Fizikokimyasal Analiz Sonuçları	45
4.2.1.1. Tiyobarbutirik Asit Reaktif Madde (TBARS) Sayısı Analiz Sonuçları	45
4.2.1.2. Hem Demir Miktarı Analiz Sonuçları.....	48
4.2.1.3. Nitrosomyoglobin Konsantrasyonu Analiz Sonuçları	49
4.2.1.4. Renk Analizi Sonuçları	52
4.2.1.5. pH Analiz Sonuçları.....	57
4.2.1.6. Su Aktivitesi Analiz Sonuçları	59
4.2.1.7. Su Tutma Kapasitesi Analiz Sonuçları.....	61
4.2.1.8. Kimyasal Kompozisyon Analiz Sonuçları.....	63
4.2.2. Sosis Örneklerinin Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları	64
4.2.2.1. Toplam Mezofilik Bakteri Sayım Sonuçları	64
4.2.2.2. Toplam Psikrofil Bakteri Sayım Sonuçları.....	66

4.2.2.3. Toplam Laktik Asit Bakteri Sayım Sonuçları	67
4.2.2.4. Küf ve Maya Sayım Sonuçları	68
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	70
6. KAYNAKÇA	72
EKLER.....	84
ÖZGEÇMİŞ.....	89



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

g	Gram
mg	Miligram
kg	Kilogram
µg	Mikrogram
L	Litre
mL	Mililitre
µL	Mikrolitre
m	Metre
nm	Nanometre
sn	Saniye
dk	Dakika
M	Molar
mM	Milimolar

Kısaltmalar

a_w	Su Aktivitesi
°C	Santigrat Derece
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
ppm	Milyon Birimde Ünite
w/v	Ağırlıkça Yüzde
ANOVA	Varyans Analizi
MS	Kütle Spektrometrisi
GC/FID	Gaz Kromatografisi/Alev İyonlaşma Dedektör
HPLC/DAD	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi/Çoklu Diyet Serili Dedektör
BHT	Butillenmiş Hidroksitoluen
BHA	Butillenmiş Hidroksiyanozil

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. <i>Cistus</i> sp.'nin Türkiye'de dağılışı.....	3
Şekil 2.2. <i>Cistus creticus</i> genel görünüş	5
Şekil 2.3. Alüminyum klorür ($AlCl_3$)'ün kuersetin ile oluşturduğu kompleks.....	8
Şekil 2.4. <i>Cistus</i> L. türlerinden elde edilen naringenin tipi flavanoller	9
Şekil 2.5. <i>Cistus</i> L. türlerinden elde edilen luteolin tipi flavanoller	9
Şekil 2.6. <i>Cistus</i> L. türlerinden elde edilen apigenin tipi flavanoller	10
Şekil 2.7. <i>Cistus</i> L. türlerinden elde edilen kemferol tipi flavanoller.....	11
Şekil 2.8. <i>Cistus</i> L. türlerinden elde edilen kersetin tipi flavanoller	11
Şekil 2.9. <i>Cistus</i> L. türlerinden elde edilen mirsetin tipi flavanoller	12
Şekil 2.10. <i>Cistus</i> L. türlerinden elde edilen kateşin tipi flavanoller.....	12
Şekil 2.11. Lipit oksidasyon mekanizması	21
Şekil 2.12. Antioksidanların etki mekanizması	23
Şekil 2.13. DPPH radikali.....	25
Şekil 2.14. Fe^{+3} 'ün Fe^{+2} 'ye indirgenmesi	25
Şekil 2.15. TBARS analizinde TBA_2 -MDA kompleksinin oluşumu	28
Şekil 2.16. Hem demir şematik gösterimi.....	29
Şekil 3.1. <i>Cistus</i> ekstraksiyonu	31
Şekil 3.2. Kokteyl sosis üretimi (Kuterde karıştırma)	35
Şekil 3.3. Kokteyl sosis üretimi (Kılıflara dolum).....	35
Şekil 3.4. Kokteyl sosis üretimi (Pişirme öncesi).....	36
Şekil 3.5. Sosis üretim akış şeması	37
Şekil 4.1. Sosis örneklerinin depolama süresince TBARS değerleri.....	46
Şekil 4.2. Sosis örneklerinin depolama süresince hem demir miktarları.....	49
Şekil 4.3. Sosis örneklerindeki depolama süresince boyunca nitrosomyolobin konsantrasyonu.....	51
Şekil 4.4. Sosis örneklerinin depolama süresince L^* renk değerleri değişimi.....	53
Şekil 4.5. Sosis örneklerinin depolama süresince a^* renk değerleri değişimi.....	54
Şekil 4.6. Sosis örneklerinin depolama süresince b^* renk değerleri değişimi.....	56
Şekil 4.7. Sosis örneklerinin depolama süresi boyunca pH değişimi	58
Şekil 4.8. Sosis örneklerinin depolama sırasındaki ortalama su aktivitesi değişimleri	60
Şekil 4.9. Sosis örneklerinin depolama süresince su tutma kapasiteleri.....	62

Şekil 4.10. Depolama süresince sosis örneklerine ait toplam mezofilik bakteri sayısı	65
Şekil 4.11. Depolama süresince sosis örneklerine ait toplam psikrofil bakteri sayısı	66
Şekil 4.12. Depolama süresince sosis örneklerine ait laktik asit bakteri sayısı	67
Şekil 4.13. Depolama süresince sosis örneklerine ait küf ve maya sayısı	68



TABLULAR

Tablo	Sayfa
Tablo 2.1. <i>Cistus</i> L. türlerinden elde edilen naringenin tipi flavonoidler	9
Tablo 2.2. <i>Cistus</i> L. türlerinden elde edilen luteolin tipi flavonoidler	10
Tablo 2.3. <i>Cistus</i> L. türlerinden elde edilen apigenin tipi flavonoidler.....	10
Tablo 2.4. <i>Cistus</i> L. türlerinden elde edilen kemferol tipi flavonoidler	11
Tablo 2.5. <i>Cistus</i> L. türlerinden elde edilen kersetin tipi flavonoidler.....	12
Tablo 2.6. <i>Cistus</i> L. türlerinden elde edilen mirsetin tipi flavonoidler	12
Tablo 2.7. <i>Cistus</i> L. türlerinden elde edilen kateşin tipi flavonoidler	13
Tablo 3.1 Örnek gruplarına ait sosis formülasyonları	36
Tablo 4.1. <i>Cistus</i> ekstresi analiz sonuçları	45
Tablo 4.2. Farklı oranlarda <i>Cistus</i> kullanılarak üretilen sosis örneklerinin depolama sırasındaki ortalama TBARS değerleri	46
Tablo 4.3. Sosis örneklerinin depolama sırasındaki hem demir konsantrasyonu	48
Tablo 4.4 Sosis örneklerinin depolama sırasındaki nitrosomyoglobin konsantrasyonu	50
Tablo 4.5. Sosis örneklerinin depolama süresince L^* renk değerleri.....	53
Tablo 4.6. Sosis örneklerinin depolama süresince a^* renk değerleri	54
Tablo 4.7. Sosis örneklerinin depolama süresince b^* renk değerleri	55
Tablo 4.8. Sosis örneklerinin depolama sırasındaki ortalama pH değerleri.....	57
Tablo 4.9. Sosis örneklerinin depolama sırasındaki ortalama su aktivitesi (a_w) değerleri.....	59
Tablo 4.10. Sosis örneklerinin depolama süresince su tutma kapasiteleri	62
Tablo 4.11. Sosis örneklerinin ilk hafta ölçülen kimyasal kompozisyon değerleri	63

1. GİRİŞ

Cistus creticus L. (*Cistaceae*) çalı formunda, Akdeniz ikliminin hakim olduğu bölgelerde yetişen herdem yeşil bir maki bitkisidir (Karamanoğlu, 1976). *Cistus* türleri aromatik ve farmakolojik özellikleri sebebiyle eski çağlardan beri kullanılmaktadır. Yapılan son çalışmalarda farklı *Cistus* türlerinden izole edilmiş bileşiklerin ve ekstraktların, antiülser, anti-enflamatuvar ve sitotoksik aktivite gösterdiği ayrıca antioksidan, antibakteriyel ve antifungal özelliğinin bulunduğu görülmüştür (Amensour vd., 2010; Falara vd., 2008).

Cistus türlerinin sulu ekstraktlarının ana bileşenleri flavonoidlerdir (Falara vd., 2008). Flavonoidler birçok bitkide fazlasıyla bulunan doğal bileşenlerdir. Flavonoidlerin hidroksil radikallerini, süperoksit anyonlarını ve lipit peroksi radikallerini tutması sebebiyle iyi bir antioksidan olduğu yapılan araştırmalarda görülmüştür (Erçebi, 2012).

Antioksidan bileşikler serbest radikalleri giderme ve uzaklaştırma yetenekleri sebebiyle son yıllarda insan beslenmesi üzerinde önemli araştırma konularından birisidir. Ayrıca gıda teknolojisinde, ürünlerin depolama süresince bozulmadan saklanabilmesi için sentetik ve doğal antioksidanlarla muamele edilmesi sık uygulanan bir işlemdir. Gıda ürünlerine ilave edilen antioksidan bileşikler sentetik (BHT, BHA vb.) veya bitkilerden elde edilmiş doğal antioksidan bileşikler (rutin, katekol vb.) olabilir. Bu bileşiklerin hem gıda ürünü koruma özelliği hem de metabolizmaya girdikten sonra antioksidan olarak davranıp hücreyi oksitleyici maddelere karşı koruma özelliği taşımaktadır (Yavaşer, 2011).

Oksidasyonu önlemek amacı ile et endüstrisinde ve gıda teknolojisinde butillenmiş hidroksi anisol (BHA), butillenmiş hidroksi toluen (BHT) ve propil gallat gibi sentetik antioksidanlar yaygın olarak kullanılır. Fakat yapılan çalışmalarda BHA ve BHT'nin insan sağlığı açısından mevcut ve potansiyel sağlık riskleri taşıdığı görülmüştür (McCarthy vd., 2001). Bu sebeple son dönemlerde sentetik antioksidanların kullanımı azaltılmaya ve doğal antioksidanlar üzerinde çalışılmalar yapılmaya başlanmıştır. Günümüz tüketicilerinin sağlıklı gıda tüketiminin önemi konusunda bilinçlenmesiyle

de gıda sanayinde doğal antimikrobiyalere ve antioksidanlara verilen önem artmıştır. Bilim insanları da bu sebeplerle bu konulara yönelmektedir (Ekici vd., 2014).

Dengeli ve sağlıklı beslenmede et ve et ürünleri içerdiği yüksek besleyici bileşenler sebebiyle önem arz etmektedir. Et ürünlerini işleme ve depolama sırasında kalite değerlerini sınırlayan önemli değişikliklerden birisi lipit oksidasyonudur. Oksidasyon et ve et ürünlerinde geri dönüşümü olmayan kimyasal değişikliklere neden olur ve kaliteyi olumsuz yönde etkiler (Zungur Bastıoğlu vd., 2016).

Literatürde *Cistus* ekstraktlarının antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerinden bahsedilmiş ancak et ve et ürünlerindeki etkisi değerlendirilmemiştir. *Cistus* ekstrelerinin et ve et ürünlerinde kullanımına yönelik yayınlanmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Yapılan bu çalışma et teknolojisi alanında *Cistus* türlerinin araştırıldığı ilk çalışmadır ve bu sebeple özgünlük taşımaktadır.

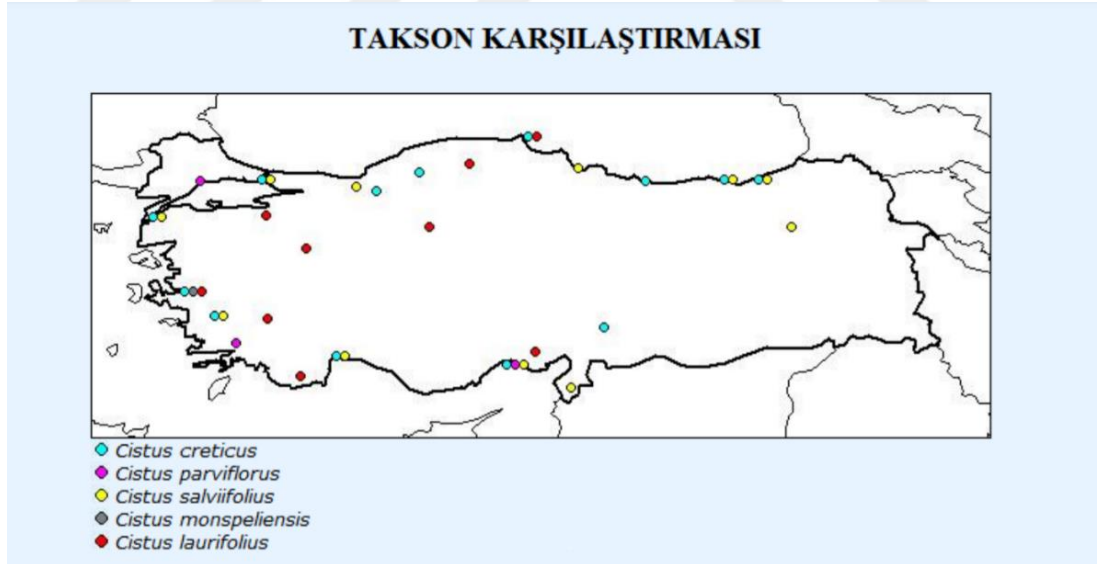
Yapılan bu çalışmada fenolik bileşikler açısından zengin *Cistus creticus* bitki ekstraktının kokteyl sosislerde kalite parametrelerine olan etkisi değerlendirilmiştir. Çalışma iki aşamada gerçekleştirilmiş olup ilk aşamada; *Cistus creticus* bitkisi, gıda ürünlerinde kullanıma uygun olacak şekilde sulu ekstraksiyon metodu ile ekstrakte edilip toz haline getirilmiş ve elde edilen ekstraktın antioksidan kapasitesi DPPH ve FRAP metodları ile belirlenmiştir. Ayrıca toplam fenolik ve flavonoid madde içeriği belirlenmiştir. İkinci aşamada; elde edilen *Cistus* ekstresinin kokteyl sosislerde ürünün kalitesine ve raf ömrüne etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla, lipit oksidasyonu, su aktivitesi, pH, renk analizi (L^* , a^* , b^*), TBARS, hem demir, nitrosomyoglobin miktarı, su tutma kapasitesi (WHC), toplam mezofilik bakteri sayısı, toplam psikrofilik bakteri sayısı, laktik asit bakterileri sayısı, toplam maya ve küf sayısı analiz edilerek raf ömrü süresince araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Cistaceae* Familyası ve *Cistus* L.

Cistaceae, güneşli ve kurak bölgelerde bulunan 7 cins (*Cistus*, *Fumana*, *Halimium*, *Tuberaria*, *Helianthemum*, *Hudsonia* ve *Lechea*) ve yaklaşık 175 türden oluşan bitki ailesidir. Bu ailenin önemli üyesi olan *Cistus* L. kayalık ve verimsiz topraklara sahip açık alanlarda yetişen çift çenekli, çok yıllık, sert yapraklı odunsu bitkilerdir (Thanos vd., 1992). *Cistus* L., Dünya’da 21 türle temsil edilirken Türkiye’de, doğal olarak yetişen, beş türle (*C. creticus* L., *C. salviifolius* L., *C. parviflorus* Lam., *C. laurifolius* L., *C. monspeliensis* L.) temsil edilmektedir. *Cistus* türleri ülkemizde daha çok laden, kaya gülü, pamukluk, karağan gibi isimlerle anılmaktadır (Sargın vd., 2014).

Türkiye’de yayılış gösterenler *Cistus creticus* L., *Cistus salviifolius* L., *Cistus parviflorus* L., *Cistus monspeliensis* L., ve *Cistus laurifolius* L. türleridir. Diğer taraftan, *Cistus creticus* ve *Cistus salviifolius* Batı Anadolu maki ve garig bitki toplulukları dominantları olarak belirlenmiştir (Cengiz, 2015).



Şekil 2.1. *Cistus* sp.’nin Türkiye’de dağılışı (Cengiz, 2015).

Dayanıklılıkları ile tanınan *Cistus* L. sıcak, kurak koşullarda ve besin maddesince fakir topraklarda yetişmeye adapte olmuşlardır. Akdeniz ikliminin hakim olduğu bölgelerde kurakçıl çalı topluluğunun önemli bir bileşenidirler. Bölgesel orman yangınlarından sonra bile, bu bitkiler, tohumlarının yüksek sıcaklıklara maruz kalmasından sonra artan

tohum çimlene bilirliği nedeniyle büyüeyebilirler (Thanos vd., 1992). Bazı türlerde mevsimsel dimorfizm gözlenir ve bitkilerin kuraklık koşullarına uyum sağlamasına imkan verir. Bu da yaprakların boyutunun küçülmesine ve daha fazla tüye sebep olur (Aronne ve De Micco, 2001).

Cistus bitkileri, zıt yönlerde yayılan dalları olan ve ortalama bir metre yüksekliğe ulaşabilen düz gövdeli, küçük, odunsu çalıdır. Karakteristik olarak yaprak gövde ve kaliks üzerinde çeşitli tüy (trikom) tipleri bulundururlar (Papaefthimiou vd., 2014). Püsküllü ve yıldız şeklindeki ince uzun trikomlar bir reçine üretir ve salgılar. Bazı türlerde (*C. creticus* subsp. *creticus*) bu reçine flavonoid aglikonlar, glikozitler ve labdan tipi diterpenler dahil terpenoidler gibi biyolojik olarak aktif ve farmakolojik metabolitler bakımından zengindir (Guzmán ve Vargas, 2005).

Uzun yıllar boyunca *Cistus* sp. halk hekimliğinde, özellikle Akdeniz bölgesinde infüzyon, ekstrakt ve reçine Ladano olarak birçok hastalığın tedavisinde kullanılmıştır. Son yıllarda yapılan araştırmalar, *Cistus* türlerinde bulunan bileşiklerin ve reçinelerin izolasyonu ve tanımlanmasına odaklanmıştır. Çalışmalar, iyileştirici özellikleri ortaya çıkaran biyolojik ve farmakolojik aktiviteleri de analiz etmiştir. Kromatografik ve spektroskopik teknikleri kullanan fitokimyasal çalışmalar, *Cistus*'un özellikle fenilpropanoidler (flavonoidler, polifenoller) ve terpenoidler olmak üzere aktif biyoaktif bileşiklerin kaynağı olduğunu göstermiştir. Bu bileşikler, *Cistus*'un anti-enflamatuar, antibakteriyel, antifungal, antiviral, anti-alerjik ve vücudun direncini güçlendiren tıbbi özelliklerini ve çok çeşitli hastalıklarda tedavi edici ajan olarak kullanılmalarına izin veren analjezik etkiyi belirlemektedir (Küpeli ve Yesilada, 2007).

2.1.1. *Cistus creticus* L.

Cistus creticus L. Akdeniz iklimin hâkim olduğu bölgelerde, özellikle, sahilden uzak olmayan fundalıklarda yetişen herdem yeşil bir çalıdır. Bitki ince, yarı otsu gövdelidir. Bitkinin nemlilik ihtiyacı orta derecededir ve bitki kireçli toprakları sever. En fazla 1 m'ye kadar boylanabilir. Yapraklarının üzerine bulunan salgı tüyleri “ladanum” adlı yağlı bir reçine salgılar (Davis, 1970).

Cistus creticus'un çeşitli popülasyonları Orta ve Doğu Akdeniz üzerinde yayılış göstermektedir. Genel olarak Korsika, Sardinya ve Girit adasında bulunmakla beraber *Cistus creticus*'un 25'ten fazla çeşidi Girit adasının kıyı şeridinde özgüdür (Demetzos vd., 1997; Papaefthimiou vd., 2014).

Türkiye'de Akdeniz fitocoğrafik bölgesi kıyı şeridi boyunca ve Karadeniz kıyısı boyunca kuşatılmış topraklarda yayılış göstermektedir. Bu tür; deniz seviyesinden 1000 m rakıma kadar olan alanlar da Mart sonundan Haziran ayına kadar mor çiçekleri (Şekil 2.2) ile görülür, dekoratif bahçe çalısı olarak sıkça kullanılır (Davis, 1970).



Şekil 2.2. *Cistus creticus* genel görünüş

Cistus creticus Akdeniz iklimine uyum sağlayacak adaptasyon mekanizması ile mevsimsel dimorfizmin olağanüstülüğünü sergiler. Yaz aylarında su kısıtlı olduğunda, kış aylarına nazaran yaprakları küçülür (Papaefthimiou vd., 2014).

2.2. *Cistus* L. Türlerinin Kimyasal Kompozisyonu

Cistus türlerinin farklı dokularında çok çeşitli ikincil metabolitler meydana gelmekte ve bu metabolitler sıcaklık, mevsim, yağış, kuraklık gibi çeşitli faktörlerden etkilenmektedir. Yapılan çalışmalarda bu metabolitlerin 397'si terpen (101 monoterpen, 178 sesquiterpen ve 118 diterpen), 162'si fenipropanoid (128 flavonoid, 17 fenolik ve 12 tanen), 24 hidrokarbon, 35 yağ asidi, 36 karbonilik bileşik ve 18 fitohormon ve vitamin olduğu bildirilmiştir. *C. creticus* subsp. *creticus* türünde 92 terpen (36 monoterpen, 35 sesquiterpen ve 21 diterpen) ve 12 fenilpropanoid-flavonoid rapor edilmiştir (Papaefthimiou vd., 2014).

2.2.1. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler, bitkilerde yaygın olarak görülen ikincil metabolit gruplarıdır. Kimyasal olarak fenolikler, fonksiyonel türevleri de dahil olmak üzere bir veya daha fazla hidroksil grubu taşıyan aromatik halkaya sahip maddeler olarak tanımlanabilir (Shahidi ve Naczki, 2003). Aynı zamanda polifenoller sadece bir polifenol yapısına (aromatik halkalar üzerinde birkaç hidroksil grubu) sahip çok çeşitli molekülleri değil, fenolik asitler ve fenolik alkoller gibi bir fenol halkalı molekülleri de içerebilir (Galanakis, 2018).

Günümüze kadar birçok bitkisel kaynaklı fenolik bileşikler tanımlanmıştır. Bu bileşiklerin sahip olduğu yapısal çeşitlilik onların sınıflandırılmasını güç hale getirmektedir. Literatürde polifenoller, kökenlerine, biyolojik işlevlerine ve kimyasal yapılarına göre farklı yollarla kategorize edilmiştir. Polifenoller temel olarak beş ana sınıf içermektedir. Bunlar fenolik asitler, flavonoidler, stilbenler, lignanlar ve diğerleridir (Galanakis, 2018).

Fenolik bileşikler bitkisel materyallerdeki kuru ağırlığın yaklaşık %0,5-5'ni oluşturmaktadır (Pokorný, 2007). Bitkilerde ki en yaygın fitokimyasal gruplardan biri olan bu bileşikler önemli fizyolojik ve morfolojik öneme sahiptir. Meyve ve sebzelerin renk ve duyu özelliklerine katkıda bulunmanın yanı sıra, patojenlere ve dış tehditlere karşı koruma sağlayarak önemli bir rol oynarlar (Bravo, 1998). Ayrıca fenolikler; antibiyotik, doğal pestisit, ultraviyole (UV) ışığa karşı koruyucu ve polen taşıyıcılar için cezbedici işlev de gösterirler (Shahidi ve Naczki, 2003).

Fenolik bileşikler yenilebilir birçok meyve ve sebzenin yapısında bulunduğu için diyetimizde önemli bir yer kaplamaktadır. Son yıllarda diyetimizde önemli ölçüde yer alan bu bileşiklere olan ilgi hem araştırmacılar hem de gıda üreticileri açısından artış göstermektedir. Bu ilginin sebebi fenolik bileşiklerin antioksidan özelliklerinin tespit edilmesi ve oksidatif stres ile bağlantılı kanser, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıkların önlenmesinde aldıkları rollerden kaynaklanmaktadır. Ayrıca birçok şifalı bitkide bulunan etken maddeleri oluşturan fenolik bileşikler birçok enzimin ve hücre reseptörünün aktif bir şekilde çalışmasını düzenler (Bravo, 1998; Pokorný, 2007).

Polifenollerin antioksidan etkisinin mekanizmaları arasında reaktif serbest radikallerin doğrudan temizlenmesi, serbest radikal oluşumunda rol oynayan eser metal iyonlarının şelatlanması, serbest radikal üretimine dahil olan enzimlerin inhibisyonu ve α -tokoferol gibi zara bağlı antioksidanların rejenerasyonu yer almaktadır.

Polifenoller, bir elektron veya hidrojen atomu vererek serbest radikalleri nötralize edebilen güçlü antioksidanlardır. Bu reaksiyon iki ana mekanizma ile gerçekleşir. Birinci mekanizmada fenoller, zincir kıran antioksidanlar olarak işlev görürler. Hidrojen atomu transfer mekanizması sayesinde, fenolik antioksidanın kendisi serbest bir radikal haline gelir. İkinci mekanizma, kararlı bir radikal katyon oluşumu ile serbest radikalden tek elektron transferidir (Galanakis, 2018). Bu bağlamda, fenolik antioksidanlar mükemmel H^+ (hidrojen iyonu) ve e^- (elektron) sağlayıcılarıdır. Fenolik asitler ve esterlerinin antioksidan kapasiteleri sahip oldukları OH (hidroksil) grubu sayısı ile artmaktadır (Shahidi vd., 1992).

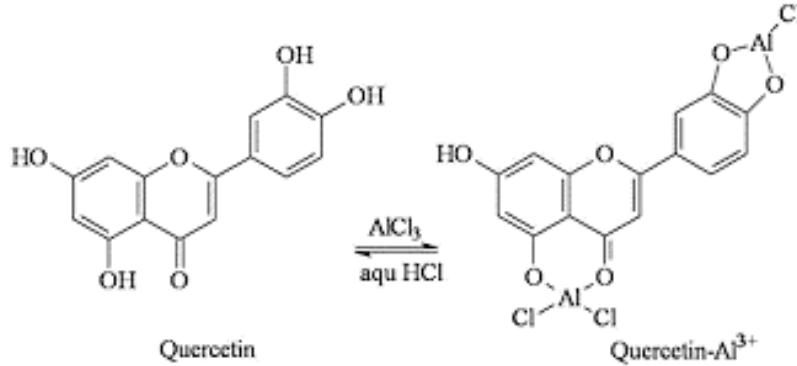
Polifenollerin çoğu, redoks-aktif geçiş metallerinin serbest radikal oluşumunu ve ardından biyo-moleküllerin oksidasyonu katalize etmesini önleyerek antioksidan etkilerini açıklayabilen metal şelatlama özelliklerine sahiptir (Mitjavila ve Moreno, 2012).

Gıdaların ve doğal ürünlerin içeriğinde bulunan toplam fenolik bileşiklerin belirlenmesi, antioksidan aktiviteyi sağlayan hidroksil grupları hakkında fikir vermesinden dolayı önemlidir. Genellikle ürünün toplam fenolik madde içeriği ile antioksidan aktivitesi arasında lineer bir korelasyon görülmektedir (Huang vd., 2005; Prior vd., 2005). Fenolik madde miktarı yaygın olarak Folin-Ciocalteu metodu ile

belirlenmektedir. Bu yöntem, suda ve organik çözücülerde çözülmüş olan fenolik bileşiklerin Folin-Ciocalteu reaktifi ile alkali ortamda renkli kompleks oluşturması prensibine dayanmaktadır. Oluşan mor renkli kompleks 765 nm’de maksimum absorpsiyona sahiptir (Kaya, 2020).

Doğal bileşiklerin flavonoid içeriğini belirlemek amacıyla da alüminyum klorür-potasyum asetat spektrofotometrik yöntemi yaygın olarak kullanılmaktadır. Alüminyum klorür, flavon ve flavonol grubu bileşiklerin C-4 keto grubu ve C-3 veya C-5 hidroksil gruplarından biriyle kararlı bir kelat oluşturmaktadır (Al-Flavon veya Al-Flavonol kompleksi). Bununla beraber alüminyum, flavonoid grubu bileşiklerin A ve B halkarındaki ortodihidroksi gruplarıyla da kararsız kompleksler oluştururlar (Woisky ve Salatino, 1998).

Alüminyum (Al^{+3}), numunedeki flavonoidlerin OH gruplarıyla reaksiyona girerek, numunedeki flavonoidlerin konsantrasyonuyla orantılı olan sarı renkli stabil bir flavonoid- Al^{+3} kompleksi (Şekil 2.3) oluşturur (Amorim vd., 2008).

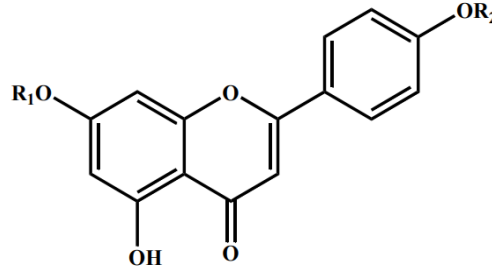


Şekil 2.3. Alüminyum klorür ($AlCl_3$)’ün kuersetin ile oluşturduğu kompleks (Amorim vd., 2008).

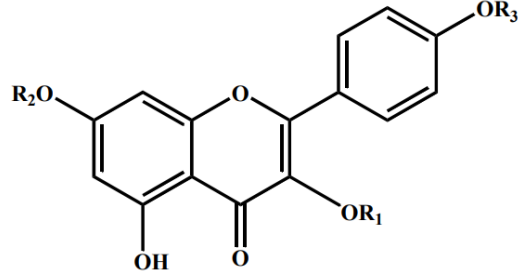
Literatürde *Cistus* türlerini fenolik içeriğini belirlemek amacıyla farklı çalışmalar yer almaktadır. 20 farklı *Cistus* türlerinden elde edilen sulu ekstraktların kalitatif ve kantitatif polifenolik bileşiminin karşılaştırmalı bir analizini yapılmıştır. HPLC-DAD kullanılarak yapılan analizlerde 20 çeşit *Cistus* sulu özütündeki flavonoidlerle ilgili bileşiklerin; apigenin diglucoside, quercetin glucoside, kaempferol diglucoside, kaempferol 3-*O*-rutinoside, isorhamnetin-*O*-rutinoside, rutin, (-)-(epi)catechin, (-)-(epi)gallocatechin, quercetin 3-*O*-(2'-cumaroyl) rutinoside, (-)-(epi)gallocatechin

Tablo 2.2. *Cistus* L. türlerinden elde edilen luteolin tipi flavonoidler

Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	Bitki	Kaynak
Luteolin	H	H	H	<i>C. incanus</i> <i>C. mospeliensis</i>	(Demetzos, vd,1990; Wollenweber ve Mann, 1984; Gürbüz, 2011)
7,3'-dimetil luteolin	CH ₃	CH ₃	H	<i>C. clusii</i> <i>C. mospeliensis</i>	(De Pascual Teresa vd., 1983; Wollenweber ve Mann, 1984; Gürbüz, 2011)
7,3',4'-trimetil luteolin	CH ₃	CH ₃	CH ₃	<i>C. clusii</i>	(De Pascual Teresa vd., 1983; Gürbüz 2011)

**Şekil 2.6.** *Cistus* L. türlerinden elde edilen apigenin tipi flavanoller**Tablo 2.3.** *Cistus* L. türlerinden elde edilen apigenin tipi flavonoidler

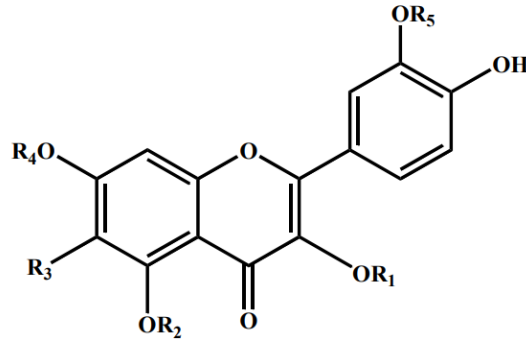
Bileşik	R ₁	R ₂	Bitki	Kaynak
Apigenin	H	H	<i>C. ladanifer</i> <i>C. palhinhae</i> <i>C. mospeliensis</i> <i>C. incanus</i> <i>C. laurifolius</i>	(Demetzos vd., 1990; Proksch ve Gülz, 1984; Sadhu vd., 2006; Wollenweber ve Mann, 1984; Gürbüz, 2011)
4'-Metilapigenin	H	CH ₃	<i>C. ladanifer</i> <i>C. palhinhae</i> <i>C. salviifolius</i> <i>C. mospeliensis</i> <i>C. libanotis</i>	(De Pascual Teresa vd., 1983; Kuhn vd., 2010; Proksch ve Gülz, 1984; Wollenweber ve Mann, 1984; Gürbüz, 2011)



Şekil 2.7. *Cistus* L. türlerinden elde edilen kemferol tipi flavanoller

Tablo 2.4. *Cistus* L. türlerinden elde edilen kemferol tipi flavonoidler

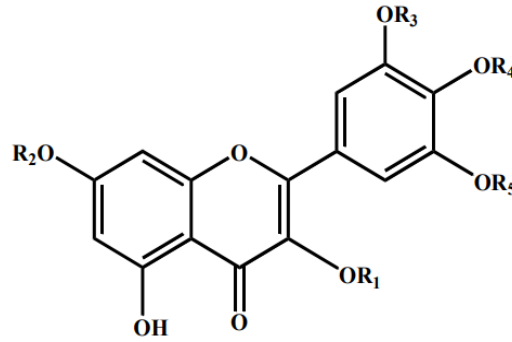
Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	Bitki	Kaynak
Kemferol	H	H	H	<i>C. incanus</i> <i>C. mospeliensis</i>	(Demetzos vd., 1990; Wollenweber ve Mann, 1984; Gürbüz, 2011)
Kemferol 3- metil eter	CH ₃	H	H	<i>C. albanicus</i> <i>C. parviflorus</i> <i>C. incanus</i> <i>C. palhinhae</i> <i>C. ladanifer</i>	(Demetzos vd., 1990; Proksch ve Gülz, 1984; Vogt vd., 1987; Gürbüz, 2011)
Kemferol 7- metil eter	H	CH ₃	H	<i>C. albanicus</i> <i>C. mospeliensis</i> <i>C. parviflorus</i>	(Vogt vd., 1987; Wollenweber ve Mann, 1984; Gürbüz, 2011)



Şekil 2.8. *Cistus* L. türlerinden elde edilen kersetin tipi flavanoller

Tablo 2.5. *Cistus* L. türlerinden elde edilen kersetin tipi flavonoidler

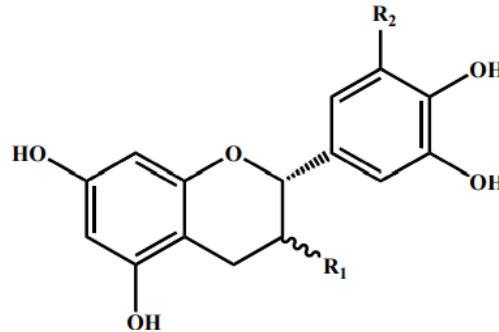
Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Bitki	Kaynak
Kersetin	H	H	H	H	H	<i>C. incanus</i>	(Demetzos vd., 1990; Gürbüz, 2011)
Kersetin 3-metil eter	CH ₃	H	H	H	H	<i>C. laurifolius</i> <i>C. mospeliensis</i>	(Küpelı ve Yesilada, 2007; Sadhu, vd., 2006; Ustün, vd., 2006; Gürbüz, 2011)



Şekil 2.9. *Cistus* L. türlerinden elde edilen mirsetin tipi flavanoller

Tablo 2.6. *Cistus* L. türlerinden elde edilen mirsetin tipi flavonoidler

Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Bitki	Kaynak
Mirsetin	H	H	H	H	H	<i>C. incanus</i>	(Demetzos vd., 1990; Gürbüz, 2011)
Mirsetin 3-O-β-D galaktopiranozit	Gal.	H	H	H	H	<i>C. creticus</i> <i>C. salviifolius</i>	(Demetzos vd., 1989; Saracini vd., 2005; Gürbüz, 2011)



Şekil 2.10. *Cistus* L. türlerinden elde edilen kateşin tipi flavanoller

Tablo 2.7. *Cistus* L. türlerinden elde edilen kateşin tipi flavonoidler

Bileşik	R1	R2	Bitki	Kaynak
Gallokateşin	OH	OH	<i>C. incanus</i> <i>C. salviifolius</i> <i>C. monspeliensis</i>	(Petereit vd., 1991; Pomponio vd., , 2003; Qa'dan vd., 2006; Gürbüz 2011)
Kateşin	OH	H	<i>C. incanus</i> <i>C. salviifolius</i> <i>C. monspeliensis</i>	(Petereit vd., 1991; Pomponio vd., 2003; Qa'dan vd., 2006; Gürbüz, 2011)
Epikateşin	OH	H	<i>C. salviifolius</i>	(Qa'dan vd., 2006; Gürbüz, 2011)

2.2.2. Terpenler

Terpenler, bitki ve çiçeklerdeki esans yağlarının başlıca bileşenleridir. Bitkilerin kendine has koku ve tatları büyük ölçüde terpenlerden kaynaklanmaktadır. Esans yağları gıdada tatlandırıcı olarak, parfüm sanayide, aromaterapide, geleneksel ve alternatif tıp uygulamalarında kullanılmaktadır (Menzek vd., 2009).

Terpenler bitki dokularında genellikle serbest olarak, organik asit esterleri ya da glikozitleri halinde, bazen de proteinlerle birleşmiş olarak bulunurlar. 15 karbona kadar olan terpenler bitkilerden su buharı distilasyonu ile daha fazla karbonlu olanlar ekstraksiyon yöntemleri ile izole edilirler (Sönmez, 1995).

Terpenik bileşikler izopren birimlerine bölünebilen yapılardır ve izopren birimlerinin sayısına bağlı olarak kendi aralarında sınıflandırılırlar. Monoterpenler, seskiterpenler, diterpenler ve sesterterpenler izopren birimlerinin baş-son birleşmesiyle oluşmuşlardır. Triterpenler ve karotenoitler ise sırasıyla C₁₅ ve C₂₀ birimlerinin baş-baş birleşmesiyle oluşmuştur. Bitkilerden elde edilen uçucu yağların ana bileşeni basit mono- ve seski-terpenlerdir (Menzek vd., 2009).

Terpenlerin hücre yenileyici, antimikrobial, antifungal, antiviral, antihiperglisemik, antiinflammatuar ve antiparositik aktiviteye sahip olması, geleneksel ve alternatif tedavide kullanılmasını sağlamıştır. Terpen içeren birçok bitki (borneol, taksol) doğrudan ilaç olarak da kullanılmaktadır. Terpenler ayrıca, deri penetrasyon

arttırıcıları ve ajanları olarak birçok iltihaplı hastalıklara karşı korunmada ve hastalıkların tedavisinde uygulama alanı bulmaktadır (Paduch vd., 2007).

Cistus türleri içerdikleri trikomların türüne bağlı olarak, yüksek monotepren ve seskiterpen üreticileri ya da diterpen ve klerodanlarda üreticileri olabilirler (Papaefthimiou vd., 2014).

Cistus creticus uçucu yağı üzerinde yapılan GC/MS analizinde, 142 bileşik tespit edilmiş ve bunlar; monoteprenler, oksijenli monoteprenler, seskiterpenler, oksijenlenmiş seskiterpenler, diterpenler, labdan tip diterpenler, aldehitler, alkanlar, esterler, yağ asitleri, ketonlar ve diğerleri başlıkları altında toplanmıştır (Demetzos vd., 2002).

Uçucu yağ üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise yağın GC/MS analizi sonucunda ana bileşenlerin, α -kadinen, viridiflorol, bulnesol, ledol, α -kopaen, β -selinen, kubenen, manoil oksit ve 13-epi-manoil oksit olduğu belirlenmiştir (Demetzos vd., 1995).

Cistus creticus subsp.'nin hava kısımları ve uçucu yağının kimyasal analizi üzerine yapılan bir çalışma labdan tipi diterpenin varlığını ortaya çıkarmış ve bu türden izole edilmiş trikomların ilk metabolomik analizi birkaç labdan tipi diterpenin varlığını göstermiştir (Falara vd., 2010).

2.2.3. Yağ Asitleri

Cistus bitkilerinin yağ asidi içeriğini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada *C. albidus* tohumlarının yağ asidi bileşimi hem genç hem de olgun bitkilerde incelenmiştir. Yaşlı bitkilerin tohumlarında yüksek konsantrasyonlarda linoleik asit ve genellikle çoklu doymamış ve uzun zincirli doymuş yağ asitleri bulunmuştur (Müller vd., 2014).

C. laurifolius ve *C. salviifolius* bitkilerinde kapiler GC-MS yardımıyla ve 16 *Cistus* türünün tohum lipitleri üzerinde yapılan başka bir çalışmada palmitik, linoleik, linolenik, oleik, stearik ve behenik asit varlığı tespit edilmiş, bunlardan linolenik asitin miktarı en fazla bulunmuştur (Vitali vd., 2011).

2.2.4. Fitohormonlar ve Vitaminler

C. albidus bitkisinin ürettiği fitohormonlar ve vitaminler tohum, yaprak ve çiçeklere bakılarak incelenmiş ve özellikle olgun bitkilerde α -tokoferol içeriğinin yüksek olduğu görülmüştür (Müller vd., 2014).

Başka bir çalışmada *Cistus albidus* bitkisinin tohum, yaprak ve çiçekleri incelenmiş, absisik asit ve askorbik asit seviyeleri yüksek bulunmuş ve buda bu türlerin kuraklığa uyum sağlama yetenekleriyle ilişkilendirilmiştir (Oñate ve Munné-Bosch, 2010).

2.3. *Cistus* Türlerinin Kullanımı ve Biyolojik Aktiviteleri

Çeşitli *Cistus* türlerinin halk arasında diyarede, peptik ülserde, deri rahatsızlıklarında, romatizmal hastalıklarda, idrar yolu enfeksiyonlarında, anti-spazmodik, antidiyabetik ve anti-enflamatuvar ilaç olarak tedavi amaçlı kullanışları vardır (Yesilada vd., 1997; Yeşilada vd., 1995). *C. laurifolius* yapraklarından hazırlanan %2'lik infüzyonun, şeker hastalığına karşı kullanıldığı görülmüştür. *C. salviifolius* ve *C. creticus* yaprakları, %5 infüzyon halinde, kabız, uyarıcı ve balgam söktürücü olarak kullanılmaktadır (Baytop, 1984). *C. salviifolius* 'un taze yapraklarının yara tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir (Kültür, 2007). *C. laurifolius* 'un yaprakları, ateşte ısıtılıp yapışkan bir hal aldıktan sonra ağrıyan bölgenin üzerine koyularak, haricen lapa hazırlanarak romatizma tedavisinde kullanılmaktadır (Honda vd., 1996; Kargıoğlu vd., 2008). *C. laurifolius* yapraklarının yüksek ateş tedavisinde, yaprakları ya da çiçek tomurcukları kaynatılarak peptik ülserde, mide ağrılarında kullanımı bulunmaktadır (Honda vd., 1996).

Cistus türleri üzerinde yapılan farmakolojik aktivite çalışmaları, bitkinin çeşitli ekstrelerinin, antibakteriyel, antifungal, anti-enflamatuvar, antiülser, antioksidan, yara iyileştirici, antispazmodik, hipotansif aktiviteye, kan dolaşımını düzenleyici ve analjezik etkilere sahip olduğunu göstermiştir (Attaguile vd., 2004).

“Kaya Gülü” (Rock rose) olarak da bilinen *Cistus ladanifer*, *Cistus* türleri içerisinde kozmetik ve parfüm sanayinde en fazla öneme sahip olan türdür. Fransa ve İspanya’da bu bitkiden elde edilen yoğun aromatik bir kokuya sahip “ladano” ya da “labdanum” adı verilen reçine, parfüm endüstrisinde uçucu yağ fiksatorü olarak kullanılmaktadır (Guimarães vd., 2009).

2.3.1. Antimikrobiyal Aktivite

Eski çağlardan beri birçok hastalığın tedavisinde çeşitli tıbbi bitkiler kullanılmaktadır. Bu bitkilerin antibakteriyel aktivitesi, bitkinin türüne, kompozisyonuna, uygulanan konsantrasyona ve ayrıca hedef mikroorganizmanın türüne ve miktarına bağlıdır. Bitki ekstralarının, antioksidan ve antimikrobiyal etkisi sebebiyle enfeksiyon etkeni mikroorganizmaların özellikle de antibiyotiklere dirençli olanların elimine edilmesinde alternatif olacağı düşünülmektedir. Mevcut antibiyotiklere karşı direncin artması, araştırmacıları bu bitkilerin antimikrobiyal aktivitelerini araştırmaya yöneltmiştir (Günter vd., 2020).

Literatüre bakıldığında çeşitli *Cistus* türlerinde antimikrobiyal etki gösterdiği görülmektedir.

C. creticus subsp. *eriocephalus* bitkisinin uçucu yağının antimikrobiyal etkinliği, *Bacillus cereus*, *Candida albicans*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *St. epidermidis*, *B. subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *E. coli* mikroorganizmalarına karşı ölçülmüştür. *B. cereus* ve *B. subtilis* yüksek dilüsyonlarda bile oldukça hassas iken, gram-negatif (*E. coli* ve *Ps. aeruginosa*) bakterilerin, gram-pozitif bakterilerden (*B. cereus*, *Str. faecalis*, *St. aureus*, *St. epidermidis*, *B. subtilis*) ve *C. albicans*’tan daha dirençli olduğu görülmüştür (Demetzos vd., 1997).

C. monspeliensis bitkisinin çiçeklerinden ve yapraklarından hazırlanan metanol, aseton ve hekzan ekstralarının antimikrobiyal etkinliği incelenmiş, yaprakların aseton ekstralarının *S. aureus*'a, çiçeklerin metanol ekstralarının ise *S. epidermidis*'e karşı etkili olduğu gözlemlenmiştir (Sassi vd., 2007).

Cistus ladanifer ve *C. populifolius* bitkilerinin sulu ekstrelerin antibakteriyel etkileri gram-negatif (*Escherichia coli*) ve gram-pozitif (*Staphylococcus aureus*) bakteriler kullanılarak ölçülmüş; *C. ladanifer* ekstresinin *Staphylococcus aureus*'a karşı, *C. populifolius* ekstresinin *E. coli*'e karşı kayda değer oranda antibakteriyel aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir (Barrajón-Catalán vd., 2010).

Cistus villosus bitkisinin tozu, uçucu yağı ve ekstresinin *Penicillium digitatum*, *P. italicum* ve *Geotrichum candidum* patojenlerinin çoğalmasını tamamen inhibe ederek antifungal etki gösterdiği bulunmuştur (Ameziane vd., 2007).

Cistus monspeliensis ve *C. villosus* (*C. incanus*) bitkilerinin metanol, etil asetat, butanol ve sulu ekstrelerinin antibakteriyel ve antifungal aktivitelerine bakılmış, *C. villosus*'un bütün ekstrelerinin *E. coli*, *Enterococcus hirae* ve *Staphylococcus aureus*'a, *C. monspeliensis*'in etil asetat ve butanollü ekstrelerinin *S. aureus*, *E. hirae* ve *Pseudomonas aeruginosa*'a karşı en düşük MIC (Minimum İnhibitör Konsantrasyon) değerine sahip olduğu ve *Staphylococcus aureus*'un bu ekstrelere karşı en hassas mikroorganizma olduğu görülmüştür (Bouamama vd., 1999).

Sardinya'da yetişen *C. creticus* alt türlerinin ekstrelerinin antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek amacıyla bütanol, etilasetat ve sulu ekstraktları kullanılmıştır. Bunlar arasında, etil asetat ve bütanol özütlerinin *Staphylococcus aureus*'u inhibe eden en aktif özler olduğu görülmüştür. Sulu ekstreler bakteri ve mantarlara karşı etkili olmamıştır. Gram pozitif bakterilerin *Cistus* özütlerine karşı gram negatif bakterilerden daha duyarlı olduğu görülmüş, ekstraktların hiçbiri *Candida* türlerine karşı gözle görülür bir etki göstermemiştir (Mastino vd., 2018).

Beş *Cistus* türünün, kurutulmuş toz haline getirilmiş yapraklarından ve meyvelerinden hazırlanan su, metanol, kloroform, etil asetat ve bütanol özütlerinin antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Ekstraktların tümü, *B. subtilis* ve *B. cereus*'a karşı bir dereceye kadar aktivite göstermiştir. Liyofilize ekstreler *Staphylococcus aureus*'a karşı en yüksek etkinliği göstermiştir. *C. creticus*'un yaprak ve meyvelerinin bütanol özleri en yüksek aktivite göstermiştir. *Cistus* ekstraktları *Candida albicans* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı herhangi bir aktivite göstermemiştir (Güvenç vd., 2005).

C. creticus'un damıtma ile elde edilen uçucu yağ fraksiyonu Lyme hastalığına sebep olan *Borrelia burgdorferi sensu stricto*'ya (Bbss) karşı in-vitro olarak antibakteriyel aktiviteleri açısından test edilmiştir. Elde edilen sonuçlarda *C. creticus*'un lipofilik yaprak ekstraktlarının Bbss'lere karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği görülmüş. Lipofilik preparatlar arasında etil asetat ekstraktı, hekzan ekstraktından daha az aktif iken, uçucu yağ en yüksek büyüme inhibitör aktivitesini sergilemiştir. Besiyeri ortamında %0,02 (w/v) *C. creticus* uçucu yağ konsantrasyonları bile sekiz günlük büyüme döneminden sonra, kontrol örneğine kıyasla toplam bakteri sayısını %2'ye düşürmüştür (Hutschenreuther vd., 2010).

Cistus ladanifer ekstresinin *Candida* türlerine karşı antifungal potansiyeli belirlenmiştir. En iyi antifungal aktivite *C. glabrata*'ya karşı gözlemlenmiş, 0,05 mg/ml'nin altındaki konsantrasyonlarda en az 3 log azalma ve 0,625 mg/ml'nin üzerindeki konsantrasyonlarda toplam büyümeyi inhibe edebileceği belirtilmiştir. *Cistus ladanifer*'in içerdiği ellagitanninlerin, *Candida albicans*, *C. glabrata* ve *C. parapsilosis*'in büyüme inhibisyonları ile ilişkili olabileceği söylenmiştir (Barros vd., 2012).

2.3.2. Sitotoksik Aktivite

Sitotoksikite terim olarak hücre ölümüne sebep olan anlamı taşımaktadır. Bir bileşiğin sitotoksik potansiyelinin olup olmadığını belirlemek amacıyla sitotoksikite araştırmaları yapılmaktadır. Hücre temelli sitotoksikite çalışmaları uygulama kolaylığı sağlaması ve in-vivo çalışmalardan elde edilen verilerle uyum göstermesi sebebiyle, hayvan deneylerine bir alternatif olarak görülmektedir (Riss ve Moravec, 2004).

Sitotoksikite, test edilen maddenin dozuna ve maruziyet süresine bağlı olarak hücrelere farklı oranlarda zarar veren bir olaydır. Hücreler, sitotoksik maddeye maruz kaldıklarında apoptoz, otofaji ve nekroz gibi olaylar sonucu ölebilir ya da sitostazis nedeniyle proliferasyon özelliklerini kaybedebilirler (Galluzzi vd., 2009).

Hücre bazlı sitotoksosite çalışmalarıyla incelenen maddenin sitostatik ve sitotoksik etkileri hakkında bilgi edinilmektedir (Riss ve Moravec, 2006). Sitotoksosite deneyleri bitkilerin toksikliğinin tespit edilmesi amacıyla ve anti-kanser özelliklere sahip olan bitkisel ekstraktların belirlenmesinde kullanılmaktadır (Itharat vd., 2004). Yapılan çalışmalarda da *Cistus* ekstrelerinin sitotoksik aktivite gösterdiği görülmektedir.

C. creticus bitkisinin toprak üstü kısmından elde edilen diterpenler üç tip kanser (lösemi, insan rinofarinks kanser, insan bronşiyal epidermoid karsinoma) hücre dizisi üzerinde denenmiştir. Bu diterpenlerden bazıları hafif etkili, orta etkili ve kanser hücrelerine karşı oldukça yüksek etkili bulunmuşlardır (Chinou vd., 1994).

Cistus creticus bitkisinin yaprak ve gövdelerinin yüzeyinden salınan dokuz labdan tipi diterpenleri, 14 insan lösemik hücre tipine karşı in-vitro olarak sitotoksik aktiviteleri açısından incelemiştir. (13E)-labd-13-ene8 α ,15-diol test edilen 13 hücre hattına karşı sitotoksik aktivite sergilemiş, (13E)-labd-7,13-dienol ise sadece H160 hücrelerine karşı aktif olduğu görülmüştür. Test edilen labdan tipi diterpenlerin yapılarının, sitotoksik aktiviteleri ile güçlü bir korelasyona sahip olabileceği söylenmiştir (Dimas vd., 1998).

Cistus creticus subsp. *creticus* bitkisinden salgılanan labdan diterpenlerin uygulanabilir üretimini sağlamak amacıyla katı veya sıvı MS üzerinde sürgün ve köklerin in vitro kültürü oluşturulmuş, GC/FID ve GC/MS ile sürgün ve köklerin etanol ekstraktlarının karakterizasyonu yapılmıştır. Ekstraktların olası sitotoksik aktivitesi değerlendirilmiş ve beş insan kanser hücre hattında sülforhodamin B (SRB) analizi yapılmıştır. Sürgün ekstrelerinin HeLa (serviks), MDA-MB-453 (göğüs) ve FemX (melanom) kanser hücreleri üzerinde sitotoksik aktivite sergilediği gözlemlenmiştir (Skorić vd., 2012).

Cistus incanus L. ve *Cistus monspeliensis* L.'nin sulu ekstraktlarının fitoterapötik kullanımının iyi huylu prostat büyümesi tedavisi üzerine etkisi araştırılmış, sitotoksik ve büyüme önleyici etkiler normal insan prostat hücreleri (PZ-HPV-7 ve PNT1A) ve bir akciğer fibroblast hücre çizgisi (V79-4) üzerinde çalışılmıştır. Prostat hücre hatları üzerine uygulanan *Cistus* tedavisi büyüme önleyici bir yanıtla ve hücre yaşaya bilirliginde önemli bir düşüş ile sonuçlanmıştır. *Cistus incanus* L. ve *Cistus*

monspeliensis L. sulu ekstraktlarının insan epitel prostat hücrelerinin büyümesini baskılamakta aktif olduğu görülmüştür (Vitali vd., 2011).

C. creticus bitkisinin sulu ekstresinin ise insan lökosit hücrelerinin DNA sentezini inhibe ederek azalttığı ve bu hücreler üzerinde sitotoksik etkilerinin olduğu bulunmuştur (Lendeckel vd., 2002).

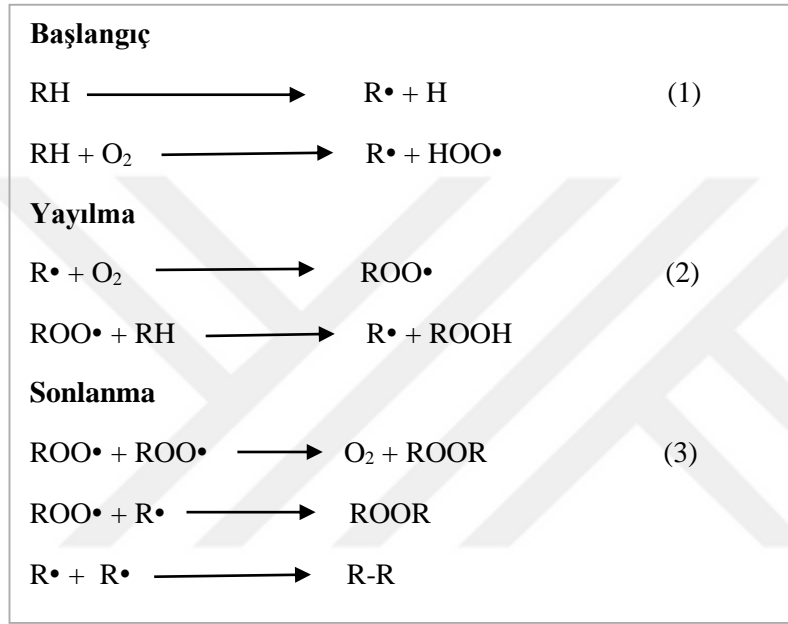
C. creticus reçinesinden elde edilen labdan tipi diterpenler akut lenfoblastik lösemi, burkitt lenfoma hücreleri üzerinde etkili olarak görülmüştür. Ayrıca yine elde edilen bazı labdan tipi diterpenlerin kanser hücrelerinin (meme kanseri, merkezi sinir sistemi kanseri, akciğer kanseri, kolon kanseri) çoğalmasını önleyici etki gösterdiği görülmüştür (Demetzos vd., 1994). Ayrıca *Cistus creticus*'un bazı antikanser ilaçlarının (doksorubisin, etopozit, sisplatinin) etkinliğini artırdığı bulunmuştur (Dimas vd., 2006).

2.3.3. Antioksidan Aktivite

Oksidasyon, lipidleri ve özellikle doymamış yağ asitlerini etkileyen ve ilk ürün olan lipid hidroksiperoksitlerin oluşumuna neden olan bir prosestir (Özer, 1995). Lipit oksidasyonu et ve et ürünlerinin kalitesini ve kabul edilebilirliğini etkileyen en önemli faktörlerden birisidir (Morrissey vd., 1998). Gıdaların rengi, tadı, aroması, tekstürü ve besin öğeleri üzerinde olumsuz etkisi olan oksidasyon reaksiyon zinciri, fotooksidatif veya serbest radikallerin otokataliz mekanizması yolu ile gerçekleşmektedir (Demirkaya, 2014; Ulu, 2004).

Lipit oksidasyonuna sebep olan serbest radikal mekanizması başlangıç, yayılma ve sonlanma basamaklarından oluşmaktadır (Şekil 2.11). Başlangıç aşamasında ki serbest radikaller trigliserid veya doymamış yağ asidi molekülünden oluşmaktadır ve bu aşamada enerji kaynağı ısı, ışık, oksijen ve yüksek enerjili radyasyon olabilmektedir. Başlangıç aşamasında yağ asidi zincirine komşu metilen karbonuna bağlı kararsız yapıdaki hidrojen (H) yapıdan uzaklaşarak alkil radikal oluşmaktadır (Gandemer, 2002; Guillen-Sans ve Guzman-Chozas, 1998). Yağ asidindeki çift bağ sayısı arttıkça metilen karbonundan hidrojeni uzaklaştırmak daha kolay hale gelmektedir (Gandemer, 2002). Yayılma aşamasında oluşan serbest radikal ile oksijen arasında bir reaksiyon

başlayarak peroksit radikal (ROO•) oluşmakta ve oluşan bu yeni radikal, trigliserid veya yağ asidiyle tepkimeye girerek oksidasyonun birincil ürünleri olan hidroperoksitleri oluşturmaktadır (2) (Guillen-Sans ve Guzman-Chozas, 1998). Sonlanma aşaması kompleks reaksiyonlarla, çok sayıda uçucu ve uçucu olmayan bileşiklerin oluşumuna yol açan hidroperoksitlerin parçalanmasıyla başlamaktadır ve serbest radikal miktarı çok fazla arttığında iki serbest radikal birleşmekte ve reaksiyon sonlanma aşamasına ulaşmaktadır (3) (Hoac vd., 2006).



Şekil 2.11. Lipit oksidasyon mekanizması (RH: yağ asidi, R•: alkil radikal, ROO•: peroksit radikal, ROOH: hidroperoksit, ROOR: oksidasyon ürünü) (Guillen-Sans ve Guzman-Chozas, 1998)

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde eşleşmemiş elektron bulunduran moleküllerdir. Eşleşmemiş elektron bulundurmaları nedeniyle genellikle kararsız ve çok reaktiftirler. Serbest radikaller reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif azot türleri (RNS) olarak ifade edilirler, oksijen ve azot kaynaklı olabilirler. Reaktif oksijen türleri; süperoksit (O₂•⁻), peroksil (ROO•), hidroksil (OH•), hidroperoksil (HO₂•), alkoksi (RO•) radikallerinden oluşmaktadır. Reaktif azot türleri; azot oksit (NO•), Azot dioksit (NO₂•) radikallerinden oluşmaktadır (Fang vd., 2002).

Hücre yapılarında yüksek konsantrasyonlarda bulunan serbest radikaller, nükleik asitlerde, lipitlerde ve proteinlerde hasara neden olur ve oluşan bu hasarlar başta kanser olmak üzere kalp damar hastalıkları gibi çeşitli hastalıklara sebep olmaktadır. Serbest radikallerin bazıları metabolik reaksiyonlar sırasında meydana gelmekle beraber, kirlilik, radyasyon, sigara gibi çevresel faktörler de serbest radikal oluşumuna sebep olmaktadır (Kaur ve Kapoor, 2001).

Antioksidanlar, oksidasyonu inhibe eden maddeler olarak tanımlanırlar. Antioksidan maddeler, serbest radikal bulunduran hedef molekülden bir elektron alarak veya elektron vererek onu etkisiz kılarlar ve bu şekilde serbest radikal zincirleme reaksiyonlarını durdurabilirler. Her durumda kararlı olduklarından dolayı serbest radikale dönüşmezler ve etrafındaki serbest radikalleri süpürücü etki gösterirler. (Ipek vd., 2008; Takım, 2010).

Antioksidan savunma çeşitli mekanizmalarla meydana gelebilir. Bu mekanizmalar (Ulusoy, 2010):

1. Radikal metabolit üretiminin önlenmesi (scavenging/temizleyici etki): Serbest radikalleri yakalar veya oluşmuş olan radikalleri daha az zararlı hale getirirler ve yeni radikal oluşumunu önlerler (glutatyon peroksidaz enzimleri, metal bağlayıcı bazı proteinler).

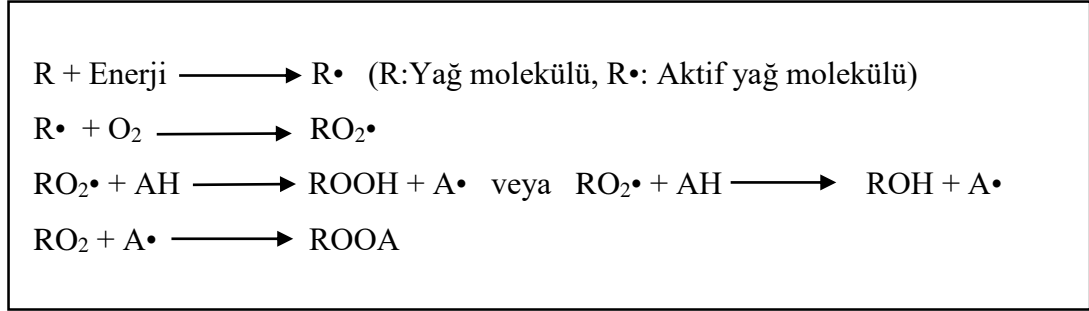
2. Üretilmiş radikallerin temizlenmesi (quencher/giderici etki): Serbest radikallerle birleşip, onlara bir hidrojen vererek aktivitelerini söndüren bileşiklerdir (C vitamini, β -karoten, α -tokoferol, flavonoidler).

3. Hücre deformasyonunun onarılması (repair/tamir edici etki): DNA tamir enzimleri, metiyonin sülfoksit redüktaz bu grupta yer alır.

4. Sekonder radikal üreten zincir reaksiyonlarının durdurulması (chain breaking/zincir kırıcı etki): Zincirleme olarak devam eden tepkimeleri kırarak, oksidan etkiyi durdururlar (vitaminler, ürik asit, bilirubin, albumin, hemoglobinin).

5. Endojen antioksidan kapasitesinin artırılması

Antioksidanların etki mekanizması Şekil 2.12’de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.12. Antioksidanların etki mekanizması (AH: antioksidan molekülü, A•: antioksidan etkin molekülü) (Karaman, 2008).

Vitaminler, flavonoidler, karotenoidler ve polifenoller besin maddelerinde bulunan ve insan vücudunu serbest radikallerden koruyan doğal antioksidan meddelerdir. Yapılan araştırmalarda antioksidan içeren gıdaların tüketimiyle kanser, kalp ve damar hastalıklarının görülme oranında büyük ölçüde azalma olduğu görülmüştür (Rice-Evans vd., 1997).

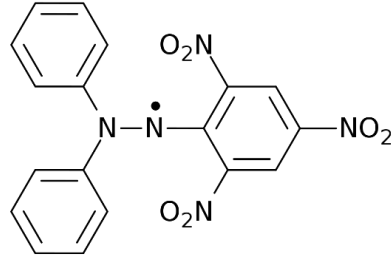
Bitkilerdeki antioksidan aktivite enzimatik sistemler (peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz) ve antioksidan moleküllerden (askorbik asit, tokoferol, fenolik bileşikler) kaynaklanmaktadır (Leja vd., 2003).

Antioksidan bileşiklerin vücut içinde üretilebilir ve dışarıdan gıda yolu ile de alınabilirler. Bu bileşiklerin gıda endüstrisinde ürünlerin kalitesini ve besin değerlerini korumak amacıyla kullanımları mevcuttur. Antioksidanlar besinlerin acılaşmasını, çürümesini geciktirici özelliğe sahip olduklarından dolayı özellikle yağlarda ve yağlı ürünlerde havadaki oksijenin sebep olduğu otooksidasyonu yavaşlatmak için kullanılmaktadırlar. Böylelikle yağların tadını, kokusunu, rengini yani kalitesini korumaya yardımcı olurlar. Ortamda az miktarda bulunsalar dahi etkinlik gösterebilirler (Şen, 2011).

Antioksidanların bu faydaları sebebiyle yiyecek ve biyolojik sistemlerde doğal olarak oluşan antioksidan bileşiklere olan ilgi artmıştır ve doğal olarak bulunan birçok molekülün antioksidan kapasitesinin çalışılması önem kazanmıştır (Albayrak vd., 2010). Antioksidan kapasiteyi belirlemek amacıyla farklı birçok yöntem

geliştirilmiştir. Toplam antioksidan kapasitenin belirlenmesinde kullanılan yöntemler, hidrojen atom transfer (HAT) reaksiyonlarına dayanan yöntemler ve elektron transferine (ET) dayanan yöntemler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. HAT temelli yöntemlerin birçoğu azobilesiklerin bozulması ile oluşan peroksil radikalleri için antioksidan ve substratın rekabetine dayanan yarışmalı kinetik reaksiyonları kullanmaktadır (Cao vd., 1997). Oksijen radikal absorpsiyon kapasitesi yöntemi (ORAC), toplam radikal tuzaklayıcı antioksidan parametre yöntemi (TRAP) ve karotenoid (Krosin) ağartma yöntemi hidrojen atom transfer reaksiyonlarına dayanan yöntemlerdir (Büyüktuncel, 2013). ET temelli yöntemler ise antioksidanın oksidantı indirgeme yeteneğini renk değişimi ile ölçmektedir (Cao vd., 1997). Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite yöntemi (TEAC), demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan güç yöntemi (FRAP), 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürme kapasitesi yöntemi, Cu(II)'nin oksidant olarak kullanıldığı toplam antioksidan potansiyel yöntemi (CUPRAC) elektron transferine dayanan yöntemlerdir (Büyüktuncel, 2013).

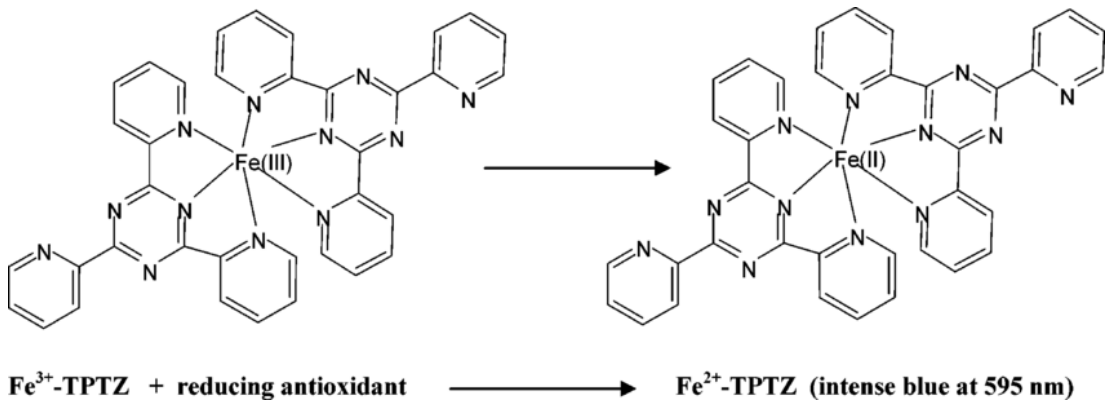
DPPH radikal süpürücü kapasite analizi antioksidan kapasitenin belirlenmesinde en yaygın olarak kullanılan spektrofotometrik yöntemlerdendir (Sharma ve Bhat, 2009). DPPH radikali (Şekil 2.13), tek elektronun molekül üzerinde dimerizasyonunu önleyen yapısı sebebiyle stabil bir serbest radikal olarak sınıflandırılır. Antioksidan çözeltilinin DPPH çözeltilisine ilave edilmesi sonucu antioksidanlar radikallere proton verir ve onları indirger. İndirgeme sonucunda çözeltilinin rengi mor menekşe renginden sarı renge doğru bir değişim gösterir ve ölçülen dalga boyundaki absorbans değerinde düşüş gözlemlenir (Haida ve Hakiman, 2019). Farklı konsantrasyonlarda numune ile muamele edilen DPPH radikalinin absorbansındaki değişim ölçülerek absorbanlara karşılık gelen konsantrasyonlara karşı bir grafik çizilerek denklem ile DPPH konsantrasyonunu yarıya düşüren numune miktarı mg/ml ya da µg/ml cinsinden hesaplanır ve sonuçlar SC₅₀ ya da IC₅₀ değeri olarak ifade edilir (İskefiyeli, 2014).



Şekil 2.13. DPPH radikali

DPPH analizi, radikal bileşiğin stabil olması ve üretilmesinin gerekmemesi sebebiyle, antioksidanların aktivitesini değerlendirmek için ucuz, hızlı, doğru, kolay ve ekonomik bir metod olarak kabul görmektedir. DPPH reaktifi çok zayıf antioksidanlar dahil olmak üzere örnek karışımdaki tüm bileşenlerle etkileşebilir, hem lipofilik, hem de hidrofilik antioksidanlarla reaksiyona girebilir (Kedare ve Singh, 2011).

Yaygın kullanılan antioksidan kapasite belirleme analizlerinden biride FRAP yöntemidir. Bu yöntem, gıdalarda bulunan antioksidan maddelerin indirgen güçlerinin veya kapasitelerinin ölçülmesi prensibini taşımaktadır (Benzie ve Strain, 1999; Huang vd., 2005; Oğuz, 2008). Bu yöntemde göre indirgeme gücü, dolaylı olarak toplam indirgeme potansiyelini gösterir ve Fe^{+3} 'ün Fe^{+2} 'ye indirgenmesiyle (Şekil 2.14) oluşan renk değişimi 595 nm'de absorbansı ölçülerek belirlenir (Akyüz, 2007). Asidik ortamda Fe^{+3} 'ün, TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazin) ile reaksiyonu sonucu $[Fe(III)-TPTZ] 2Cl_3$ bileşiği oluşur ve antioksidanların varlığında $Fe(II)$ -tripiridiltriazin $[Fe(II)-TPTZ]$ bileşiğine indirgenir. Oluşan mavi renkli demir tuzu $[Fe(II)-TPTZ]$ oksidan olarak kullanılır (Albayrak vd., 2010; Benzie ve Strain, 1999).



Şekil 2.14. Fe^{+3} 'ün Fe^{+2} 'ye indirgenmesi

Yapılan birçok çalışmada *Cistus* türlerinin antioksidan aktivite gösterdiği görülmüştür. *Cistus ladaniferus*'un metanol ve etanol özütlerinin antioksidan aktiviteleri değerlendirilmiş ve karşılaştırılmıştır. Metanol ekstraktı etanol ekstraktından çok daha yüksek DPPH radikal süpürme aktivitesi sergilemiş, metanol ve etanol ekstreleri en yüksek konsantrasyonda sırasıyla %87,72 ve %50,10 inhibisyon ile DPPH radikallerinin oluşumunu inhibe etmiştir. *C. ladaniferus*'un metanol ekstraktının DPPH radikal temizleme kapasitesi troloks ve askorbik asitinkine benzer olduğu belirtilmiştir. *Cistus ladaniferus*'un gıda endüstrisi tarafından kullanılmak üzere iyi bir doğal antioksidan kaynağı olabileceği söylenmiştir (Amensour vd., 2010).

Cistus creticus, *Cistus salvifolius*, *Cistus libanotis*, *Cistus monspeliensis* ve *Cistus villosus* esansiyel yağlarının antioksidan aktiviteleri değerlendirilmiştir. *C. monspeliensis*'in β -karoten ağartma testinde umut verici bir antioksidan aktivite gösterdiği görülmüştür (IC₅₀: 54,7 μ g/ml). FRAP testine göre *C. libanotis*, en yüksek değeri göstermiştir (19,2 μ M Fe (II)/g). Farklı *Cistus* türlerinin uçucu yağlarının gıda katkı maddesi olarak değerlendirilebileceği belirtilmiştir (Loizzo vd., 2013).

Cistus incanus ve *Cistus monspeliensis*'ten elde edilen sulu ekstraktların serbest radikal temizleme kapasiteleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. *Cistus monspeliensis* sulu ekstraktı, *Cistus incanus* sulu ekstraktından daha aktif olarak, doza bağımlı bir süperoksit temizleme etkisi göstermiştir. Ekstraktların serbest radikal süpürücü aktivitesi DPPH analizi ile de test edilmiş ve bu test ile bileşiklerinin kararlı serbest bir radikal ile reaktivitesi hakkında bilgi edinilmiştir. Testin sonucunda *Cistus monspeliensis*'in sulu ekstresinin *Cistus incanus* ekstraktından daha etkili olduğu görülmüştür (Attaguile vd., 2000).

C. ladanifer ve *C. populifolius* yapraklarının sulu ekstraktlarının fenolik ve tanen içeriği belirlenmiş, antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. *C. populifolius* özütünün *C. ladanifer* özünden daha güçlü bir antioksidan olduğu görülmüş, ancak *C. ladanifer* özütü peroksil radikallerini inhibe etmek için daha etkili olmuştur. Her iki ekstredeki ana bileşikler ellagitanninler ve özellikle ellagitanninlerin punicalagins türevleri olduğu belirtilmiştir (Barrajon-Catalan vd., 2010).

C. salviifolius'dan elde edilen üç farklı fraksiyonun, radikal süpürücü olan "Fremy's salt" üzerindeki indirgeme etkileri incelenmiş, en yüksek etkiyi gösteren fraksiyon üzerinde izolasyon çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda fraksiyonun fazla miktarda oligomerik proantosiyanidin taşıdığı görülmüştür (Qa'dan vd., 2006).

C. laurifolius bitkisinin yapraklarının metanollü ekstresinin antioksidan aktivitesine bakılmış, olumlu aktivite görüldükten sonra yapılan izolasyon çalışması ile aktif bileşiklerin tespiti yapılmış; buna göre, iki fenolik grup sebebiyle bir lignan glikoziti olan olivil 9-*O*- β -D-ksilozit en yüksek antioksidan aktiviteyi göstermiştir (Sadhu vd., 2006).

Aynı bitki üzerinde yapılan başka bir çalışmada bitkinin lipid peroksidasyonu üzerine etkisi in-vivo olarak ölçülmüş, görülen etki üzerine yürütülen izolasyon çalışmalarında aktif bileşiğin kersetin-3,7-dimetil-eter olduğu bulunmuştur (Küpeli vd., 2006).

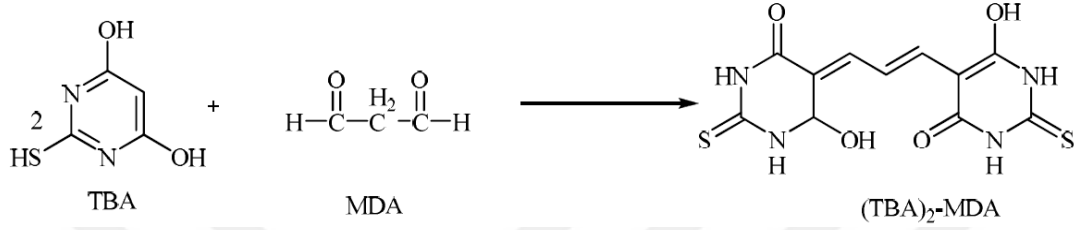
2.4. Et ve Et Ürünlerinde Lipit Oksidasyonu

Et, yüksek doymamış lipit konsantrasyonları, hem pigmentleri, metal katalizörleri ve kas dokusundaki bir dizi oksitleyici madde içermesi ve kesimden sonra endojen antioksidanların hızla tükenmesi sebebiyle oksidatif bozulmaya müsaittir (Xiao vd., 2011).

Havadaki oksijen ile gıdada bulunan yağ arasında oluşan ve otooksidasyon olarak da adlandırılan reaksiyonlar, lipit oksidasyonu olarak tanımlanır (Gandemer, 2002). Lipit oksidasyonu et ve et örneklerinin kabul edilirlüğünde önemli bir sınırlayıcı kalite parametresidir. Gıda ürünlerinde istenmeyen bu tür reaksiyonlar; koku, renk ve tatta değişimlerin meydana gelmesi, bazı bileşiklerdeki parçalanmalar ve toksik bileşikler oluşması gibi üründe kalite sorunlarına sebep olmaktadır (Aksu, 2003).

Oksidasyon reaksiyonları başlıca üç aşamada gerçekleşmektedir ve bu reaksiyonlar sonucunda hidroperoksitler, peroksitler, aldehitler ve ketonlar gibi oksidasyon ürünleri meydana gelmektedir. Lipidoksidasyonu sonucu meydana gelen aldehitlerden biri malonaldehit (MA)'tir. MA'in üründe birikmesi, oksidasyon düzeyini belirlemede önemli bir etmenddir (Mielnik vd., 2006).

Et ve et ürünlerinde lipit oksidasyonunun düzeyini belirlemede yaygın olarak TBA analizi kullanılır. Bu analiz MA miktarının belirlenmesine dayanmaktadır. TBA analizi ile miktarı belirlenen MA, üç karbonlu bir aldehit türevidir olup, bu bileşiğin ortamda bulunma düzeyi etin oksidasyon düzeyi ile doğru orantılıdır (Mielnik vd., 2006). TBARS analizinde TBA₂-MDA kompleksinin oluşumu Şekil 2.15’de gösterilmiştir.



Şekil 2.15. TBARS analizinde TBA₂-MDA kompleksinin oluşumu (Bekdeşer, 2012)

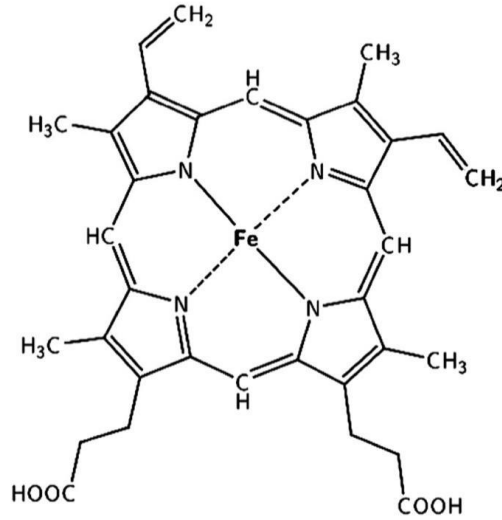
Et ve et ürünlerini oksidatif stabilitesi pro-oksidanların konsantrasyonu, enzimatik aktivite, pH ve sıcaklık gibi faktörlerin yanı sıra farklı hayvan türleri arasında değişen protein ve lipit fraksiyonunun bileşimi gibi etkenlere bağlıdır (Sample, 2013). Bu faktörlere ek olarak protein fraksiyonundaki miyoglobin ve demir konsantrasyonunda etin oksidasyon hızını etkileyebilmektedir (Faustman vd., 2010).

Ürünlerdeki serbest demirin lipit oksidasyonu hızlandırdığı bilinmektedir. Aynı zamanda pişmiş et ürünlerinde hem olmayan demir lipit oksidasyonunun en büyük katalistidir (Karabudak, 2003).

Ette demir; heme (Şekil 2.16) ve heme olmayan şekilde iki formda bulunmaktadır. Heme molekülünün merkezindeki demir atomu oksijenin dokulara taşınmasını, özellikle kalp kasında olmak üzere dokularda oksijenin ara geçişli depolanmasını ve solunum zincirinde elektronların taşınmasını sağlar. Heme demir, insan diyetinde alınması gereken toplam demirin %10-15’lik kısmını oluşturmaktadır. Hem demir kas, organ dokularındaki myoglobin ve hemoglobinin yapısında yer almaktadır. (Tahtabıçen, 2008).

Piştirilmiş etlerde hem olmayan demir hem demirden daha sık aktif katalisttir. Piştirme sonucu hem pigmentleri yıkılır ve bağlı hem olmayan demirin önemli bir miktarı serbest kalır. Serbest demir piştirilmiş etlerde lipit oksidasyonunu hızlandırdığı bilinmektedir (Apte ve Morrissey, 1987).

Heme demir değeri TBA değeri ve peroksit sayısı ile negatif korelasyon göstermektedir. Yani heme demir değeri azaldıkça, TBA değeri ve peroksit sayısı da artmaktadır. Heme demir değerinin azalması, demirin serbest bırakılarak heme olmayan demir miktarının artmasına sebep olur. Bu negatif korelasyon; piştirme et ve ürünlerinde lipit oksidasyonunun katalize edilmesinden heme olmayan demirin sorumlu olduğu görüşünü verir (Bayrak, 2011).



Heme
iron (II) protoporphyrin IX

Şekil 2.16. Hem demir şematik gösterimi

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyaller

Cistus creticus bitkisi Akdeniz Bölgesi'nde ki farklı şehirlerden toplatılarak harmanlanmıştır. Sulu ekstre eldesi için sanayi ölçekli ekstraktörler kullanılmıştır.

Sosis üretimi için gerekli hammadde, kimyasal ve ekipman Torcu Panagro Et ve Süt Entegre Tesisi tarafından sağlanmış, üretim fabrikanın Et AR-GE birimindeki pilot tesiste gerçekleştirilmiştir. Ürün üretimi gerçekleştirildikten sonra yine fabrikada modifiye atmosferde paketlenme (MAP) işlemi yapılmış, ambalaj materyali fabrikadan temin edilmiştir.

Bu çalışmada; metanol (CH₃OH), 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), sodyum asetat •3H₂O (NaC₂H₃O₂ •3H₂O), glasiyal asetik asit (CH₃COOH), hidroklorik asit (HCl), 2,4,6-Tripridil-s-triazin (TPTZ), demir (III) klorid heksahidrat (FeCl₃•6H₂O), alüminyum klorür (AlCl₃), kuersetin (C₁₅H₁₀O₇), folin-ciocalteu fenol reaktifi, sodyum karbonat (Na₂CO₃), gallik asit ((HO)₃C₆H₂CO₂H), trikloroasetik asit (CCl₂COOH), 2-tiyobarbiturik asit (C₄H₄N₂O₂S), aseton (CH₃COCH₃) kimyasalları kullanılmıştır. Mikrobiyolojik analizlerde plate count agar (plaka sayısı agar), MRS agar (de man, ragosa and sharpe), potato dextrose agar (patates dekstroz agar) besiyerleri kullanılmıştır.

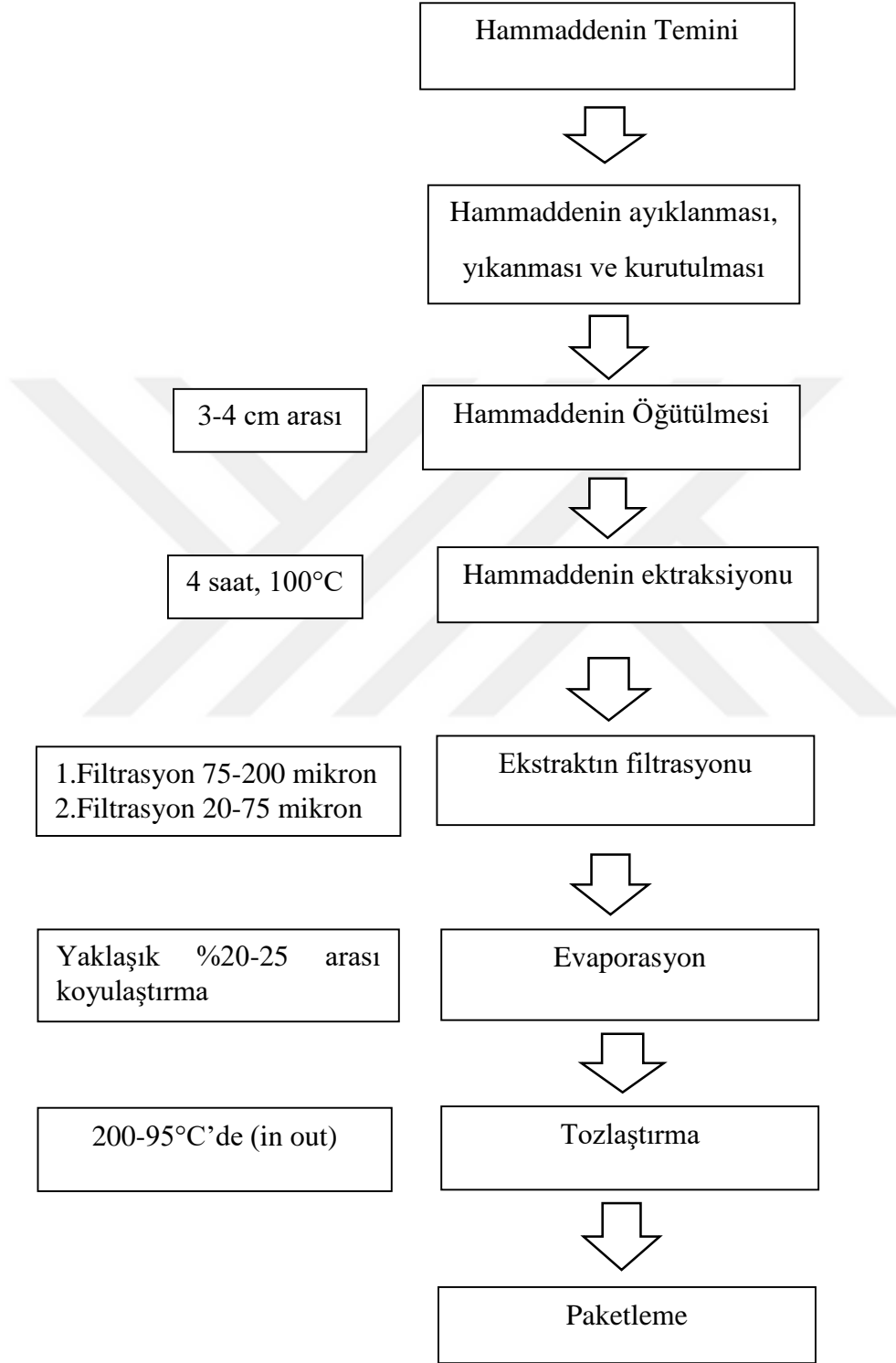
3.2. Metod

3.2.1. *Cistus creticus* Üretimi ve Kimyasal Analizler

3.2.1.1. *Cistus creticus* Sulu Ekstresinin Eldesi

Cistus creticus bitkisi toplanıp kök ve topraklarından arındırılmış yıkanarak kurutulmuştur. Hammadde 3-4 cm partikül boyutunda olacak şekilde öğütülerek sanayi tipi ekstraktörler yardımıyla 100°C sıcaklıkta 4 saat su ile ekstrakte edilmiştir. Elde edilen ekstrakt ilk olarak 75-200 mikron ve daha sonra 20-75 mikron filtrelerden süzülüş ve evaporatörde yaklaşık %20-25 oranında yoğunlaştırma yapılmıştır. Ürün

sprey kurutucu ile toz forma getirilerek paketlenmiştir. Ekstraksiyon işlemi akışı şematik olarak Şekil 3.1’de gösterilmektedir.



Şekil 3.1. *Cistus* ekstraksiyonu

3.2.1.2. *Cistus* Ekstresine Uygulanan Kimyasal Analizler

3.2.1.2.1. 2,2-Difenil-1-pikrihidrazil (DPPH) Radikal Söndürücü Kapasite Analizi

Cistus ekstresinin DPPH antioksidan kapasitesini belirlemek amacıyla çeşitli derişimlerde ekstrakt distile su ile sanikatör (Elma S120H Elmasonic, Germany) kullanılarak çözüldürülmüş ve hazırlanmıştır. Bu stok çözeltilerin 50µL'lik kısımları %0,004'lük (w/v) DPPH metanol çözeltilisinin 5 mL'si ile karıştırılmıştır. 30 dk karanlıkta inkübasyon sonunda absoransı mikropak okuyucu (Synergy H1 Microplate Reader Biotek, Malaysia) ile 517 nm'de ölçülerek absorans sonuçları boş kontrole (50 µl su) karşı değerlendirilmiştir. Absorbanslara karşılık gelen konsantrasyonlara karşı bir grafik çizilerek elde edilen denklem ile DPPH konsantrasyonunu yarıya düşüren numune miktarı µg/mL cinsinden hesaplanmış ve IC₅₀ değeri olarak ifade edilmiştir (Cuendet vd., 1997).

3.2.1.2.2. Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü (FRAP) Analizi

Cistus ekstresinin demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan kapasitesini belirlemek amacıyla aşağıdaki adımlar takip edilmiştir.

- I. İlk olarak seyreltik HCl (40 mM) çözeltilisi hazırlanmış bu amaçla 1,46 mL derişik HCl (11M) 1 L ölçü balonuna alınmış ve hacim çizgisine kadar distile suyla tamamlanmıştır. Oda sıcaklığında depolanmıştır.
- II. TPTZ (10 mM) çözeltilisi hazırlamak için 0,031g TPTZ tartılıp üzerine 10 mL seyreltik hidroklorik asit (HCl) (40 mM) ilave edilerek 50°C'de su banyosunda çözüldürülmüştür. Bu karışım deney günü taze olarak hazırlanmıştır.
- III. Demir (III) klorür çözeltilisi için ise (20 mM), 0,054g FeCl₃.6H₂O 10 mL distile suda çözüldürülmüştür. Bu karışım deney günü taze olarak hazırlanmıştır.
- IV. FRAP karışımı hazırlamak amacıyla 20 mL asetat tamponu, 2 mL TPTZ ve 2 mL FeCl₃ karıştırılmıştır. Bu karışım deney günü taze olarak hazırlanmıştır.
- V. Standart olarak kullanılan Demir (II) sülfat çözeltilisi için 27,8 mg FeSO₄.7H₂O tartılarak 100 mL saf suda çözüldürülmüş ve farklı konsantrasyonlarda (0,1;0,2;0,4;0,6;0,8;1,0 mM) seyreltik stok çözeltiler hazırlanmıştır.

VI. Deney için test tüplerinde 30 µL bitki ekstraktı (2,5 mg cistus/10 mL su) veya standart, 90 µL saf su ve 900 µL FRAP karışımı karıştırılmış ve 37°C de 15 dk inkübasyondan sonra mikropalak okuyucu (Synergy H1 Microplate Reader Biotek, Malaysia) ile 515 nm’de okuma yapılmıştır. Standart kullanılarak çizilen kalibrasyon eğrisinden lineer regresyon ile antioksidan aktivite ($\mu\text{M}/\text{Fe}^{+2}$ g) hesaplanmıştır (Riahi vd., 2013).

3.2.1.2.3. Toplam Fenolik Madde Miktarı Analizi

Folin-Ciocalteu metodu kullanılmış ve analiz için 0,5 mL seyreltilmiş *Cistus* ekstraktı (2,5 mg/10 mL) ile 2 mL folin reaktifi karıştırılmış ve 5 dk bekletilmiştir. Üzerine 2,5 mL %7,5’lik Na_2CO_3 sulu çözeltisi ilave edilerek karanlıkta 90 dk bekletilmiştir ve mikropalak okuyucu (Synergy H1 Microplate Reader Biotek, Malaysia) ile 760nm’de okuma yapılmıştır.

Standart grafiğinin çizilmesi amacıyla 10 mg gallik asit 100 mL distile suda çözülerek farklı konsantrasyonda (0-0,6 µg/mL) stok çözeltiler hazırlanmıştır. Özütlelerin toplam fenolik bileşik miktarları gallik asit kalibrasyon grafiğinden elde edilen veriler kullanılarak mg/g gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır (Riahi vd., 2013; Singleton ve Rossi, 1965).

3.2.1.2.4. Toplam Flavonoid Madde Miktarı Analizi

Analiz için 1mL %2’lik AlCl_3 methanol çözeltisi ile 1mL seyreltilmiş *Cistus* ekstraktı (1 mg/mL) karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında 15dk inkübasyondan sonra 430 nm’de okuma yapılmıştır.

Standart grafiğinin çizilmesi amacıyla 10 mg kuersetin 100 mL distile suda çözülerek farklı konsantrasyonda (0-0,6 µg/mL) stok çözeltiler hazırlanmıştır. Toplam flavonoid konsantrasyonu kuersetinin standart olarak kullanıldığı standart grafik denklemlerinden mg/g kuersetin eşdeğeri olarak hesaplanmıştır (Djeridane vd., 2006; Riahi vd., 2013).

3.2.2. Kokteyl Sosis Üretimi ve Depolama

Sosis üretimi Torku Panogro Et ve Süt Entegre Tesisi Et Ar-Ge birimindeki pilot tesiste gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.2, Şekil 3.3, Şekil 3.4). Her bir gruptaki sosislerin emülsiyonları Tablo 3.1’de ki formülasyona göre ayrı ayrı kuterde hazırlanmıştır. Hammaddenin tamamı fabrikadan sağlanmış ve üretime başlamadan önce yağ-su emülsiyonu elde edilerek 4 °C’de et ve emülsiyon bekletilmiştir. Kutere sığır eti, yağ emülsiyonu, tuz, sıvı tütsü ve baharat karışımı koyularak ön parçalama işlemi gerçekleştirilmiştir.

Üretimde dört farklı örnek grubu hazırlanmıştır. Kontrol grubu fabrikada kullanılan standart formülasyonda olup %0,02 oranında askorbik asit ve %0,05 oranında sodyum askorbat içermektedir. Diğer örnek gruplarına askorbik asit ve sodyum askorbat ilave edilmeyerek; CC1 örnek grubuna %0,05, CC2 örnek grubuna %0,07, CC3 örnek grubuna %0,01 oranında *Cistus* ekstresi ilave edilmiştir.

Kuterdeki karışıma *Cistus* ekstresinin ve diğer katkılarında eklenmesiyle emülsiyon oluşumu tamamlanıncaya kadar parçalama ve karıştırma işlemine devam edilmiştir. Kuterde emülsiyonu oluşturma sürecinde ortam sıcaklığının 11-12°C’nin üzerine çıkmamasına dikkat edilmiştir. Hazırlanan her bir grup sosis emülsiyonları, ayrı ayrı otomatik dolum makinası yardımıyla suni kılıflara dolum işlemi yapılmıştır. Sosis pişirme işlemi kurutma ve pişirme adımları takip edilerek yapılmıştır. İlk adımda fırın sıcaklığı 60-70°C olacak şekilde ürünlere 40 dk süre ile kurutma işlemi uygulanmış daha sonra fırının fan hızı düşürülerek %90 nispi nemde 80°C’de ürünlerin iç sıcaklığı 72°C oluncaya kadar pişirme işlemi yapılmıştır. Pişirilerek soğutulan sosis örnekleri MAP (Modifiye Atmosferde Paketleme) makinasında paketlenmiştir. Ambalajlanan sosis örnekleri, yapılacak analizler için buzdolabı (0-4°C) koşullarında muhafaza edilmiştir. Sosis üretim şeması Şekil 3.5’de verilmiştir.



Şekil 3.2. Kokteyl sosis üretimi (Kuterde karıştırma)



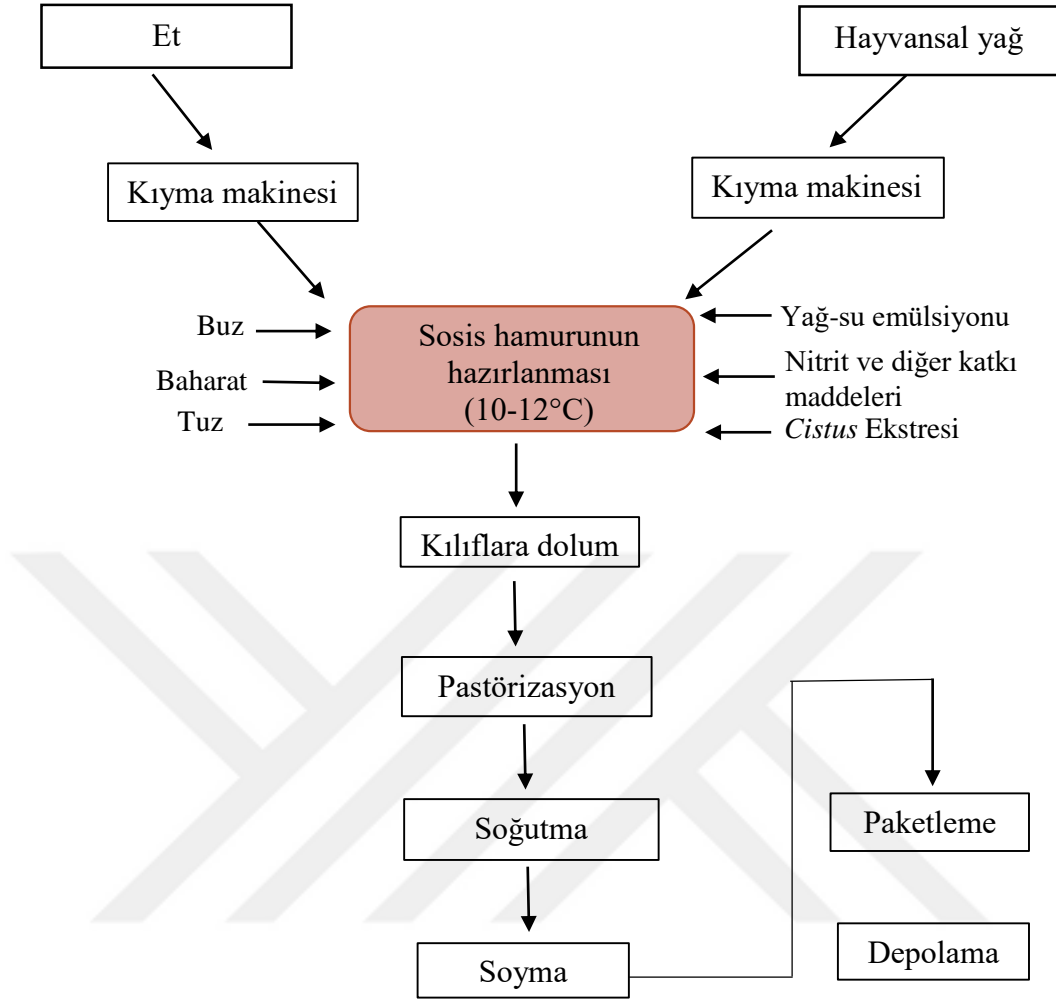
Şekil 3.3. Kokteyl sosis üretimi (Kılıflara dolum)



Şekil 3.4. Kokteyl sosis üretimi (Pişirme öncesi)

Tablo 3.1 Örnek gruplarına ait sosis formülasyonları

	Kontrol	CC1 (%0,05)	CC2 (%0,07)	CC3 (%0,1)
Sığır Eti	5,085	5,085	5,085	5,085
Yağ Emülsiyonu	1,5	1,5	1,5	1,5
Sıvı Sodyum Laktat	0,25	0,25	0,25	0,25
Buz	2,25	2,25	2,25	2,25
Baharat Karışımı	0,105	0,105	0,105	0,105
Sodyum Laktat / Sodyum Diasetat	0,03	0,03	0,03	0,03
Toz Tütsü	0,015	0,015	0,015	0,015
Doğal Renklendirici	0,004	0,004	0,004	0,004
Fonksiyonel Karışım	0,645	0,645	0,645	0,645
Nitrit tuzu (%1,2)	0,110	0,110	0,110	0,110
Askorbik Asit	0,002	----	----	----
Sodyum Askorbat	0,005	----	----	----
Cistus Ekstraktı	----	0,005	0,007	0,01
Toplam (kg)	10,001	9,999	10,001	10,004



Şekil 3.5. Sosis üretim akış şeması

3.2.2.1. Sosis Örneklerinin Fizikokimyasal Analizleri

3.2.2.1.1. Tiobarbitürik Asit Reaktif Madde (TBARS) Analizi

TBARS analizi için; 10 g sosis örneği santrifüj tüplerine tartılmış ve üzerine 20 mL %10'luk triklor asetik asit (TCA) ilave edilerek homojenizatör (Wisetis Homogenizer HG-15D, DAIHAN Scientific Co., Korea) ile homojenize edilmiştir. Karışım 4°C, 3500 rpm'de 30 dk santrifüj (Hettich Rotina 380 R, Germany) edilmiş ve daha sonra homejenat vakum pomapası (Rocker 400, Taiwan) kullanılarak filtre kağıdı (Whatman No:1) ile süzülmüştür. Süzüntüden 2 mL alınarak üzerine 2 mL 0,02 M TBA (2-thiobarbitürik asit) çözeltisinden ilave edilerek karıştırılmış ve 97 °C'deki kaynar su banyosunda 30-35 dakika tutulmuştur. Oda sıcaklığında soğutulduktan sonra

mikroplaka okuyucuda (Synergy H1 Microplate Reader Biotek, Malaysia) 532 nm dalga boyunda tanığa karşı absorbans değeri okuması gerçekleştirilmiştir (Lemon, 1975).

3.2.2.1.2. Hem Demir Miktarının Belirlenmesi

Hem demir içeriğini belirlemek amacıyla 2 g sosis örneği 50 mL'lik santrifüj tüplerine tartılmıştır. Her bir tüpe 9 mL (%90 aseton, %8 deiyonize su, 2 N %2 HCl) karışımı ilave edilerek 250 rpm'de 45 sn homojenizatör (Wisetis Homogenizer HG-15D, DAIHAN Scientific Co., Korea) ile homojenize edilmiştir. Tüpler sıkıca kapatılarak 25 °C'de 1 saat karanlıkta tutulmuştur. Daha sonra vakum pompası (Rocker 400, Taiwan) kullanılarak filtrele kağıdı (Whatman No:1) ile süzölmüş ve 640 nm'de absorbans ölçümü yapılmıştır. Hem demir miktarı aşağıdaki formöl kullanılarak µg/g örnek olarak hesaplanmıştır (Clark vd., 1997).

$$\text{Hem demir } (\mu\text{g/g örnek}) = A_{640} \times 680 \times 0,0882 \quad (3.1)$$

A₆₄₀: Ölçölen absorbans değeri

3.2.2.1.3. Nitrosomyoglobin Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Sosislerdeki nitrosomyoglobin konsantrasyonu belirlemek amacıyla 10 gr kıyılmış sosis örneği 50 mL'lik santrifüj tüplerine alınmış, üzerine aseton çözeltisi (40 mL aseton, 3 mL saf su) ilave edilerek 250 rpm'de 30 sn homojenizatörde (Wisetis Homogenizer HG-15D, DAIHAN Scientific Co., Korea) homojenize edilmiştir. 5 dakika bekletildikten sonra 1800 rpm'de 5 dakika süreyle santrifüj (Hettich Rotina 380 R, Germany) edilerek vakum pompası (Rocker 400, Taiwan) ile filtre kağıdı (Whatman No:1) kullanılarak süzölmüştür. Süzöntünün absorbans değeri mikroplaka okuyucu (Synergy H1 Microplate Reader Biotek, Malaysia) ile köre karşı 540 nm'de okunmuş ve bu değeri 290 sabitiyle çarpılarak sonuç mg/kg nitroso hem pigmenti olarak ifade edilmiştir (Park vd., 2013).

3.2.2.1.4. Renk Analizi

Örneklerin Hunter L^* (parlaklık, 0:siyah, 100:beyaz), a^* [-:yeşil (-80), +:kırmızı (+100), 0:gri] ve b^* [-:mavi (-80), +:sarı (+70), 0:gri] değerleri renk ölçüm cihazıyla (HunterLab, USA) belirlenmiştir. Renk değerleri 3 farklı noktadan elde edilmiştir (Cemeroğlu, 2007).

3.2.2.1.5. pH Analizi

pH analizi için örnekler, saf su ile %50 oranında seyreltilerek homojen hale getirilmiştir. pH değerleri, pH metre (Starter 2100, OHAUS) ile ölçülmüştür. Ölçümden önce 4,00 ve 7,00'lik buffer çözeltileri ile pH metre kalibre edilmiştir (Landvogt, 1991).

3.2.2.1.6. Su Aktivitesi Analizi

Su aktivitesi analizi, 25 °C'de AQUA LAB Dew Point Water Aktivite Meter (USA) su aktivitesi ölçüm cihazı ile yapılmıştır. Analiz için numuneler blenderden geçirilmiş ve analiz üç defa tekrarlanmıştır.

3.2.2.1.7. Su Tutma Kapasitesinin Belirlenmesi

Analiz için yaklaşık 10 g sosis örneği santrifüj tüpüne tartılarak 4°C 5000 rpm'de 15 dakika santrifüj cihazı (Hettich Rotina 380 R, Germany) ile santrifüjlenmiştir. Daha sonra örnekler 90 F°C'ye ayarlanmış bir su banyosunda 15 dakika ısıtılıp oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra tekrar 4 °C, 5000 rpm'de 15 dakika santrifüjlenmiş ve tüplerden çıkarılarak tartılmıştır.

Su tutma kapasitesi şu şekilde hesaplanmıştır (Kim vd., 2019):

$$WHC(\%) = \frac{1-(BW-AW)}{WC} \times 100 \quad (3.2)$$

BW: Isıtma ve santrifüjlemeden önce numunenin ağırlığı (g)

AW: Isıtma ve santrifüjlemeden sonra numunenin ağırlığı (g)

WC: Numunedeki su miktarı (g)

3.2.2.1.8. Sosis Örneklerinin Kimyasal Kompozisyonunun Belirlenmesi

Son ürünlerdeki nem miktarını, ham protein oranını, yağ miktarını, tuz miktarını ve kolajen miktarını belirlemek amacıyla FOSS FoodScan™ (Foss Analytical, model 78800, Höganäs Sweden AB) cihazı kullanılmıştır. Bu cihaz NIR (Near Infrared Reflectance) teknolojisini kullanarak et numunelerinin kimyasal kompozisyonunu saniyeler içerisinde belirleyebilmektedir. Sosis örnekleri analiz edilmeden önce blenderde çekilmiştir. Analize alınan numune cihazın kendi bölmesi olan numune yerleştirme kapsülüne yerleştirilmiş ve okuma yapılmıştır. Bu analiz her örnek grubu için iki defa tekrarlanmıştır.

3.2.2.2. Sosis Örneklerinin Mikrobiyolojik Analizleri

3.2.2.2.1. Toplam Mezofil Bakteri Sayımı

10 g örnek steril stomacher poşetine tartılarak, farklı dilüsyonlardaki bakteriyolojik sayımları belirlemek için 90 mL peptonlu su ile homojenleştirilmiştir. Toplam canlı aerobik bakteri sayımları, plate count agar (PCA) kullanılarak dökme plak (1 mL) yöntemiyle belirlenmiştir. Aşılacak plakalar 2 gün boyunca 37°C'de inkübe edilmiştir. Tüm mikrobiyal sayımlar, et gramı başına koloni oluşturan birimlerin logaritmalarına (log kob/g) dönüştürülerek sonuç hesaplanmıştır (Jridi vd., 2018).

3.2.2.2.2. Toplam Psikrofil Bakteri Sayımı

10 g örnek steril stomacher poşetine tartılarak, farklı dilüsyonlardaki bakteriyolojik sayımları belirlemek için peptonlu su ile homojenleştirilmiştir. Toplam canlı aerobik bakteri sayımları, plate count agar (PCA) kullanılarak dökme plak (1 mL) yöntemiyle belirlenmiştir. Aşılacak plakalar 7 gün boyunca 10°C'de inkübe edilmiştir. Tüm mikrobiyal sayımlar, et gramı başına koloni oluşturan birimlerin logaritmalarına (log kob/g) dönüştürülerek sonuç hesaplanmıştır (Jridi vd., 2018).

3.2.2.2.3. Toplam Laktik Asit Bakteri Sayımı

10 g örnek steril stomacher poşetine tartılmış farklı dilüsyonlardaki bakteriyolojik sayımları belirlemek için peptonlu su ile homojenleştirilmiştir. Laktik asit bakteri sayısını belirlemek için MRS Agar'da dökme yöntemi ile ekim yapılmıştır.

Plaklar 30 ± 1 °C'de 48 saat inkübe edilerek oluşan kolonilerin sayımları et gramı başına koloni oluşturan birimlerin logaritmlarına (log kob/g) dönüştürülerek sonuç hesaplanmıştır (Bridson, 2006).

3.2.2.2.4. Toplam Küf ve Maya Sayımı

10 g örnek steril stomacher poşetine tartılarak, farklı dilüsyonlardaki maya ve küf sayımlarını belirlemek için peptonlu su ile homojenleştirilmiştir. Besiyeri olarak tartarik asit ile pH'sı 3,4-4 arasında ayarlanmış 'Potato Dextrose Agar' kullanılmıştır. Yayma plak yöntemi ile hazırlanan plaklar 25 ± 1 °C'de 5 gün inkübe edilerek oluşan kolonilerin sayımları et gramı başına koloni oluşturan birimlerin logaritmlarına (log kob/g) dönüştürülerek sonuç hesaplanmıştır (Varlık vd., 2004).

3.2.2.3. İstatiksel Analiz

Bütün analizler iki tekrarlı yapılmış olup, sonuçlar ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. Genelleştirilmiş Doğrusal Karışık Model (GLMM) kullanılmış olup, uygulama (örnek) grubu ve depolama süresi sabit etki, tekrar ise şansa bağlı olarak etki olarak değerlendirilmiştir. Ortalamalar arasındaki fark Tukey çoklu kıyaslama testi ($p < 0,05$) yapılarak analiz edilmiştir. StataIC 14 (Stata Corp., College Station, Texas, USA).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. *Cistus* Ekstresi Analiz Sonuçları

4.1.1. 2.2.-Difenil-1-pikrihidrazil (DPPH) Radikal Söndürücü Kapasite Analiz Sonuçları

C. creticus sulu ekstresinin DPPH serbest radikal giderme aktivitesini tespit etmek amacıyla farklı konsantrasyonda örnekler hazırlanmıştır. Kıyaslamak amacıyla C vitamini (askorbik asit) DPPH değeri de tespit edilmiş ve IC₅₀ değeri 5,59 µg/mL olarak bulunmuştur. Bitki ekstrelerinin aktiviteleri standartların aktiviteleri ile karşılaştırılmıştır. DPPH çözeltisinin rengi mordur ve ilave edilen maddeler antioksidan özellik barındırıyorsa DPPH radikalini ortamdaki giderirler ve mor renkli olan çözelti sarımsı bir renge döner. İlave edilen madde DPPH çözeltisinin rengini ne kadar sarıya döndürürse absorban değeri o kadar küçük görülür. Düşük absorban değeri yüksek aktivite manasına gelmektedir.

Analiz sonucunda *Cistus creticus* sulu ekstresinin DPPH serbest radikal giderme IC₅₀ değeri ortalaması 7,85 µg/mL olarak bulunmuştur (Tablo 4.1).

Cistus creticus sulu ekstresinin DPPH serbest radikal giderme aktivitesi ile gıda ürünlerinde saf formda antioksidan katkı maddesi olarak kullanılan askorbik asitin DPPH serbest radikal giderme aktivitesi kıyaslandığında benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bu durum *Cistus creticus* sulu ekstresinin güçlü bir antioksidan olduğunun göstergesidir.

Benzer şekilde; *C. creticus* etanol özütünün antioksidan aktivitesi DPPH radikal süpürme yöntemi ile belirlenmiş ve inhibisyon yüzdelerinin kullanılan ekstrakt konsantrasyonuna bağlı olduğu, ekstrakt konsantrasyonunun artırılmasıyla inhibisyon yüzdelerinde önemli bir yükselme olduğu görülmüştür. *C. creticus* etanol özütünün IC₅₀ değeri 26,64 µg/mL olarak bulunmuştur. Ayrıca ekstrenin antioksidan kapasite değeri BHT ve askorbik asit referansları ile karşılaştırılmış ve *C. creticus* ekstraktının önemli bir antioksidan güce sahip olduğu söylenmiştir (Lahcen vd., 2020).

Cistus salviifolius'un yaprak ve çiçekleri ekstrakte edilerek potansiyel antioksidan kapasitesini belirlemek amacıyla DPPH serbest radikal giderme analizi yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda *Cistus salviifolius* yapraklarının sulu ekstraktlarının (2,18 µg/mL) standart olarak kullanılan gallik asitten (2,24 µg/mL) daha güçlü antioksidan aktivite gösterdiği görülmüştür (Rebaya vd., 2016).

4.1.2. Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü (FRAP) Analiz Sonuçları

Antioksidan bileşiklerin Fe⁺³'ü Fe⁺²'ye indirgeme kapasitelerini ortaya koyan ve elektron transfer esasına dayalı reaksiyonlarından olan ferrik demir iyon indirgeme kapasitesi ölçümünde FeSO₄.7H₂O kullanılarak standart grafiği hazırlanmıştır. 0,1-1,0 mM FeSO₄.7H₂O konsantrasyon aralığında hazırlanan standart grafiği yardımıyla ekstrelerin ferrik demir iyon indirgeme kapasiteleri µM Fe⁺²/g olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.1).

Analiz sonucunda *Cistus creticus* sulu ekstresinin ferrik demir iyon indirgeme kapasitesi ortalama 389,2 µM Fe⁺²/g olarak saptanmıştır.

Yapılan bir çalışmada; İber Yarımadası'nda bol miktarda bulunan *Cistus* cinslerinden sulu ekstraksiyon ve sprey kurutma ile elde edilen ekstraktın antioksidan kapasitesi değerlendirilmiştir. Elde edilen *C. salviifolius* sulu ekstrelerinin bitkinin çiçeklenme döneminde yani Ağustos-Eylül aylarında daha yüksek polifenol ve flavanoid madde içeriğine sahip olduğu, buna bağlı olarak bu ekstrelerin ferrik demir iyon indirgeme kapasitelerinin (435,77 mmol Fe⁺²/100 g) Kasım ayında toplanarak elde edilen sulu ekstrelerin ferrik demir iyon indirgeme kapasitelerinden (318,75 mmol Fe⁺²/100 g) daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Tomás-Menor vd., 2013).

Diğer bir çalışmada; *C. ladanifer* ve *C. populifolius* toprak üstü kısımlarından sulu ekstraktlar hazırlanarak FRAP ve farklı metotlar denenerek ekstrelerin antioksidan kapasiteleri belirlenmiştir. *C. ladanifer* sulu ekstresinin ferrik demir iyon indirgeme kapasitesi 117.72 mmol Fe⁺²/100 g, *C. populifolius* sulu ekstresinin ferrik demir iyon indirgeme kapasitesi 179.10 mmol Fe⁺²/100 g olarak bulunmuştur. Bu bitki yapraklarının, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelere sahip suda çözünür

ellagitanninlerle zenginleştirilmiş polifenolik ekstreler için bir kaynak olduğu söylenmiştir (Barrajon-Catalan vd., 2010).

4.1.3. Toplam Fenolik Madde Miktarı Analiz Sonuçları

Cistus creticus bitkisinden elde edilen ekstredeki toplam çözünebilen fenolik maddeler Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) kullanılarak tespit edilmiştir. Eğer ortamda fenolik bileşik varsa FCR ilave edilen ekstrelerde 760 nm’de maksimum absorban değeri görülür. Absorban değerinin yüksek olması fenolik madde miktarının yüksek olduğunu göstermektedir. Gallik asit kullanılarak standart gallik asit grafiği çizilmiştir. Grafikten elde edilen denklem ile örneklerin toplam fenolik madde miktarı mg gallik asit (GA mg/g ekstrakt) eşdeğeri şeklinde hesaplanmıştır.

Yapılan analizde *Cistus creticus* sulu ekstresinin toplam fenolik ve madde miktarı ortalama 162,3 GA mg/g olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.1).

Benzer şekilde; *C. creticus* etanol özütünün toplam polifenol içeriği Folin-Ciocalteu yöntemiyle test edilmiş ve miligram özüt başına mikrogram gallik asit eşdeğeri (GA µg/mg) olarak ifade edilmiştir. Etanolik ekstrakttaki toplam polifenol içeriğinin $195,11 \pm 4,14$ GA µg/mg ekstrakt düzeyinde olduğu saptanmıştır (Lahcen vd., 2020).

C. creticus'un farklı çözücü ekstraktlarındaki toplam fenolik madde içeriği Folin-Ciocalteu reaktifi ve standart olarak gallik asit kullanılarak belirlenmiştir. Ekstraktlar arasında en yüksek fenolik içeriğin (130,32 mg GA/g) *Cistus* etanol ekstraktında olduğu görülmüştür (Kilic vd., 2019).

4.1.4. Toplam Flavonoid Madde Miktarı Analiz Sonuçları

Cistus creticus bitkisinden elde edilen sulu ekstraktın flavonoid içeriği %2’lik $AlCl_3$ metanol çözeltisi kullanılarak belirlenmiştir. Absorbansdaki yüksek değer fenolik madde miktarının yüksek olduğunu göstermektedir. Bu amaçla kuersetin kullanılarak standart grafiği çizilmiştir. Bu standart grafikten elde edilen denklemi kullanarak örneklerin toplam flavonoid madde içeriği mg/g kuersetin olarak hesaplanmıştır.

Analiz sonucunda *Cistus creticus* sulu ekstresinin toplam flavonoid madde miktarı ortalama 31,2 Q mg/g olarak bulunmuştur (Tablo 4.1).

Benzer şekilde; *C. creticus* etanol özütünün toplam flavonoid madde içeriği AlCl₃ yöntemiyle kuersetin kalibrasyon eğrisinden elde edilmiştir. *C. creticus*'un yapraklarındaki toplam flavonoid içeriğinin 53 Q mg /g ekstrakt düzeyinde olduğu görülmüştür (Lahcen vd., 2020).

C. creticus'un farklı çözücü ekstraktlarındaki toplam flavonoid içeriği AlCl₃ yöntemiyle kuersetin kalibrasyon eğrisinden elde edilmiştir. Toplam flavonoid içeriğinin *Cistus* etanol özütünde en yüksek seviyede (83,94 Q mg/g) olduğu saptanmıştır (Kilic vd., 2019).

Tablo 4.1. *Cistus* ekstresi analiz sonuçları

Analiz	DPPH (IC ₅₀ (µg/mL))	FRAP (µM Fe ⁺² /g)	TPC (GA mg/g)	TFC (Q mg/g)
1	7,04	419,1	162,6	31,6
2	7,62	404,9	142,8	31,32
3	8,88	343,6	181,5	30,68
Ortalama	7,84	389,2	162,3	31,2
Std. Sapma	0,94	40,12	19,35	0,47

TPC: Toplam fenolik madde miktarı, TFC: Toplam flavonoid madde miktarı

4.2. Sosis Örneklerinin Fizikokimyasal ve Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

4.2.1. Sosis Örneklerinin Fizikokimyasal Analiz Sonuçları

4.2.1.1. Tiyobarbutirik Asit Reaktif Madde (TBARS) Sayısı Analiz Sonuçları

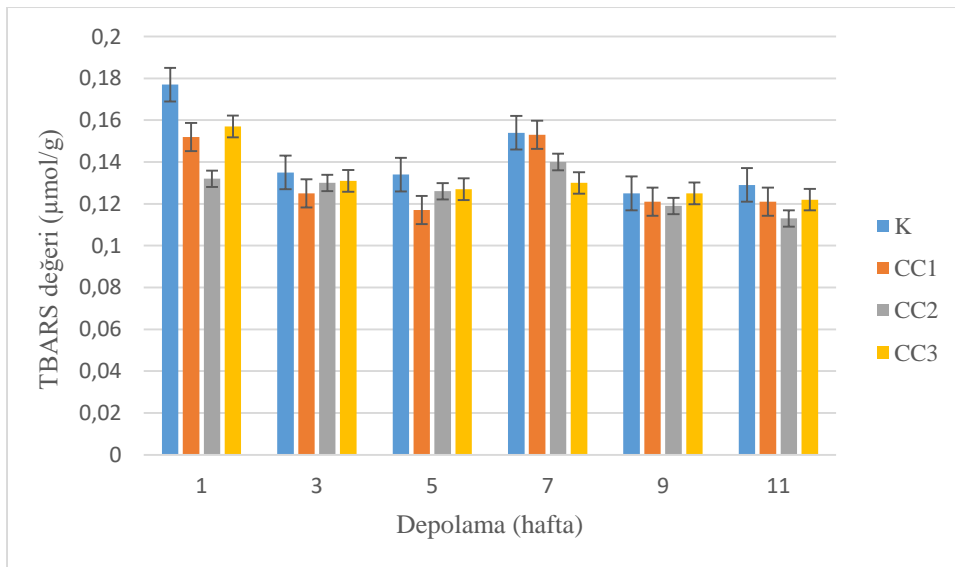
Üretilen sosislerin soğukta depolanması (4 ± 1°C) sırasındaki TBARS değerlerine ait sonuçlar Tablo 4.2'de verilmiştir. Buna göre TBARS değerleri 0,113-0,177 µmol/g arasında değişmektedir.

Tablo 4.2. Farklı oranlarda *Cistus* kullanılarak üretilen sosis örneklerinin depolama sırasındaki ortalama TBARS ($\mu\text{mol/g}$) değerleri

Depolama Hafta	Örnek Grupları				Ortalama	Standart Hata
	K	CC1	CC2	CC3		
1. hafta	0,177	0,152	0,132	0,157	0,155C	0,048
3. hafta	0,135	0,125	0,130	0,131	0,130AB	
5. hafta	0,134	0,117	0,126	0,127	0,126AB	
7. hafta	0,154	0,153	0,140	0,130	0,145BC	
9. hafta	0,125	0,121	0,119	0,125	0,123A	
11. hafta	0,129	0,121	0,113	0,122	0,121A	

Farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki açıdan birbirinden farklıdır ($p < 0,05$). A-C farkları göstermektedir.

Çoklu ANOVA sonuç tablosuna göre uygulamanın lipit oksidasyon değerine bir etkisi olmadığı görülmüştür. Depolama süresinin lipit oksidasyonuna tüm örnek gruplarında önemli düzeyde ($p < 0,05$) etkisi olduğu görülmüştür (Şekil 4.1). Özellikle depolamanın son haftalarında kontrol grubu dahil olmak üzere tüm örnek gruplarında TBARS değerinde zamana bağlı bir azalış vardır. Gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark görülmesede, bütün haftalarda kontrol örneğinin (K) TBARS değerleri *Cistus* ekstresi ilave edilmiş olan örnek gruplarının (CC1, CC2, CC3) TBARS değerlerinden yüksek olduğu görülmüştür.



Şekil 4.1. Sosis örneklerinin depolama süresince TBARS değerleri

Yağların oksitlenmesi sonucu oluşan malonaldehit ileri derecede oksitlenerek alkol ve asitlere dönüşmekte ve malonaldehit konsantrasyonundaki TBA değerini düşürmektedir. Yağ oksidasyonu ve malonaldehit oksidasyonu hızlarının depolamanın farklı zamanlarında değişim göstermesi bu azalmayı açıklamaktadır (Gökalp, 1984).

Benzer şekilde, yeşil çay, ısırgan otu ve zeytin yaprağı etanol ekstraktlarının frankfurter tipi sosislerde depolama süresince lipit oksidasyonuna etkisi araştırılmıştır. TBARS düzeyinin depolama süresince tüm sosislerde önemli ölçüde ($p < 0,05$) arttığı görülmüş ancak kontroldeki artış oranının diğer numunelerden daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Yeşil çay, ısırgan otu ve zeytin yaprağı etanol ekstraktlarının ilave düzeyine bağlı olarak antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir (Alirezalu vd., 2017).

Arthrospira (Spirulina) platensis sulu özünün, Çin tarzı domuz sosislerinin depolama süresince lipit oksidasyonu ve ürün kalitesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Tüm numunelerin TBARS değerleri, depolama boyunca önemli ölçüde ($p < 0,05$) artmış ancak, *Arthrospira (Spirulina) platensis* özütünün ilavesinin kontrole kıyasla 9. günden başlayarak lipit oksidasyonunu engellediği görülmüştür (Luo vd., 2018).

Üzüm posası tozu ilavesinin (%0,5 ve %1,0) pişmiş domuz sosislerinde lipit oksidasyonu üzerindeki etkisi incelenmiştir. Üzüm posası tozunun %0,5 oranında eklenmesi ile TBARS düzeyinde düşüş gözlemlenmiş ($p < 0,05$) ancak üzüm posası tozunun oksidasyonu indirgeme yeteneğinin doza bağlı olmadığı söylenmiştir. Sonuç olarak üzüm posası ilavesinin lipit oksidasyonuna etkili bir baskılayıcı olduğu ve pişmiş domuz sosislerine %0,5 oranında eklendiğinde doğal bir antioksidan etkiye sahip olduğu söylenmiştir (Ryu vd., 2014).

Yeşil (GTE) ve siyah çay (BTE) (*Camellia sinensis* L.) ekstraktlarının kürlenmemiş domuz sosislerinde antioksidan etkisi araştırılmıştır. Domuz sosislerinin TBARS değerlerinde BTE ve GTE konsantrasyonlarının tüm seviyeleri için önemli ölçüde ($p < 0,05$) azalış gözlemlenmiştir. Kontrol numunesinin ise depolama süresi boyunca diğer tüm numunelere kıyasla TBARS değeri önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur. Pişmiş sosislerde BTE ve GTE özleri ile lipit oksidasyonunun azalması,

yeşil ve siyah çay demlerindeki polifenollerin varlığına bağlanmıştır (Jayawardana vd., 2019).

4.2.1.2. Hem Demir Miktarı Analiz Sonuçları

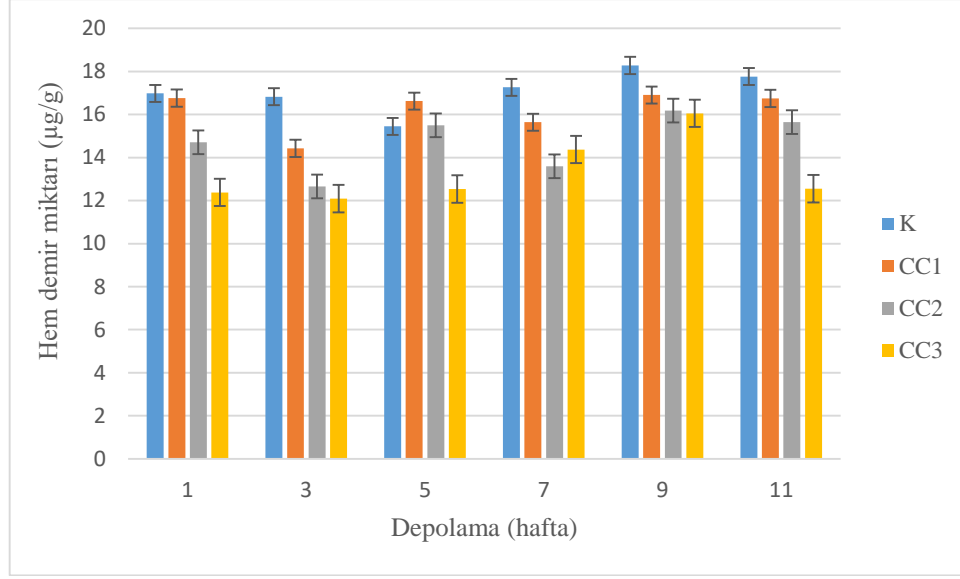
Üretilen sosislerin soğukta depolanması (4 ± 1 °C) sırasındaki hem demir miktarı değerlerine ait sonuçlar $\mu\text{g/g}$ et örneği şeklinde Tablo 4.3’de verilmiş ve Şekil 4.2’de şematik olarak gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Sosis örneklerinin depolama sırasındaki hem demir konsantrasyonu

Depolama (Hafta)	Örnek Grupları			
	K	CC1	CC2	CC3
1. hafta	16,98	16,77	14,70	12,38
3. hafta	16,83	14,43	12,65	12,10
5. hafta	15,45	16,62	15,49	12,54
7. hafta	17,27	15,64	13,60	14,37
9. hafta	18,28	16,91	16,18	16,05
11. hafta	17,77	16,75	15,65	12,56
Ortalama	17,09A	16,19AB	14,71BC	13,33C
Standart Hata	0,51			

Farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki açıdan birbirinden farklıdır ($p < 0,05$). A-C farkları göstermektedir.

Sonuçlara bakıldığında depolamanın istatistiksel olarak ($p > 0,05$) hem demir miktarına bir etkisi olmamıştır. Hem demir miktarı sadece uygulamadan etkilenmiştir. Bütün depolama haftaları göz önüne alınarak, örnek gruplarının hem demir miktarları kıyaslandığında kontrol grubunun en yüksek hem demir miktarına sahip olduğu ve CC1 örnek grubu ile hem demir miktarı arasında bir fark ($p > 0,05$) olmadığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.2. Sosis örneklerinin depolama süresince hem demir miktarları

Benzer şekilde, et sosisi çeşidi olan blesbok ve springbok droëwors ürünlerinde oksidatif stabiliteyi iyileştirmek amacıyla Rooibos (*Aspalathus linearis*) özütü kullanımını araştırılmış ve hem demir konsantrasyonu belirlenmiştir. Numunelerdeki hem demir sonuçlarında hiçbir farklılık ($p > 0,05$) görülmemiştir (Jones vd., 2015).

Frankfurter sosislere farklı seviyelerde (150, 300 ve 600 ppm) biberiye esansiyel yağı ilave edilerek sosislerin protein oksidatif stabilitesi üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. 300 ve 600 ppm seviyesinde biberiye uçucu yağı ilave edilen örneklerin, kontrol grubuna göre daha düşük hem olmayan demir içeriklerine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Biberiye uçucu yağlarının ilavesinin hem demirin degradasyonunu engellediğini ve böylece hem olmayan demir miktarının artmasının önemli ölçüde inhibe edildiğini ifade etmişlerdir (Estévez vd., 2005).

4.2.1.3. Nitrosomyoglobin Konsantrasyonu Analiz Sonuçları

Myoglobin veya oksimyoglobin okside olarak metmyoglobine dönüşebilir. Ancak bu ürünlerde istenen parlak pembemsi renk oluşumunu sağlayan pigmentler, nitrosomyoglobin ve nitrosohemokromdur. Kütleme işleminde nitrit veya nitratın sodyum veya potasyum tuzlarının kullanılmasıyla et rengi kalıcı pembe et rengine dönüştürülür. Kütleme işleminde renk oluşumu ve kalıcılığı önemli bir kalite parametresidir. Renk oluşumu ete kırmızı rengini veren myoglobin hamura eklenen

kürleme maddeleriyle nitrosomyoglobine dönüşmesidir. Renk kalıcılığı ise renk oluşumunun etteki tüm renk pigmentlerini kapsaması ve rengin ürünün raf ömrü boyunca bozulmadan devam etmesidir (Aksu, 2003).

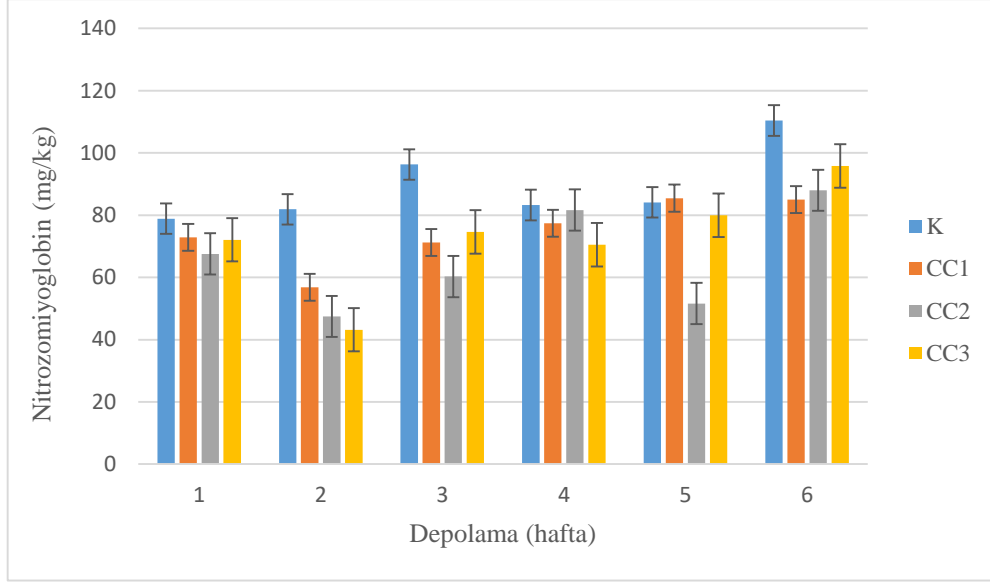
Üretilen sosislerin soğukta depolanması (4 ± 1 °C) sırasındaki nitrosomyoglobin konsantrasyon değerlerine ait sonuçlar mg/kg nitroso pigmenti olarak Tablo 4.4’de verilmiştir.

Tablo 4.4 Sosis örneklerinin depolama sırasındaki nitrosomyoglobin konsantrasyonu

Depolama (Hafta)	Örnek Grupları			
	K	CC1	CC2	CC3
1. hafta	78,86A	72,84AB	67,57AB	72,10B
3. hafta	81,89Aa	56,80Ab	47,45Ab	43,19Ab
5. hafta	96,28ABb	71,23ABa	60,30ABa	74,66Bab
7. hafta	83,25AB	77,41AB	81,63B	70,51AB
9. hafta	84,14ABb	85,46Bb	51,60Aa	79,93Bb
11. hafta	110,44Bb	84,99Ba	87,10Bab	95,79Bab
Standart Hata				8,55

Farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki açıdan birbirinden farklıdır ($p < 0,05$). a-b sütunlar arasındaki farkları, A-B satırlar arasındaki farkları göstermektedir.

Renk et ürünleri için önemli bir parametre olup, nitrat ve nitritler stabil renk oluşmasından sorumludur. Nitrosomyoglobin nitrikoksitle myoglobinin reaksiyona girmesiyle meydana gelir ve kürlenmiş ürünlerde kırmızı renkten sorumludur. Sonuçlar gösteriyor ki nitrosomyoglobin konsantrasyonu hem uygulamadan hem de depolama süresinden etkilenmiştir ($p < 0,05$) (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Sosis örneklerindeki depolama süresince boyunca nitrosomyoglobin konsantrasyonu

Örnek gruplarına bakıldığında; kontrol grubunun nitrosomyoglobin konsantrasyonu ilk iki deney haftası ile son hafta arasında değişiklik göstermektedir ($p < 0,05$). 9. haftaya kadar nitrosomyoglobin konsantrasyonunda istatistiksel olarak bir değişim olmamıştır ($p > 0,05$). CC1 örnek grubunun raf ömrü boyunca nitrosomyoglobin konsantrasyonu 3. hafta ile 9. ve 11. haftalar arasında farklılık göstermektedir ($p < 0,05$). CC2 örnek grubunun raf ömrü boyunca nitrosomyoglobin konsantrasyonu farklılık göstermektedir ve 3. hafta ile 7. ve 11. haftalardaki nitrosomyoglobin konsantrasyon değerleri istatistiksel olarak farklıdır ($p < 0,05$). CC3 örnek grubunun nitrosomyoglobin konsantrasyonu 2. hafta ve diğer haftalarda (1., 5., 9. ve 11.) farklılık göstermektedir ($p < 0,05$). 9. haftada sadece CC2 örnek grubunun diğer gruplarından farklı ($p < 0,05$) olduğu ve en düşük nitrosomyoglobin konsantrasyonuna sahip olduğu tespit edilmiştir. Depolamanın son haftasında CC1, CC2 ve CC3 örnek grupları kendi aralarında farklılık göstermeyip, kontrol grubu ile diğer örnek grupları kıyaslandığında CC2 ve CC3 grubu farklılık göstermemektedir ($p > 0,05$).

Depolama haftalarına bakıldığında; 1. hafta da örnek grupları arasında herhangi bir fark ($p > 0,05$) görülmemiştir. 3. haftada kontrol grubunun nitrosomyoglobin konsantrasyonu diğer gruplara göre farklılık ($p < 0,05$) göstermektedir ve en yüksek değere sahiptir. 5. haftada kontrol grubu yine en yüksek nitrosomyoglobin konsantrasyonuna sahiptir ve kontrol grubunu CC3 örnek grubu takip etmektedir.

Kontrol grubu ile CC1 ve CC2 örnek grupları arasında istatistiksel olarak ($p < 0,05$) fark vardır. 7. haftada gruplar arasında herhangi bir farklılık ($p > 0,05$) gözlenmemiştir.

Literatürdeki benzer çalışmalarda; *Achyranthes japonica* Nakai Özütü (AJNE) domuz sosisleri üzerindeki etkileri incelemiş ve bu amaçla örneklerin nitrosomyoglobin içeriği belirlenmiştir. Nakai özütünün sosis özellikleri üzerindeki etkisini belirlemek için özüt tek başına ve askorbik asit ile kombinasyon halinde sosislere ilave edilmiştir. Tüm uygulamalarda nitrosomyoglobin içeriği kontrol grubu ile karşılaştırıldığında artmış olduğu görülmüş ve en yüksek nitrosomyoglobin içeriği askorbik asit içeren sosis örneğinde ve nakai özütü ile askorbik asit kombinasyonlu sosislere gözlenmiştir (Park vd., 2013).

Farklı çeşitte hayvansal yağlar ile karanfil ve tarçın baharatı ilave edilerek üretilen sucukların kalite özelliklerinin araştırılmasına yönelik çalışmada örneklerin nitrosomyoglobinin miktarı belirlenmiş, karanfil ve tarçın eklenen örneklerin nitrosomyoglobin miktarının kontrol grubuna göre arttığı görülmüştür (Ünal, 2017).

4.2.1.4. Renk Analizi Sonuçları

Bir gıda ürününün tüketiciler tarafından kabul edilmesinde ve beğenilmesinde görünüş ve rengin büyük önemi vardır. Et rengi, bir protein olan myoglobinin kimyasal yapısına bağlıdır. Et rengi myoglobin miktarı, ışık, sıcaklık, depolama süresi ve paketleme gibi birçok çevresel faktörden etkilenmektedir (Hettiarachchy vd., 1996).

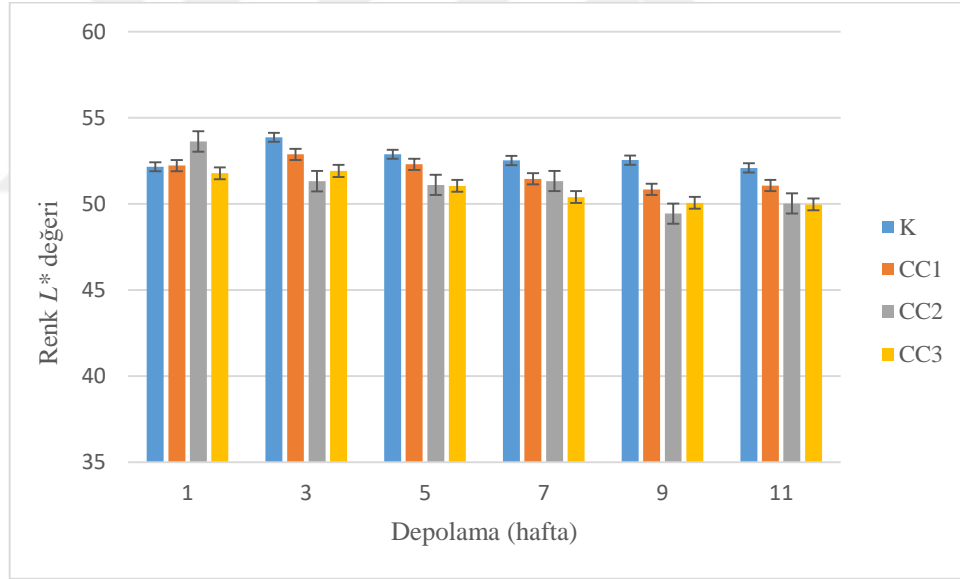
Oksijen molekülü myoglobine bağlandığında parlak kırmızı renk oluşmaktadır. Bu pigment “oksimyoglobin” olarak bilinmektedir. Taze ette istenilmeyen kahverengileşme, oksimyoglobinin metmyoglobine oksidasyonundan kaynaklanmaktadır. Yüksek oksidatif aktiviteye sahip kaslarda renk duyarlılığının daha yüksek olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda ette renk bozulmasının myoglobin oksidasyonu sebebiyle gerçekleştiği ve bunun da lipit oksidasyonundan kaynaklandığı görülmektedir (Turp, 1999).

Üretilen sosislerin soğukta depolanması (4 ± 1 °C) süresince L^* renk değerlerine ait sonuçlar Tablo 4.5’de verilmiş ve Şekil 4.4’de şematik olarak gösterilmiştir.

Tablo 4.5. Sosis örneklerinin depolama süresince L^* renk değerleri

Depolama (Hafta)	Örnek Grupları			
	K	CC1	CC2	CC3
1. hafta	52,16ab	52,23ABab	53,63Aa	51,78b
3. hafta	53,87a	52,88Aab	51,32Bb	51,92b
5. hafta	52,88a	52,30ABab	51,10Bab	51,05b
7. hafta	52,53a	51,45ABab	51,33Bab	50,40b
9. hafta	52,54a	50,84Bab	49,44Bb	50,07b
11. hafta	52,09a	51,07ABab	50,03Bb	49,97b
Standart Hata	0,62			

Farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki açıdan birbirinden farklıdır ($p < 0,05$). a-b sütunlar arasındaki farkları, A-B satırlar arasındaki farkları göstermektedir.



Şekil 4.4. Sosis örneklerinin depolama süresince L^* renk değerleri değişimi

Uygulama ve depolama süresi L^* renk değerini istatistiksel olarak ($p < 0,05$) etkilemiştir. Genel olarak bakıldığında depolamanın ilk haftası hariç, diğer haftalarda kontrol örnek grubu (K) en yüksek L^* renk değerine sahiptir. Depolama süresinde sadece CC1 ve CC2 örnek grupları etkilenmiştir. Depolama süresince CC1 örnek grubu 3. ve 9. haftalarda farklılık göstermektedir ($p < 0,05$). L^* renk değerleri CC2 örnek grubunda en yüksek 1. haftada gözlemlenmiş diğer haftalarda zamanla azalma göstermiştir. 1.

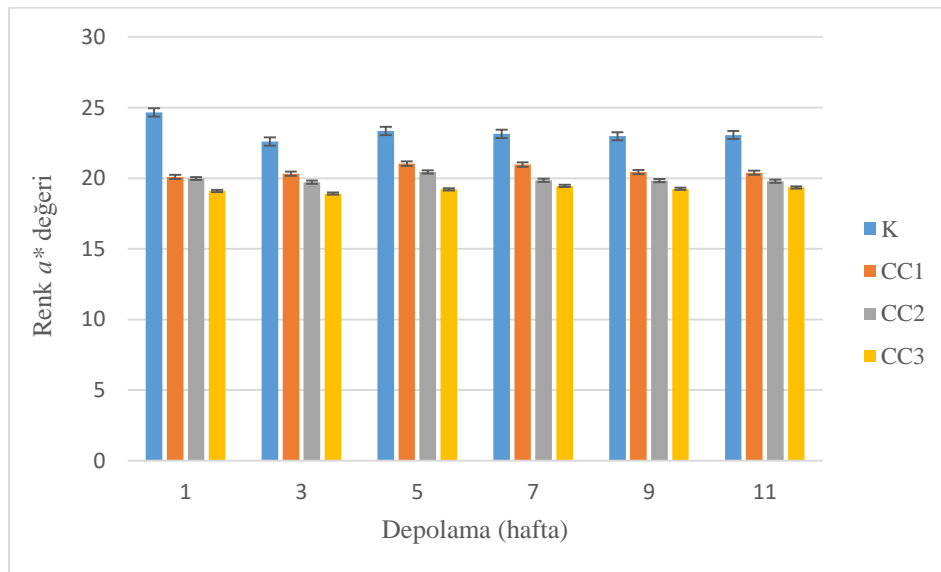
haftada L^* renk değeri sadece CC2 ve CC3 örnek grupları arasında farklılık ($p < 0,05$) göstermiştir. 3. hafta da kontrol grubu CC2 ve CC3 örnek grubu arasında fark ($p < 0,05$) gözlemlenmiştir. 5. haftada kontrol grubu ve CC3 örnek grubu arasında L^* renk değeri açısından farklılık görülmüştür. Örneklerdeki *Cistus* konsantrasyonunun artması ile birlikte L^* renk değerlerinde ufak bir azalma gözlemlenmiştir. 7. haftada sadece kontrol grubu ile CC3 örnek grubu arasında farklılık ($p < 0,05$) görülmektedir. 9. ve 11. haftalarda kontrol örneği ile CC2 ve CC3 örnek grupları arasında farklılık ($p < 0,05$) görülmektedir.

Üretilen sosislerin soğukta depolanması (4 ± 1 °C) süresince a^* renk değerlerine ait sonuçlar Tablo 4.6'da verilmiş ve Şekil 4.5'de şematik olarak gösterilmiştir.

Tablo 4.6. Sosis örneklerinin depolama süresince a^* renk değerleri

Depolama (Hafta)	Örnek Grupları			
	K	CC1	CC2	CC3
1. hafta	24,66Aa	20,09b	19,98bc	19,10c
3. hafta	22,60Ba	20,31b	19,72bc	18,91c
5. hafta	23,34Ba	21,03b	20,44b	19,21c
7. hafta	23,13Ba	20,96c	19,86b	19,45b
9. hafta	22,97Ba	20,43b	19,83bc	19,25c
11. hafta	23,06Ba	20,38b	19,78bc	19,35c
Standart Hata	0,31			

Farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiksel açıdan birbirinden farklıdır ($p < 0,05$). a-c sütunlar arasındaki farkları, A-B satırlar arasındaki farkları göstermektedir.



Şekil 4.5. Sosis örneklerinin depolama süresince a^* renk değerleri değişimi

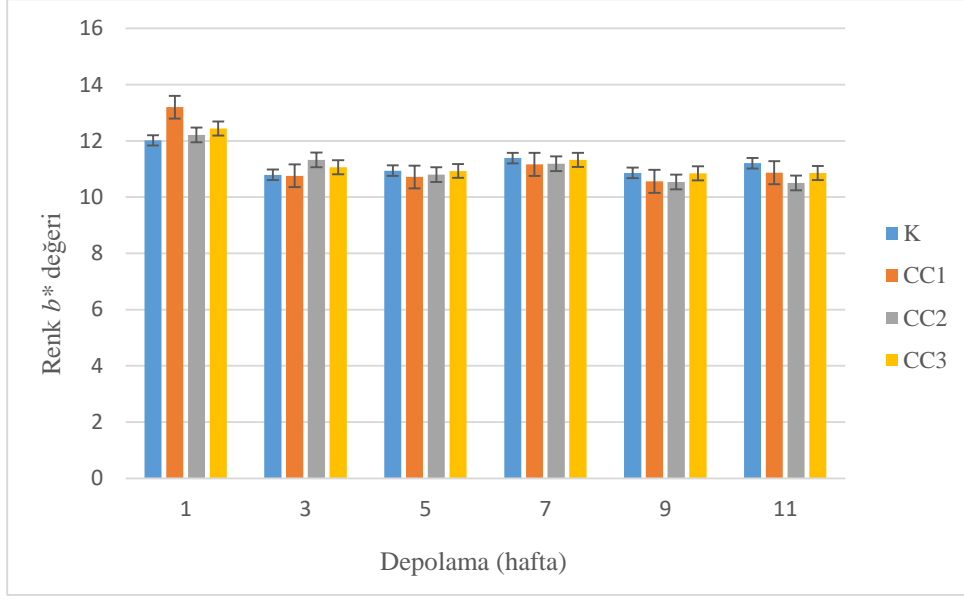
Uygulama ve depolama süresi a^* renk değerini etkilemiştir ($p < 0,05$). Örnek gruplarından kontrol grubu bütün depolama haftalarında en yüksek a^* renk değerine sahiptir. Örneklerde ki *Cistus* konsantrasyonu ile a^* renk değeri arasında ters orantı olduğu görülmektedir. Depolama haftaları arasındaki farklılıklara bakıldığında, kontrol grubu için 1. hafta ile diğer depolama haftaları (1., 3., 5., 7., 9., 11.) arasında fark vardır ($p < 0,05$). CC1, CC2 ve CC3 örnek gruplarının a^* renk değerleri depolama süresinde istatistiksel olarak fark göstermemektedir ($p > 0,05$). 1. ve 3. haftalarda kontrol örneği ile CC1, CC2 ve CC3 örnek grupları arasında a^* renk değeri farklılık göstermektedir ($p < 0,05$). 5. haftada sadece CC1 ve CC2 örnek grupları arasında a^* renk değeri açısından bir fark gözlenmemiştir ($p > 0,05$). 7., 9. ve 11. haftalarda kontrol örneğinin a^* renk değeri CC1, CC2 ve CC3 örnek grupları arasında farklılık göstermektedir ($p < 0,05$).

Üretilen sosislerin soğukta depolanması (4 ± 1 °C) süresince b^* renk değerlerine ait sonuçlar Tablo 4.7’de verilmiş ve Şekil 4.6’da şematik olarak gösterilmiştir.

Tablo 4.7. Sosis örneklerinin depolama süresince b^* renk değerleri

Depolama (Hafta)	Örnek Grupları			
	K	CC1	CC2	CC3
1. hafta	12,02Aa	13,20Ab	12,21Aa	12,44Aa
3. hafta	10,79Bb	10,76BCb	11,32Ba	11,06Bab
5. hafta	10,94BC	10,72BC	10,80BC	10,93B
7. hafta	11,39C	11,16B	11,19B	11,33B
9. hafta	10,86BC	10,56C	10,54C	10,85B
11. hafta	11,21BCa	10,87BCab	10,51Cb	10,86Bab
Standart Hata	0,17			

Farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiksel açıdan birbirinden farklıdır ($p < 0,05$). a-b sütunlar arasındaki farklılıklar, A-C satırlar arasındaki farklılıkları göstermektedir.



Şekil 4.6. Sosis örneklerinin depolama süresince b^* renk değerleri değişimi

b^* renk değerine depolama süresinin etkisi olduğu ($p < 0,05$) ve uygulamanın etki göstermediği ($p > 0,05$) gözlemlenmiştir. b^* renk değeri depolama süresi boyunca azalma göstermektedir. Depolama süresince kontrol grubunun b^* renk değeri 1. hafta ile diğer depolama haftaları arasında farklılık göstermektedir ($p < 0,05$). Benzer şekilde CC1, CC2 ve CC3 örnek gruplarının b^* renk değeri 1. haftada ile diğer depolama haftaları arasında fark göstermektedir ($p < 0,05$). 1. haftada CC1 örnek grubu b^* renk değeri ile kontrol, CC2 ve CC3 örnek grupları b^* renk değeri arasında farklılık ($p < 0,05$) görülmektedir. 3. haftada CC2 örnek grubu ile kontrol ve CC1 örnek grupları arasında fark ($p < 0,05$) görülmektedir. 5., 7. ve 9. haftalarda örnek grupları arasında fark görülmemekte ($p > 0,05$) ve depolamanın son haftası olan 11. haftada b^* renk değeri kontrol grubu ile CC2 örnek grubu arasında farklılık göstermektedir ($p < 0,05$).

Farklı bir çalışmada; biberiye özütü, dondurulmuş ve taze domuz sosislerinde belli oranlarda kullanılarak antioksidan etkinliği açısından değerlendirilmiş ve bütillenmiş hidroksi anizol (BHA), bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) antioksidanlarıyla karşılaştırılmıştır. Bu amaçla Hunter L^* , a^* ve b^* renk değerleri de değerlendirilmiştir. a^* renk değeri tüm örneklerde zamanla önemli azalış ($p < 0,001$) göstermiştir. Kontrol örneğine kıyasla biberiye ekstraktının rengin korunmasında

kontrol örneğinden ve BHA/BHT muamelesinden daha etkili olduğu görülmüştür (Sebranek vd., 2005).

Başka bir çalışmada; *M. piperita'nun* pişmiş sosislerde kullanımını değerlendirilmiş ve ürünün oksidatif ve duyusal özellikleri üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla Hunter L^* , a^* ve b^* renk değerleri de analiz edilmiştir. Kuru ve taze formada *M. piperita* içeren örneklerin a^* renk değerleri kontrol örneğine göre yüksek bulunmuştur. Tüm örneklerin b^* renk değerleri benzer düzeyde bulunmuş ve 14 günlük depolama süresince, *M. piperita* sulu ekstraktı içeren örnek grubu ve kontrol örneğinde L^* renk değerlerinin azaldığı gözlemlenmiştir. *M. piperita'nın* taze olarak üründe kullanılmasının raf ömrü boyunca sosislerdeki renk değişikliklerini önleyebileceği söylenmiştir (Latoch ve Stasiak, 2015).

4.2.1.5. pH Analiz Sonuçları

Yüksek su aktivitesine sahip gıdaların bozulmasında bakteri ve küf gelişimi çok hızlı ilerlemektedir ve burada belirleyici olan ortamın pH'sıdır. Bakteri florası nötr pH civarında rahat gelişme gösterirken, ortam pH'sının 5'in altına düşmesi bakteri gelişimi sınırlamaktadır. Küfler ise pH 3-8 arasında faaliyetlerini sürdürebilmektedirler (Pitt ve Hocking, 2009).

Üretilen sosislerin soğukta depolanma (4 ± 1 °C) sırasındaki pH değerlerine ait sonuçlar Tablo 4.8'de verilmiştir.

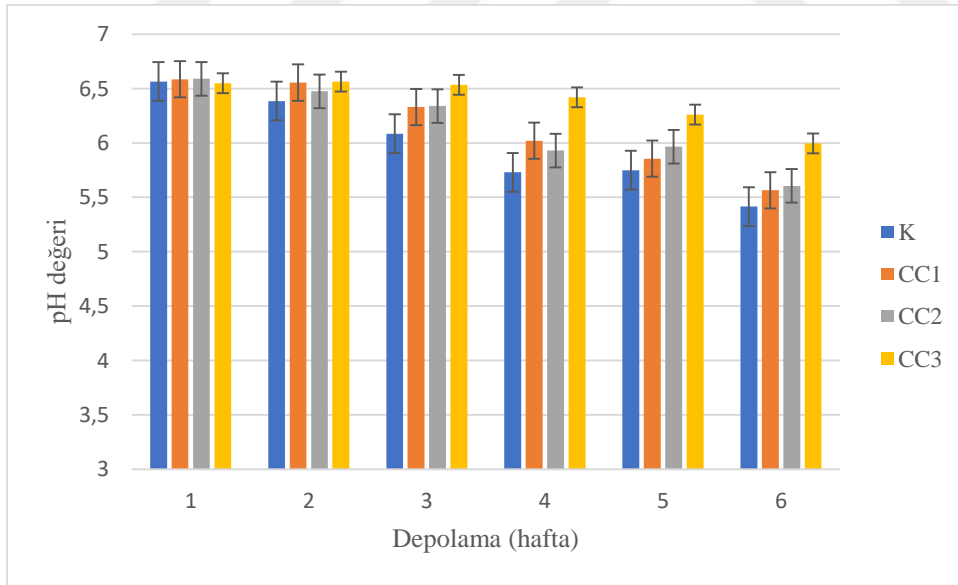
Tablo 4.8. Sosis örneklerinin depolama sırasındaki ortalama pH değerleri

Depolama (Hafta)	Örnek Grupları			
	K	CC1	CC2	CC3
1. hafta	6,56A	6,58A	6,59A	6,55A
3. hafta	6,38Aa	6,55Aab	6,47ABab	6,56Ab
5. hafta	6,08Ba	6,33Bb	6,34Bb	6,53Ac
7. hafta	5,73Ca	6,02Cb	5,93Cb	6,42Ac
9. hafta	5,75Ca	5,85Cab	5,96Cb	6,26Bc
11. hafta	5,41Da	5,56Dab	5,60Db	5,99Bc
Standart Hata	0,06			

Farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki açıdan birbirinden farklıdır ($p < 0,05$). a-c sütunlar arasındaki farkları, A-D satırlar arasındaki farkları göstermektedir.

Etin su tutma kapasitesi, rengi gibi fizikokimyasal özelliklerini etkileyen en önemli faktörlerin başında pH değerinin geldiği görülmektedir. Depolama süreci boyunca pH değeri, ortamda gelişen mikroorganizmaların aktivitesi sonucu metabolit birikmesi ve proteinlerin deaminasyonu gibi nedenlerden dolayı değişmektedir (Seol vd., 2013).

pH değerleri uygulamadan ve depolama süresinden istatistiksel olarak ($p < 0,05$) etkilenmiştir. Bütün örnek gruplarının pH değerleri depolama süresince azalma göstermektedir (Şekil 4.7). Üründeki mikrobiyal gelişme özellikle laktik asit bakterilerindeki artış raf ömrü boyunca pH düşüşüne sebep olabilmektedir. Raf ömrü süresince en yüksek pH değişimi kontrol grubunda görülmüştür. Kontrol grubunun pH değeri 1. ve 3. haftalar ile diğer depolama haftaları arasında farklılık ($p < 0,05$) göstermektedir. 1. ve 3. depolama haftalarında örnek gruplarının pH değerleri arasında istatistiksel olarak bir fark ($p > 0,05$) görülmemiştir. 5. ve 7. depolama haftalarına baktığımızda pH değerleri sadece CC1 ve CC2 örnek gurupları arasında farklılık ($p > 0,05$) göstermemektedir. 9. ve 11. depolama haftalarında ise kontrol ve CC2 örnek grubu ile CC1 örnek grubu arasında bir farklılık görülmemiştir ($p > 0,05$).



Şekil 4.7. Sosis örneklerinin depolama süresi boyunca pH değişimi

Yapılan bir çalışmada; biberiye ve zencefilin tütsülenmiş sosislerde raf ömrü ve kalitesi üzerine etkileri araştırılmış ve ürünlerde pH takibi yapılmıştır. Biberiyeli her bir örnek grubunun pH değerlerinin kontrol grubununkinden önemli ölçüde yüksek

olduğu görülmüştür ($p < 0,05$). pH değerleri depolama boyunca aşağı yönlü bir eğilim göstermiştir. Zencefil içeren uygulama gruplarının ise pH değerlerinin önce artma ve giderek azalma eğilimi gösterdiği görülmüştür. Depolama sırasında zencefildeki aktif bir bileşenin, domuzdaki laktik asidi parçalayarak pH'ın yükselmesine neden olabileceği söylenmiştir (Efenberger-Szmechtyk vd., 2021).

Farklı bir çalışmada; mersin, ısırgan, biberiye ve oğul otu sulu ekstraktlarının sığır köftelerinde depolama sırasında lipid oksidasyonu ve ürün rengi üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada köftelerin pH değerlerinin depolama süresine bağlı olarak azaldığını bildirilmiştir. Köftelerin pH değerleri 0.günde 6,36 iken, 120 günlük depolama sonrasında pH 5,75 olarak belirlenmiştir (Akarpat vd., 2008).

4.2.1.6. Su Aktivitesi Analiz Sonuçları

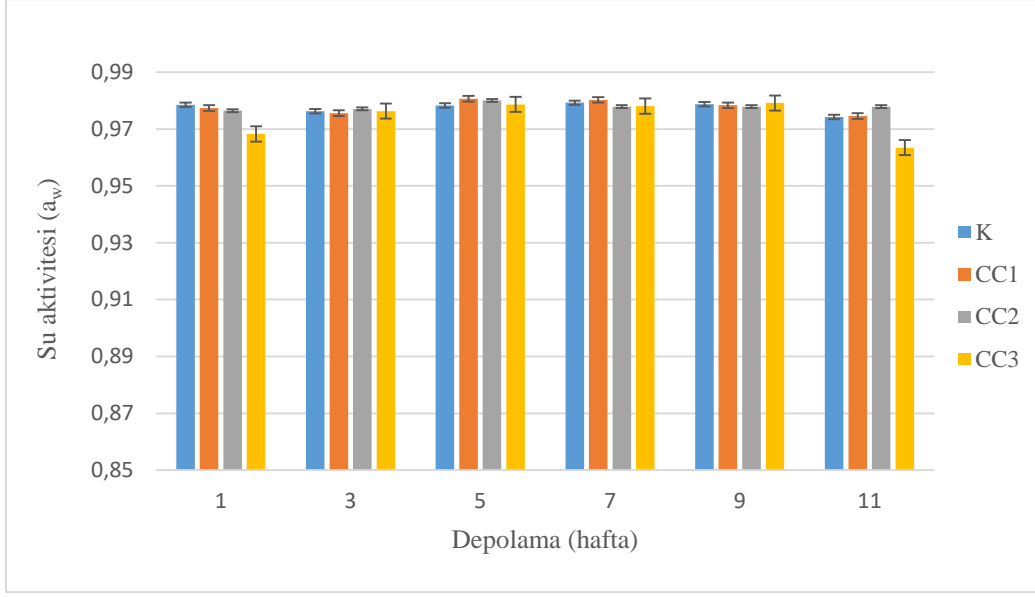
Su aktivitesi (a_w), ürünün içerisindeki suyun buhar basıncının aynı sıcaklıktaki saf suyun buhar basıncına oranı şeklinde tanımlanmaktadır. Birçok kaynakta mikrobiyal büyüme ve kimyasal reaksiyonlar için kullanılabilir su miktarının ölçümü olarak belirtilmektedir. Su aktivitesi değeri 0,0 ile 1,0 arasında değişim göstermektedir (Fontana, 2000).

Üretilen sosislerin soğukta depolanma (4 ± 1 °C) sırasındaki su aktivitesi değerlerine ait sonuçlar Tablo 4.9'da verilmiş ve Şekil 4.8'de şematik olarak gösterilmiştir.

Tablo 4.9. Sosis örneklerinin depolama sırasındaki ortalama su aktivitesi (a_w) değerleri

Depolama (Hafta)	Örnek Grupları			
	K	CC1	CC2	CC3
1. hafta	0,979a	0,977ABCa	0,976a	0,968Ab
3. hafta	0,976	0,976B	0,977	0,976B
5. hafta	0,978	0,980A	0,980	0,979B
7. hafta	0,979	0,980AC	0,978	0,978B
9. hafta	0,979	0,978ABC	0,978	0,979B
11. hafta	0,974a	0,975Ba	0,978a	0,963Ab
Standart Hata	0,01			

Farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki açıdan birbirinden farklıdır ($p < 0,05$). a-b sütunlar arasındaki farkları, A-C satırlar arasındaki farkları göstermektedir.



Şekil 4.8. Sosis örneklerinin depolama sırasındaki ortalama su aktivitesi (a_w) değişimleri

Su aktivitesi değerleri uygulamadan ve depolama süresinde etkilenmiştir ($p < 0,05$). Raf ömrü süresince su aktivitesi değeri tüm örnek gruplarında ufak bir artış göstermektedir. Kontrol grubunun su aktivitesi raf ömrü süresince değişiklik göstermemektedir ($p > 0,05$). CC1 grubu ise 3. ve 5. haftalar arasında ve 11. hafta ile 5. ve 7. haftalar arasında farklılık göstermektedir ($p < 0,05$). Depolama süresi boyunca CC2 örnek grubunun su aktivitesi değeri istatistiksel olarak değişim göstermemiştir ($p > 0,05$). Diğer örnek gruplarına kıyasla CC3 örnek grubu en düşük su aktivitesi değerine sahiptir. CC3 örnek grubunun içeriğine en çok kuru madde eklenen grup olmasından dolayı bu beklenen bir durumdur. CC3 örnek gruplarının su aktivite değerleri 1. hafta ile diğer depolama haftaları arasında farklılık göstermektedir ($p < 0,05$). Depolama haftalarına genel olarak bakıldığında ilk ve son haftalarda CC3 örnek grubu en düşük su aktivitesi değerine sahip olup istatistiksel olarak diğer örnek gruplarından farklıdır ($p < 0,05$). Örnek grupları arasında 3., 5., 7., ve 9. haftalarda su aktivite değeri açısından bir fark görülmemiştir. 11. depolama haftasında CC3 örnek grubu ile diğer örnek grupları arasında fark olup ($p < 0,05$) yine su aktivitesi değeri en düşük CC3 örnek grubudur.

Örnek grupları arasında istatistiksel olarak fark görülse bile genel olarak bakıldığında ciddi bir farklılık görülmemektedir. Ürünlere *Cistus* ekstresinin ilave edilmesi su aktivitesi değerlerinde olumsuz bir etkiye sebep olmamıştır.

Yapılan benzer çalışmalarda; farklı baharat ekstraktları ilave edilerek üretilen mekanik ayrılmış piliç sosislerinin depolama süresince su aktivitesi değerleri ölçülmüş ve a_w değerlerinin 0,91 ila 0,92 arasında değişim gösterdiği görülmüştür. Farklı baharat ekstraktları ilave edilerek üretilen mekanik ayrılmış piliç sosislerinin a_w değerleri, genel olarak kontrol grubuna göre önemli derecede ($p < 0,01$) yüksek bulunmuştur (Bayrak, 2011).

Yeşil çay, ısırgan otu ve zeytin yaprağı ekstraktlarının frankfurter tipi sosislerin fizikokimyasal, mikrobiyolojik, tekstür ve duyuşal özellikleri üzerindeki etkileri 4°C'de 45 günlük depolama süresince incelenmiş ve bu bitki ekstraktlarının su aktivitesi değeri üzerinde önemli etki göstermediği rapor edilmiştir (Alirezalu vd., 2017).

4.2.1.7. Su Tutma Kapasitesi Analiz Sonuçları

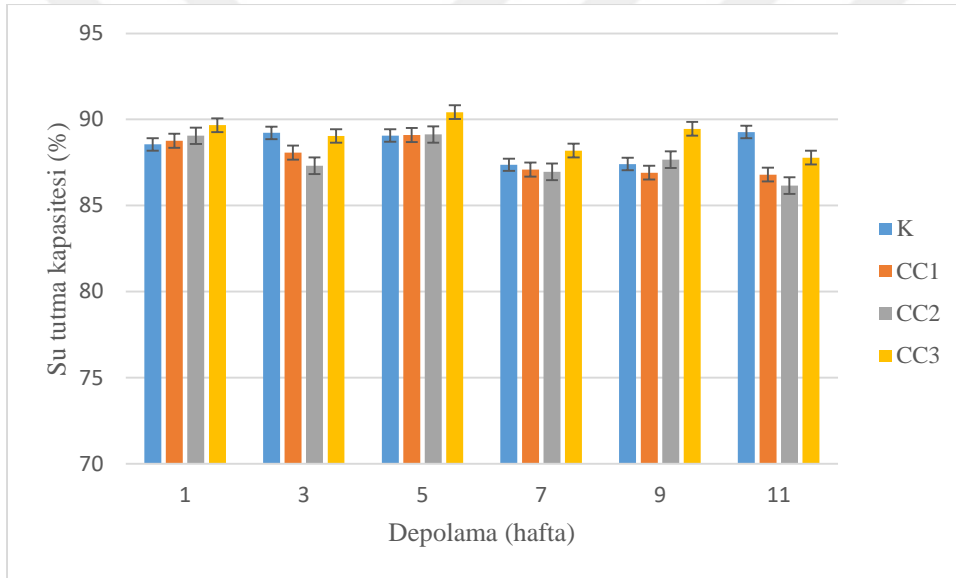
Su tutma kapasitesi genetik faktörler, net yük etkisi, proteoliz, proteinlerin oksidasyonu ve ürünlerin işlenmesi sırasında kullanılan metotlar ve katkı maddeleri pek çok faktörün etkilenen önemli bir kalite parametresidir. Ürünlerin verimini ve sululuk gibi duyuşal özelliklerini etkilemesi dolayısıyla hem üreticiler hem de tüketiciler tarafından su tutma kapasitesi yüksek ürünler talep edilmektedir (Ergezer ve Serdaroğlu, 2008).

Üretilen sosislerin soğukta depolanma (4 ± 1 °C) süresindeki su tutma kapasitesi değerlerine ait sonuçlar yüzde (%) olarak Tablo 4.10'da verilmiş ve şematik olarak Şekil 4.9'da gösterilmiştir.

Tablo 4.10. Sosis örneklerinin depolama süresince su tutma kapasiteleri (%)

Depolama (Hafta)	Örnek Grupları			
	K	CC1	CC2	CC3
1. hafta	88,55Aa	88,76Aa	89,05Aa	89,67Ab
3. hafta	89,22Bab	88,07Bab	87,31BCa	89,04BCb
5. hafta	89,06Aa	89,10Aa	89,12Aa	90,42Ab
7. hafta	87,37Bab	87,08Bab	86,95BCa	88,19BCb
9. hafta	87,41Ba	86,91Ba	87,66Ba	89,46ABb
11. hafta	89,27Aa	86,80bc	86,15b	87,78Cc
Standart Hata	0,41			

Farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki açıdan birbirinden farklıdır ($p < 0,05$). a-c sütunlar arasındaki farkları, A-C satırlar arasındaki farkları göstermektedir.



Şekil 4.9. Sosis örneklerinin depolama süresince su tutma kapasiteleri (%)

Yapılan çalışmada su tutma kapasitesi analiz değerleri hem uygulamadan hem de depolama süresinden etkilenmiştir ($p < 0,05$). CC3 örnek grubuna bakıldığında su tutma kapasitesi genel olarak diğer gruplardan daha yüksektir. Bütün örnek grupları için farklı depolama sürelerinde su tutma kapasitesi farklılık ($p < 0,05$) göstermektedir. CC3 örnek grubu 1., 5. ve 9. haftalarda diğer örnek gruplarına kıyasla farklıdır ($p < 0,05$) ve en yüksek su tutma kapasitesine sahiptir. CC3 örnek grubu su tutma kapasitesi değeri 3. ve 7. haftalarda sadece CC2 örnek grubu ile farklılık ($p < 0,05$) göstermektedir.

Su tutma kapasitesi et ürünlerinin kalitesini, görünümünü, besin değerini ve duyu özelliklerini etkilemektedir. Depolama sırasında etin su tutma kapasitesi azalır ve buda etin besin özelliklerini yavaş yavaş kaybettiği anlamına gelir. Polifenoller etteki proteinleri, karbonhidratları, lif ve yağ gibi bazı maddeleri bağlayabilir ve bu maddelerin depolama sırasında kaybını önlemeye yardımcı olabilir (Efenberger-Szmechtyk vd., 2021). En yüksek oranda *Cistus* ekstresi içeren CC3 örnek grubunun su tutma kapasitesinin diğer gruplardan daha yüksek olması bu şekilde açıklanabilir.

Literatürdeki benzer çalışmalara bakıldığında; dondurulmuş ve öğütülmüş Litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) çiçeği tozunun emülsifiye domuz köftelerinde protein lipid peroksidasyonu üzerindeki etkileri araştırılmış ve çalışmada ürünlerdeki su tutma kapasiteleri belirlenmiştir. Su tutma kapasiteleri santrifüjleme kaybının ölçülmesiyle belirlenmiş ve Litchi çiçeği tozu içeren domuz köftelerinin daha düşük santrifüjleme kaybına sahip olduğu belirtilmiştir. Bu durum Litchi çiçeği tozu içeren köftelerin düşük protein oksidasyon derecesine sahip olmasıyla açıklanmıştır (Ding vd., 2015).

Aronia melanocarpa Elliot, *Chaenomeles superba* Lindl. ve *Cornus mas* L. bitkilerinin yaprak ekstraktları domuz eti ürünlerinde doğal koruyucu olarak araştırılmıştır. Çalışmada incelenen bitki özlerinin domuz sosislerinin 29 günlük soğuk depolama (4°C) süresince su tutma kapasitesini önemli ölçüde iyileştirdiği görülmüştür (Efenberger-Szmechtyk vd., 2021).

4.2.1.8. Kimyasal Kompozisyon Analiz Sonuçları

Üretilen sosis örneklerinin ilk hafta ölçülen nem, ham protein, yağ, tuz ve kolajen miktarları Tablo 4.11’de verilmiştir.

Tablo 4.11. Sosis örneklerinin ilk hafta ölçülen kimyasal kompozisyon değerleri (%)

Kimyasal Kompozisyon (%)	Örnek Grupları			
	K	CC1	CC2	CC3
Nem	62,94	64,67	63,21	66,77
Yağ	15,41	13,84	14,35	15,40
Protein	10,09	11,08	10,74	10,94
Tuz	2,18	2,12	1,91	2,01
Kolajen	1,82	1,94	1,95	2,24

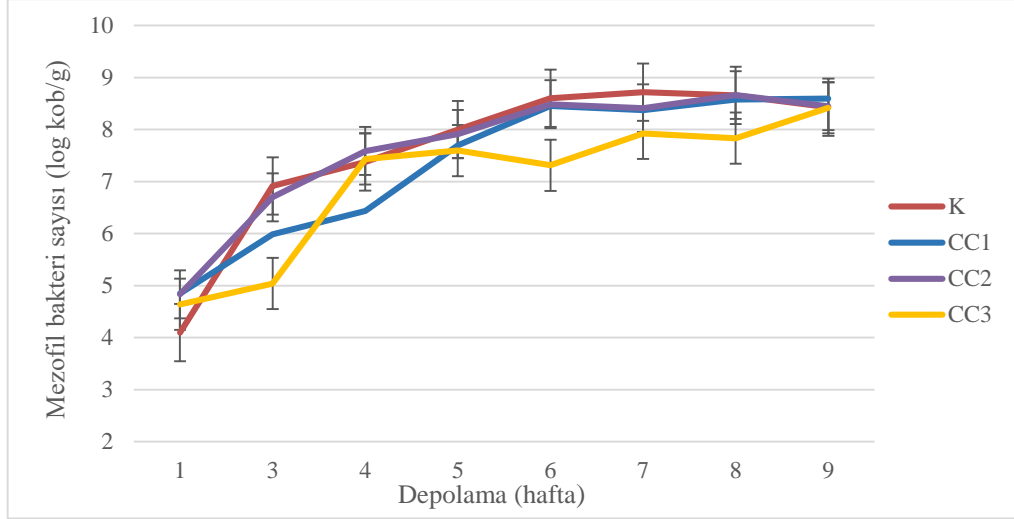
Ürünlerdeki nem miktarı uygulama ve depolama süresinden etkilenmiştir ($p < 0,05$). Tüm depolama haftalarında kontrol grubunun nem miktarının diğer gruplara kıyasla en düşük olduğu görülmektedir. 9. haftada kontrol grubunun nem miktarı diğer depolama haftalarına göre farklılık ($p < 0,05$) göstermektedir. CC1 ile CC2 uygulama gruplarında ki nem miktarının genel olarak farklılık ($p > 0,05$) göstermemiştir. CC3 uygulama grubu 1. haftada diğer depolama haftalarına göre farklılık ($p < 0,05$) göstermektedir. Nem miktarı 1. haftada CC1 ve CC2 uygulama grupları ile bütün uygulama grupları arasında fark vardır ($p < 0,05$). Tüm depolama günlerinde kontrol grubunun nem miktarı diğer gruplara göre farklılık göstermektedir ($p < 0,05$) (EK-B).

Sosislerdeki yağ miktarı sadece uygulama gruplarından etkilenmiştir ($p < 0,05$). Kontrol grubu diğer örnek gruplarına kıyasla en yüksek yağ miktarına sahiptir. Protein miktarı uygulamadan ve depolama süresinden etkilenmiştir ($p < 0,05$). Kontrol grubunun protein miktarı depolama süresince diğer gruplardan daha düşüktür. Depolama süresince kontrol grubundaki protein değişimi kıyaslandığında 1. ve 3. haftalar hariç diğer bütün günlerde farklılık göstermektedir ($p < 0,05$). Protein miktarı 1. ve 3. depolama haftalarında kontrol grubu ile CC1, CC2 ve CC3 uygulama grupları arasında farklılık ($p < 0,05$) göstermektedir. Tuz miktarı uygulamadan ve depolama süresinden etkilenmemiştir ($p < 0,05$). Kolajen miktarı uygulamalar arasında farklılık göstermektedir ($p < 0,05$). Genel olarak kolajen miktarı farklı haftalarda uygulama grupları arasında değişiklik göstermeyip ($p > 0,05$) 1. haftada CC3 örnek grubu ile kontrol grupları arasında, 5. Haftada ise CC2 örnek grubu ile kontrol grubu arasında farklılık ($p < 0,05$) göstermektedir (EK-B).

4.2.2. Sosis Örneklerinin Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

4.2.2.1. Toplam Mezofilik Bakteri Sayım Sonuçları

Depolama süresince sosis örneklerinde tespit edilen toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı Şekil 4.10'da gösterilmiştir.



Şekil 4.10. Depolama süresince sosis örneklerine ait toplam mezofilik bakteri sayısı

Mezofil bakteri sayısı raf ömrü süresince artış göstermiş ve depolama süresinden etkilenmiş, ancak uygulamanın mezofil bakteri sayısına etkisinin olmadığı görülmüştür. 1. ve 3. haftalarda CC3 örnek grubu en düşük mezofil bakteri sayısına sahiptir. 4. ve 5. haftalarda ise CC1 örnek grubunun en düşük mezofil bakteri sayısına sahip olduğu görülmüştür. Zamanla mezofilik bakteri sayısı stabil duruma gelmiş ve 8. haftadan sonra azalmaya başlamıştır.

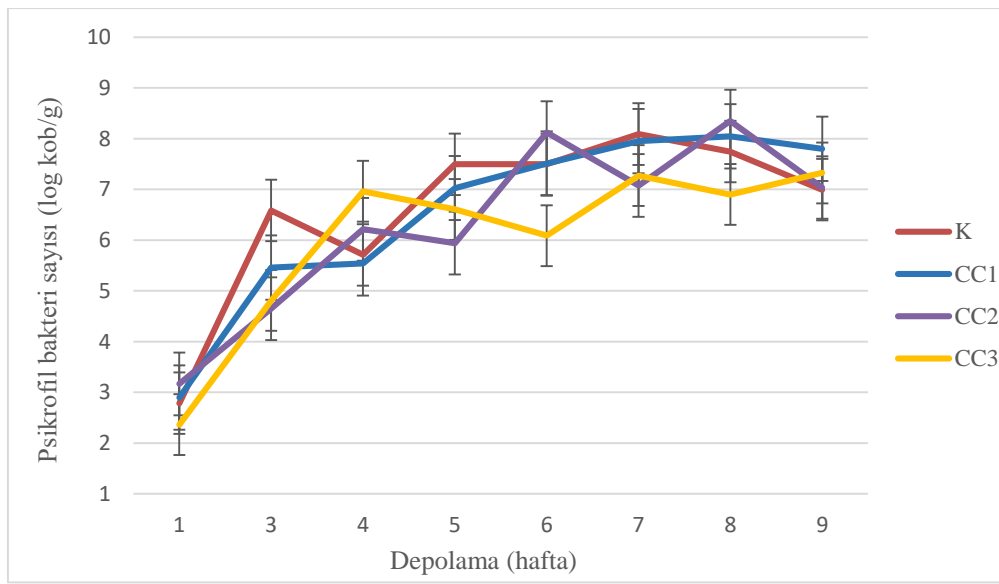
Sosis ürünlerinde depolama süresi boyunca kabul edilebilir sınır değeri 10^6 kob/g olarak belirtilmiştir (Kolsarıcı ve Güven, 1998; Adams vd., 1987). 3. haftada sadece CC3 örnek grubunun bu sınırı aşmadığı, diğer örnek gruplarının ise bu değeri aşarak bozulma gösterdiği görülmüştür. Örnek grupları arasında istatistiksel olarak fark olmasada en yüksek oranda *Cistus* ekstresi içeren CC3 örnek grubunun diğer gruplara kıyasla raf ömrünün bir hafta daha uzun olduğu görülmektedir.

Benzer çalışmalarda; sığır etinden üretilen köftelere farklı oranlarda (%0,5, %1, %2) soğan (*Allium cepa* L.) kabuk ekstraktları ilave edilerek köftelerin raf ömrü üzerindeki etkisi depolama süresi boyunca araştırılmıştır. Depolama süresince tüm örneklerin mezofil bakteri sayısı artmıştır. Beyaz soğan kabuğu ekstraktı içeren örneklerin mezofil bakteri sayıları kontrol örneğine göre daha düşük olduğu belirlenmiştir (Akarca vd., 2018).

Nar kabuğu liyofilize ekstraktları farklı oranlarda pişmiş tavuk ürünlerinde (chicken chilly ve chicken lolipop) kullanılarak depolama süresince ürünler üzerindeki antimikrobiyel etkisi incelemiştir. Nar kabuğu ekstraktının soğukta depolanan tavuk ürünlerinin raf ömrünü 2-3 haftaya uzattığı görülmüştür (Negi vd., 2003).

4.2.2.2. Toplam Psikrofil Bakteri Sayım Sonuçları

Depolama süresince sosis örneklerinde tespit edilen toplam psikrofil bakteri sayısı Şekil 4.11’de gösterilmiştir.



Şekil 4.11. Depolama süresince sosis örneklerine ait toplam psikrofil bakteri sayısı

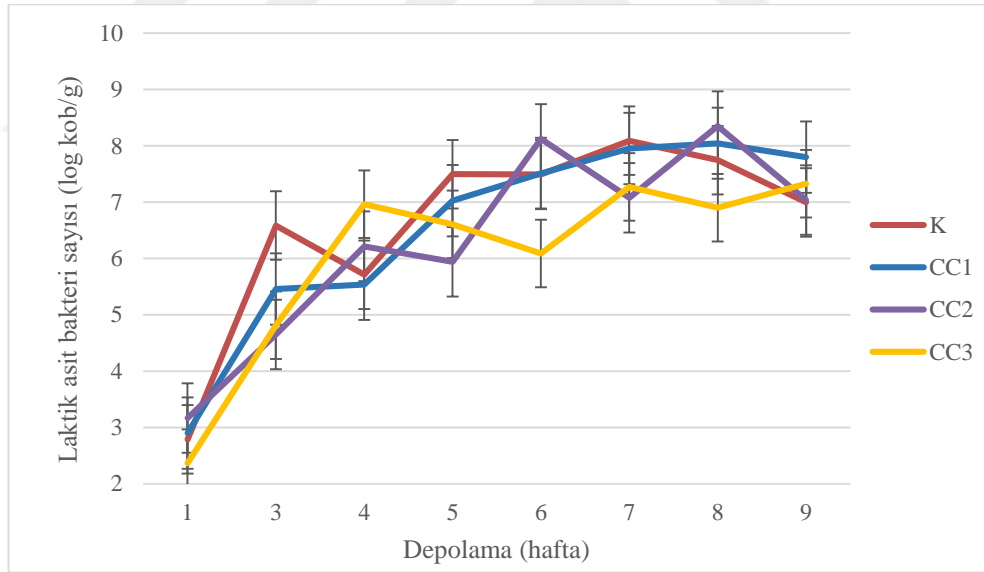
Psikrofil bakteri sayısı hem uygulamadan hem de depolama süresinden etkilenmiştir ($p < 0,05$). Bütün örnek gruplarındaki psikrofil bakteri sayıları kıyaslandığında farklılık ($p > 0,05$) görülmemiş, psikrofil bakteri sayısı depolama süresince genel olarak artış göstermiştir. Örnek grupları arasında 1. haftada psikrofil bakteri sayısı istatistiksel olarak farklılık ($p > 0,05$) göstermemiştir. 3. haftada CC3 örnek grubunun en düşük psikrofil bakteri sayısına sahip olduğu görülmüş, diğer örnek grupları ile farklılık ($p < 0,05$) göstermektedir. 4. haftada ise CC1 örnek grubunun en düşük psikrofil bakteri sayısına sahip olduğu görülmüş ve diğer örnek gruplarından farklı ($p < 0,05$) olduğu görülmüştür. 5. haftada örnek grupları arasında psikrofil bakteri sayısı açısından fark ($p > 0,05$) görülmemiştir. 6. haftada CC3 örnek grubu en düşük psikrofil bakteri sayısına sahip olup diğer gruplarla farklılık ($p < 0,05$) göstermektedir. 6. haftadan

sonra psikrofil bakteri sayısı örnek grupları arasında değişiklik göstermemektedir ($p > 0,05$).

Benzer bir çalışmada; sığır etinden üretilen köftelere farklı oranlarda (%0,5, %1, %2) soğan (*Allium cepa* L.) kabuk ekstraktları ilave edilerek köfteler üzerindeki etkisi araştırılmıştır. 21 Günlük depolama süresi boyunca örneklerin tümünde psikrofil bakteri sayılarında artış gözlenmiştir. Depolama süresi boyunca en fazla psikrofil bakteri sayındaki artış %0,5 oranında beyaz soğan kabuğu ekstraktı ilave edilen numunelerde olduğu belirlenirken en az artış ise %0,5 oranında yazlık soğan kabuğu ekstartkı ilave edilmiş köfte numunelerinde olduğu belirlenmiştir (Akarca vd., 2018).

4.2.2.3. Toplam Laktik Asit Bakteri Sayım Sonuçları

Depolama süresince sosis örneklerinde tespit edilen toplam laktik asit bakteri sayısı Şekil 4.12’de gösterilmiştir.



Şekil 4.12. Depolama süresince sosis örneklerine ait laktik asit bakteri sayısı

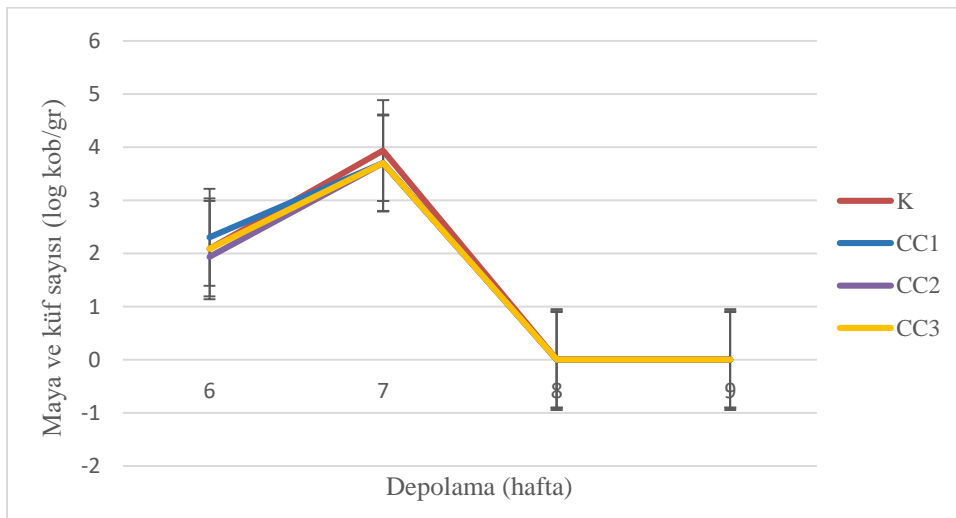
Laktik asit bakterilerinin gelişimi hem uygulamadan hem de depolama süresinden etkilenmiştir ($p < 0,05$). Bütün örnek gruplarında depolama süresince laktik asit bakteri miktarı farklılık ($p < 0,05$) göstermiş ve artmıştır. Aynı haftalar içerisinde farklı örnek gruplarına bakıldığında 1. haftada örnek grupları arasında bir fark ($p > 0,05$) yoktur. 3. haftada kontrol grubunun en yüksek laktik asit bakteri sayısına sahip

olduğu görülmüş ve CC1, CC2 ve CC3 örnek grupları ile laktik asit bakteri miktarı açısından istatistiksel olarak farklı ($p < 0,05$) bulunmuştur. 4. haftada kontrol grubu en düşük laktik asit bakteri miktarına sahip olup CC3 örnek grubu ile istatistiksel olarak farklıdır ($p < 0,05$). 5. haftada CC2 örnek grubu en düşük laktik asit bakteri miktarına sahip olup kontrol grubu ve CC1 örnek grubundan istatistiksel olarak farklıdır ($p < 0,05$). 6. haftada CC3 örnek grubu en düşük laktik asit bakteri miktarına sahiptir ve diğer gruplardan farklılık ($p < 0,05$) göstermektedir. Ürünlerin raf ömrünü genel olarak tamamlamış olduğu 7., 8. ve 9. haftalarda örnek grupları arasında fark ($p > 0,05$) yoktur.

Yapılan benzer bir çalışmada; *Bidens pilosa* ve *Moringa oleifera* yaprak ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerinin ve soğuk muhafaza sırasında kıyma kalitesine etkilerinin araştırıldığı çalışmada *Bidens pilosa* ile *Moringa oleifera* yaprak ekstre karışımlarını içeren sığır eti numuneleri kontrol örneği ile karşılaştırıldığında en düşük laktik asit bakteri sayısına sahip olduğu görülmüştür ($p < 0,05$) (Falowo vd., 2016).

4.2.2.4. Küf ve Maya Sayım Sonuçları

Depolama süresince sosis örneklerinde tespit edilen küf ve maya sayısı Şekil 4.13’de gösterilmiştir.



Şekil 4.13. Depolama süresince sosis örneklerine ait küf ve maya sayısı

Maya ve küf sayıları sadece depolama süresinden etkilenmiş olup, depolamanın son günlerinde ortamdaki baskın mikroorganizma grubunun laktik asit bakterileri ve psikrofil bakteriler olması sebebiyle maya küf gelişimi gözlenmemiştir (MAP ambalajdan bahsedilecek). 6. ve 7. haftalarda kontrol grubundaki maya küf sayısı diğer örnek gruplarına kıyasla en yüksektir.

Taze domuz sosislerine biberiye özütü, kitosan ve α - tokoferol ayrı ayrı veya kombinasyon halinde ilave edilerek depolama süresince ürünlerdeki mikrobiyolojik etki araştırılmıştır. Biberiye ekstraktlı domuz eti sosislerinde, kontrol grubuna göre daha düşük maya küf sayıları elde edildiği bildirilmiştir. Biberiye ekstraktlı sosislerin maya küf sayısı 20 günlük depolama süresi sonunda 7,79 kob/g olarak bulunurken, kontrol grubu sosislerde maya küf sayısı 8,03 kob/g bulunmuştur (Georgantelis vd., 2007).

Farklı baharat ekstraktlarının mekanik ayrılmış piliç etleriyle üretilen sosislerin kalite özellikleri üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada, farklı baharat ekstraktları ilave edilerek üretilen sosislerin maya-küf sayısı, kontrol grubu sosislerin maya-küf sayısına göre önemli derecede ($p < 0,05$) farklı bulunmuştur. Maya ve küf sayısının en yüksek olduğu grubun kontrol grubu olduğu belirlenmiştir. Maya ve küf sayısının en düşük kekik ekstraktının ilave edildiği sosis gruplarında olduğu tespit edilmiştir (Bayrak, 2011).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada *Cistus creticus* bitkisinin plot ölçekte toz halinde elde edilen su bazlı ekstresinin (1) DPPH ve FRAP yöntemleri kullanılarak antioksidan potansiyelleri değerlendirilmiş, toplam fenolik ve toplam flavanoid miktarları tespit edilmiştir. (2) *Cistus creticus* ekstresinin doğal bir antioksidan olarak kokteyl sosislerin kalite parametrelerine (TBARS, hem demir, nitrosomiyoglobın, su aktivitesi, pH, su tutma kapasitesi, renk ve yaklaşık kimyasal kompozisyona etkisi) ve bozulmaya yol açan organizmaların (toplam mezofilik bakteri, toplam psikrofilik bakteri, laktik asit bakterileri, maya ve küf) gelişimlerine etkisi farklı depolama periyotlarında araştırılmıştır.

Raf ömrü sonuçlarına bakıldığında kokteyl sosislerin mikrobiyal yüklerinin 10^6 kob/g yani bozulma sınırını genel olarak 3. hafta itibariyle geçtiği görülmüştür. Kontrol grubu kokteyl sosisler (askorbik asit ve sodyum askorbat ile hazırlanmış) 3. hafta itibariyle bozulma sınırını geçerken *Cistus creticus* ekstresi ile hazırlanmış olan CC3 örnek grubunun aynı seviyelere 4. haftada ulaştığı görülmüştür. Bu durum; CC3 örnek grubu formülasyonuna sahip kokteyl sosislere ilave edilen *Cistus creticus* ekstresinin raf ömrünü kontrol grubuna göre bir hafta kadar uzattığını göstermektedir. Kimyasal analiz sonuçlarına bakıldığında lipit oksidasyonu açısından kontrol grubu ile CC1, CC2 ve CC3 örnek grupları arasında bir fark olmadığı görülmüştür. pH değerlerine bakıldığında en yüksek değişim kontrol grubunda görülmüştür. Su tutma kapasitesine bakıldığında CC3 örnek grubunun en yüksek su tutma kapasitesine sahip olduğu görülmüştür. Su aktivitesi CC3 örnek grubunda ilk ve son haftalarda en düşük olup kontrol grubundan farklılık göstermemektedir. Renk sonuçlarına bakıldığında *Cistus* uygulamasının renk değerlerine etkisi olduğu görülmüştür. Hem demir ve nitrozomiyoglobın değerleri raf ömrü süresince önemli bir değişim göstermemiş ve örnek grupları arasında ciddi bir fark gözlenmemiştir. Bu sonuçlar *Cistus creticus* ekstresiyle hazırlanan CC3 örneklerinin kontrol örneği yerine kullanılabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak *Cistus creticus* ekstresinin kokteyl sosislerde doğal bir antioksidan olarak askorbik asit ve sodyum askorbat yerine kullanılabilceği görölmektedir. Aynı zamanda *Cistus creticus* ekstresi et ve et ürünlerinde kullanılan ve potansiyel sağlık tehlikesi oluşturan sentetik antioksidan katkı maddelerine de iyi bir alternatif olarak düşünölebilir.

Cistus creticus'un gıda endüstrisi tarafından kullanılmak üzere iyi bir doğal antioksidan kaynağı olduğu görölmektedir. Ölkemizde doğal olarak yetişen *Cistus creticus* bitkisinden elde edilen ekstraktın, doğal ve alternatif bir katkı maddesi olarak kullanılması ölkemizde yetişen bu bitkiye değer kazandıracak ve gıda sanayiye ekonomik açıdan fayda sağlayacaktır.



6. KAYNAKÇA

- Adams, M.R., Baker, T., & Forrest, C.L. (1987). A note on shelf-life extension of British fresh sausage by vacuum packing, *Journal of Applied Bacteriology*, 63, 227-232.
- Akarca, G., Özalp, E., Sakarya, E., & Tomar, O. (2018). Değişik oranlarda soğan kabuğu ekstraktı ilave edilmiş köftelerde çeşitli kalite parametrelerinin incelenmesi. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 18(3), 932-945.
- Akarpat, A., Turhan, S., & Ustun, S. (2008). Effects of hot-water extracts from Myrtle, Rosemary, Nettle and Lemon balm leaves on lipid oxidation and color of beef patties during frozen storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 32, 117-132.
- Aksu, M.İ. (2003). Türk sucuğu üretiminde *Urtica dioica* L.(Isırgan Otu) kullanımının sucuğun kalitesi üzerine etkisi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 27(3), 685-693.
- Akyüz, E. (2007). *Polygonum bistorta* ssp. *carneum* bitki ekstraktlarının kromatografik yöntemlerle kimyasal bileşiminin belirlenmesi ve antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, Türkiye.
- Albayrak S., Sağdıç O., & Aksoy A., (2010). Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 26(4), 401-409.
- Alirezalu, K., Hesari, J., Eskandari, M.H., Valizadeh, H., & Sirousazar, M. (2017). Effect of green tea, stinging nettle and olive leaves extracts on the quality and shelf life stability of frankfurter type sausage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(5), e13100.
- Amensour, M., Sendra, E., Pérez-Álvarez, J., Skali-Senhaji, N., Abrini, J., & Fernández-López, J. (2010). Antioxidant activity and chemical content of methanol and ethanol extracts from leaves of rockrose (*Cistus ladaniferus*). *Plant Foods for Human Nutrition (Dordrecht, Netherlands)*, 65, 170-178.
- Ameziane, N., Boubaker, H., Boudyach, H., Msanda, F., Jilal, A., & Benaoumar, A.A. (2007). Antifungal activity of Moroccan plants against citrus fruit pathogens. *Agronomy for Sustainable Development*, 27(3), 273-277.
- Amorim, E., Nascimento, J., Monteiro, J., Sobrinho, T., Araujo, T., & Albuquerque, U. (2008). A simple and accurate procedure for the determination of tannin and flavonoid levels and some applications in ethnobotany and ethnopharmacology. *Functional Ecosystems and Communities*, 2, 88-94.
- Apte, S., & Morrissey, P.A. (1987). Effect of haemoglobin and ferritin on lipid oxidation in raw and cooked muscle systems. *Food Chemistry*, 25(2), 127-134.
- Aronne, G., & De Micco, V. (2001). Seasonal dimorphism in the Mediterranean *Cistus incanus* L. *subsp. incanus*. *Annals of Botany*, 87(6), 789-794.
- Attaguile, G., Perticone, G., Mania, G., Savoca, F., Pennisi, G., & Salomone, S. (2004). *Cistus incanus* and *Cistus monspeliensis* inhibit the contractile response in isolated rat smooth muscle. *Journal of Ethnopharmacology*, 92(2-3), 245-250.

Attaguile, G., Russo, A., Campisi, A., Savoca, F., Acquaviva, R., Ragusa, N., & Vanella, A. (2000). Antioxidant activity and protective effect on DNA cleavage of extracts from *Cistus incanus* L. and *Cistus monspeliensis* L. *Cell Biology and Toxicology*, 16(2), 83-90.

Barrajón-Catalán, E., Fernández Arroyo, S., Saura, D., Guillén, E., Fernández-Gutiérrez, A., Segura Carretero, A., & Micol, V. (2010). *Cistaceae* aqueous extracts containing ellagitannins show antioxidant and antimicrobial capacity, and cytotoxic activity against human cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 2273-2282.

Barros, L., Dueñas, M., Alves, C.T., Silva, S., Henriques, M., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I.C. (2012). *Cistus ladanifer* as a source of phenolic compounds with antifungal activity. Paper presented at the Planta Medica; 8th Joint Meeting of AFERP, ASP, GA, PSE & SIF.

Bayrak, E. (2011). *Farklı baharat ekstraktlarının mekanik ayrılmış piliç etlerinden üretilen sosislerin bazı kalite özellikleri üzerine etkisi*. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, Türkiye.

Baytop, T. (1984). *Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün)*. İstanbul Üniversitesi Yayınları, 3255, 235.

Bekdeşer, B. (2012). *Biyolojik örneklerde reaktif oksijen türleri süpürme etkinliği ölçümü için spektrofotometrik yöntemler geliştirilmesi*. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.

Benzie, I.F., & Strain, J. (1999). Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology*, 299, 15-27.

Bouamama, H., Villard, J., Benharref, A., & Jana, M. (1999). Antibacterial and antifungal activities of *Cistus incanus* and *C. monspeliensis* extract leaves. *Thérapie*, 54.

Büyüktuncel, S. (2013). Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan baslıca spektrofotometrik yöntemler. *Marmara Pharmaceutcal Journal*, 2, 93-103.

Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56(11), 317-333.

Bridson, E.Y. (2006). *The Oxoid Manuel*. Oxoid Ltd. pp. 248–249, Amsterdam.

Cao, G., Sofic, E., & Prior, R.L. (1997). Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine*, 22(5), 749-760.

Cemeroğlu, B. (2007). *Gıda Analizleri*. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, 535, Ankara.

Cengiz, İ.D. (2015). *Laden’lerin (Cistus sp.) yol şevleri ıslahında kullanılma olanakları*. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.

- Chinou, I., Demetzos, C., Harvala, C., Roussakis, C., & Verbist, J. (1994). Cytotoxic and antibacterial labdane-type diterpenes from the aerial parts of *Cistus incanus* subsp. *creticus*. *Planta Medica*, 60(1), 34-36.
- Clark, E. M., Mahoney, A. W., & Carpenter, C. (1997). Heme and total iron in ready-to-eat chicken. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 124-126.
- Cuendet, M., Hostettmann, K., Potterat, O., & Dyatmiko, W. (1997). Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. *Helvetica Chimica Acta*, 80(4), 1144-1152.
- Davis, P. H. (1970). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh University Press, Vol. 3.
- De Pascual Teresa, J., Marcos, I.S., Urones, J.G., Sexmero, M.J., Basabe, P. ve Cinos, M.S. (1983). Components of *Cistus clusii*. 1. *Anales De Quimica Serie C-Quimica Organica Y Bioquimica*, 79(1), 40-42.
- De Pascual Teresa, J., Urones, J.G., Basabe, P., Lianos, A. & Sanches, I. (1979). Flavonoids from Cistaceas (III): *Halimium umbellatum* (L.) Spach, *Cistus laurifolius* L. and *C. monspeliensis* L. *Anales de Quimica*, 75(2), 168-171.
- Demetzos, C., Anastasaki, T., & Perdetzoglou, D. (2002). A chemometric interpopulation study of the essential oils of *Cistus creticus* L. growing in Crete (Greece). *Zeitschrift für Naturforschung C*, 57(1-2), 89-94.
- Demetzos, C., Mitaku, S., Hotellier, F., & Harvala, A. (1989). Polyphenolic glycosides from *Cistus creticus* L. leaves. *Annales Pharmaceutiques Francaises*, 47(5), 314-318.
- Demetzos, C., Harvala, C., Philianos, S.M. & Skaltsounis, A.L. (1990). A new labdane-type diterpene and other compounds from the leaves of *Cistus incanus* ssp. *creticus*. *Journal of Natural Products*, 53(5), 1365-1368.
- Demetzos, C., Katerinopoulos, H., Kouvarakis, A., Stratigakis, N., Loukis, A., Ekonomakis, C., & Tsaknis, J. (1997). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Cistus creticus* subsp. *eriocephalus*. *Planta Medica*, 63(05), 477-479.
- Demetzos, C., Loukis, A., Spiliotis, V., Zoakis, N., Stratigakis, N., & Katerinopoulos, H.E. (1995). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Cistus creticus* L. *Journal of Essential Oil Research*, 7(4), 407-410.
- Demetzos, C., Mitaku, S., Couladis, M., Harvala, C., & Kokkinopoulos, D. (1994). Natural metabolites of ent-13-epi-manoyl oxide and other cytotoxic diterpenes from the resin "Ladano" of *Cistus creticus*. *Planta Medica*, 60(6), 590-591.
- Demirkaya, A.K. (2014). Bilecik ilinde tüketime sunulan kıyma ve tavuk etlerinde lipid oksidasyonu. *Akademik Gıda*, 12(3), 26-29.
- Dimas, K., Demetzos, C., Marsellos, M., Sotiriadou, R., Malamas, M., & Kokkinopoulos, D. (1998). Cytotoxic activity of labdane type diterpenes against human leukemic cell lines in vitro. *Planta Medica*, 64(03), 208-211.
- Dimas, K., Papadaki, M., Tsimplouli, C., Hatziantoniou, S., Alevizopoulos, K., Pantazis, P., & Demetzos, C. (2006). Labd-14-ene-8, 13-diol (sclareol) induces cell cycle arrest and apoptosis in human breast cancer cells and enhances the activity of anticancer drugs. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 60(3), 127-133.

- Ding, Y., Wang, S.Y., Yang, D.J., Chang, M.H., & Chen, Y.C. (2015). Alleviative effects of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) flower on lipid peroxidation and protein degradation in emulsified pork meatballs. *Journal of Food and Drug Analysis*, 23(3), 501-508.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97(4), 654-660.
- Efenberger-Szmechtyk, M., Galazka-Czarnecka, I., Otlewska, A., Czyżowska, A., & Nowak, A. (2021). *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot, *Chaenomeles superba* Lindl. and *Cornus mas* L. leaf extracts as natural preservatives for pork meat products. *Molecules*, 26(10), 3009.
- Ekici, L., Öztürk, İ., Sağdıç, O., & Yetim, H. (2014). Et ve et ürünlerinde baharatların doğal antioksidan ve antimikrobiyel olarak kullanımı. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 30(1), 66-72.
- Erçebi, H.Ş. (2012). *Flavonoidlerin yapıları ve onların fizikokimyasal özellikleri*. Yüksek Lisans Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, Türkiye.
- Ergezer, H., & Serdaroğlu, M. (2008). *Et ve et ürünlerinde su tutma kapasitesi ve ölçüm yöntemleri*. 10. Gıda Kongresi, Erzurum.
- Ertaş, A. (1985). Et ürünlerinin üretim teknikleri ve mikroorganizmalar. *Kükem Dergisi*, 8(2), 131-133.
- Estévez, M., Ventanas, S., & Cava, R. (2005). Protein oxidation in frankfurters with increasing levels of added rosemary essential oil: Effect on color and texture deterioration. *Journal of Food Science*, 70(7), c427-c432.
- Falara, V., Fotopoulos, V., Margaritis, T., Anastasaki, T., Pateraki, I., Bosabalidis, A. M., & Kanellis, A.K. (2008). Transcriptome analysis approaches for the isolation of trichome-specific genes from the medicinal plant *Cistus creticus* subsp. *creticus*. *Plant Molecular Biology*, 68(6), 633.
- Falara, V., Pichersky, E., & Kanellis, A.K. (2010). A copal-8-ol diphosphate synthase from the angiosperm *Cistus creticus* subsp. *creticus* is a putative key enzyme for the formation of pharmacologically active, oxygen-containing labdane-type diterpenes. *Plant Physiology*, 154(1), 301-310.
- Falowo, A.B., Muchenje, V., Hugo, C.J., & Charimba, G. (2016). In vitro antimicrobial activities of *Bidens pilosa* and *Moringa oleifera* leaf extracts and their effects on ground beef quality during cold storage. *Cyta-Journal of Food*, 14(4), 541-546.
- Fang, Y.Z., Yang, S., & Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18(10), 872-879.
- Faustman, C., Sun, Q., Mancini, R., & Suman, S.P. (2010). Myoglobin and lipid oxidation interactions: mechanistic bases and control. *Meat Science*, 86:1, 86- 94.
- Fontana, A. (2000). *Water Activity's Role in Food Safety and Quality*. Second NSF International Conference on Food Safety (pp. 11-13).

- Galanakis, C.M. (2018). *Polyphenols: Properties, Recovery and Applications* (1st Edition). Woodhead Publishing.
- Galluzzi, L., Aaronson, S., Abrams, J., Alnemri, E., Andrews, D., Baehrecke, E., & Borner, C. (2009). Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring cell death in higher eukaryotes. *Cell Death & Differentiation*, 16(8), 1093-1107.
- Gandemer, G. (2002). Lipids in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. *Meat Science*, 62(3), 309-321.
- Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Katikou, P., Blekas, G., & Georgakis, S.A. (2007). Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C. *Meat Science*, 76(1), 172-181.
- Gökalp, H.Y. (1984). Vakum uygulanarak paketlenmiş ve paketlenmemiş sığır kıymalarının dondurularak soğuk depoda muhafazası sırasında yağda çözünebilir karbonil ve TBA değerlerinde oluşan değişimler. *Gıda*, 9(2).
- Guillen-Sans, R. & Guzman-Chozas, M. (1998). The thiobarbituric acid (TBA) reaction in foods: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38(4), 315-350.
- Guimarães, R., Barros, L., Carvalho, A. M., Sousa, M. J., Morais, J. S., & Ferreira, I. C. (2009). Aromatic plants as a source of important phytochemicals: Vitamins, sugars and fatty acids in *Cistus ladanifer*, *Cupressus lusitanica* and *Eucalyptus gunnii* leaves. *Industrial Crops and Products*, 30(3), 427-430.
- Guzmán, B. & Vargas, P. (2005). Systematics, character evolution, and biogeography of *Cistus L. (Cistaceae)* based on ITS, trnL-trnF, and matK sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 37(3), 644-660.
- Günter, Ü., Maçın, S., & Tuncer, E. İ. (2020). Çeşitli bitki ekstrelerinin antibakteriyel aktivitelerinin araştırılması. *Genel Tıp Dergisi*, 30(3).
- Gürbüz, P. (2011). *Cistus salviifolius L. üzerinde farmakognozik araştırmalar*. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye.
- Güvenç, A., Yıldız, S., Özkan, A.M., Erdurak, C.S., Coşkun, M., Yılmaz, G., & Okada, Y. (2005). Antimicrobiological studies on turkish *Cistus* species. *Pharmaceutical Biology*, 43(2), 178-183.
- Haida, Z., & Hakiman, M. (2019). A comprehensive review on the determination of enzymatic assay and nonenzymatic antioxidant activities. *Food Science & Nutrition*, 7(5), 1555-1563.
- Hettiarachchy, N., Glenn, K., Gnanasambandam, R., & Johnson, M. (1996). Natural antioxidant extract from fenugreek (*Trigonella foenumgraecum*) for ground beef patties. *Journal of Food Science*, 61(3), 516-519.
- Hoac, T., Daun, C., Trafikowska, U., Zackrisson, J., & Åkesson, B. (2006). Influence of heat treatment on lipid oxidation and glutathione peroxidase activity in chicken and duck meat. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 7(1-2), 88-93.

- Honda, G., Yeşilada, E., Tabata, M., Sezik, E., Fujita, T., Takeda, Y., & Tanaka, T. (1996). Traditional medicine in Turkey VI. Folk medicine in West Anatolia: Afyon, Kütahya, Denizli, Muğla, Aydın provinces. *Journal of Ethnopharmacology*, 53(2), 75-87.
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R.L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841-1856.
- Hutschenreuther, A., Birkemeyer, C., Grötzinger, K., Straubinger, R.K., & Rauwald, H.W. (2010). Growth inhibiting activity of volatile oil from *Cistus creticus* L. against *Borrelia burgdorferi* s.s. in vitro. *Pharmazie*, 65(4), 290-295.
- Ipek, M., Ipek, A., & Simon, P.W. (2008). Genetic characterization of *Allium tuncelianum*: An endemic edible Allium species with garlic odor. *Scientia Horticulturae*, 115(4), 409-415.
- İskefiyeli, Z. (2014). *Damlatma ile yeni DPPH ve FRAP antioksidan tayin yöntemlerinin geliştirilmesi ve uygulanması*. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, Türkiye.
- Itharat, A., Houghton, P.J., Eno-Amooquaye, E., Burke, P., Sampson, J.H. & Raman, A. (2004). In vitro cytotoxic activity of Thai medicinal plants used traditionally to treat cancer. *Journal of Ethnopharmacology*, 90(1), 33-38.
- Jayawardana, B.C., Warnasooriya, V.B., Thotawattage, G., Dharmasena, V. & Liyanage, R. (2019). Black and green tea (*Camellia sinensis* L.) extracts as natural antioxidants in uncured pork sausages. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(2), e13870.
- Jones, M., Hoffman, L.C. & Muller, M. (2015). Effect of rooibos extract (*Aspalathus linearis*) on lipid oxidation over time and the sensory analysis of blesbok (*Damaliscus pygargus phillipsi*) and springbok (*Antidorcas marsupialis*) droëwors. *Meat Science*, 103, 54-60.
- Jridi, M., Mora, L., Souissi, N., Aristoy, M.C., Nasri, M., & Toldrá, F. (2018). Effects of active gelatin coated with henna (*L. inermis*) extract on beef meat quality during chilled storage. *Food Control*, 84, 238-245.
- Karabudak, E. (2003). Etlerdeki demir bileşiklerinin lipid oksidasyonu üzerine etkisi. *Gıda*, 28 (2).
- Karaman, Ş. (2008). *Türkiye’de yetiştirilen bazı elma çeşitlerinin toplam antioksidan kapasitelerinin ve antioksidan özellik gösteren başlıca bileşenlerinin karşılaştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul Üniversitesi, İstanbul.
- Karamanoğlu, K. (1976). Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları sayı:32
- Kargioğlu, M., Cenkci, S., Serteser, A., Evliyaoğlu, N., Konuk, M., Kök, M.Ş., & Bağcı, Y. (2008). An ethnobotanical survey of inner-West Anatolia, Turkey. *Human Ecology*, 36(5), 763-777.
- Kaur, C., & Kapoor, H.C. (2001). Antioxidants in fruits and vegetables—the millennium’s health. *International Journal of Food Science & Technology*, 36(7), 703-725.

- Kaya, M. (2020). *Bazı parametrelerin DPPH giderim testine ve pH'nun biyoaktif bileşen ekstraksiyonu ve inkübasyonunda bileşim ve aktiviteye etkileri*. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, Türkiye.
- Kedare, S.B., & Singh, R. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*, 48(4), 412-422.
- Kilic, D.D., Siriken, B., Ertürk, Ö., Tanrikulu, G., Melek, G.Ü.L., & Başkan, C. (2019). Antibacterial, antioxidant and DNA interaction properties of *Cistus creticus* L. extracts. *Journal of International Environmental Application and Science*, 14(3), 110-115.
- Kim, D.H., Shin, D.M., Seo, H.G. & Han, S.G., (2019). Effects of konjac gel with vegetable powders as fat replacers in frankfurter-type sausage. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 32(8), 1195.
- Kolsarıcı, N. & Güven, T., (1998). Sıvı tütsü kullanımının frankfurter sosislerin depolama stabilitesine etkisi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 22, 379-388.
- Kuhn, C., Arapogianni, N.E., Halabalaki, M., Hempel, J., Hunger, N., Wober, J., Skaltsounis, A.L. & Vollmer, G. (2010). Constituents from *Cistus salvifolius* (Cistaceae) activate peroxisome proliferator-activated receptor-gamma but not-delta and stimulate glucose uptake by adipocytes. *Planta Medica*, 77(4):346-353.
- Kültür, Ş. (2007). Medicinal plants used in Kırklareli province (Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 111(2), 341-364.
- Küpeli, E., Orhan, D. D., & Yesilada, E. (2006). Effect of *Cistus laurifolius* L. leaf extracts and flavonoids on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 103(3), 455-460.
- Küpeli, E., & Yesilada, E. (2007). Flavonoids with anti-inflammatory and antinociceptive activity from *Cistus laurifolius* L. leaves through bioassay-guided procedures. *Journal of Ethnopharmacology*, 112(3), 524-530.
- Lahcen, S. A., El Hattabi, L., Benkaddour, R., Chahboun, N., Ghanmi, M., Satrani, B., & Zarrouk, A. (2020). Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and antifungal activity of Moroccan *Cistus creticus* leaves. *Chemical Data Collections*, 26, 100346.
- Landvogt, A. (1991). Errors in pH measurement of meat and meat products by dilution effects. *37th International Congress of Meat Science and Technology*.
- Latoch, A. & Stasiak, D.M. (2015). Effect of *Mentha piperita* on oxidative stability and sensory characteristics of cooked pork sausage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 1566-1573.
- Leja, M., Mareczek, A., & Ben, J. (2003). Antioxidant properties of two apple cultivars during long-term storage. *Food Chemistry*, 80, 303-307.
- Lemon, D. (1975). An improved TBA test for rancidity. *Fisheries and Marine Service*, Halifax, NS.

- Lendeckel, U., Arndt, M., Wolke, C., Reinhold, D., Kähne, T., & Ansorge, S. (2002). Inhibition of human leukocyte function, alanyl aminopeptidase (APN, CD13) and dipeptidylpeptidase IV (DP IV, CD26) enzymatic activities by aqueous extracts of *Cistus incanus* L. ssp. *incanus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 79(2), 221-227.
- Loizzo, M.R., Ben Jemia, M., Senatore, F., Bruno, M., Menichini, F., & Tundis, R. (2013). Chemistry and functional properties in prevention of neurodegenerative disorders of five *Cistus* species essential oils. *Food and Chemical Toxicology*, 59, 586-594.
- Luo, A., Feng, J., Hu, B., Lv, J., Liu, Q., Nan, F., & Xie, S. (2018). *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* extract improves oxidative stability and product quality of Chinese-style pork sausage. *Journal of Applied Phycology*, 30(3), 1667-1677.
- Mastino, P.M., Mauro, M., Jean, C., Juliano, C., & Marianna, U. (2018). Analysis and potential antimicrobial activity of phenolic compounds in the extracts of *Cistus creticus* subspecies from sardinia. *The Natural Products Journal*, 8(3), 166-174.
- McCarthy, T.L., Kerry, J.P., Kerry, J.F., Lynch, P.B., & Buckley, D.J. (2001). Evaluation of the antioxidant potential of natural food/plant extracts as compared with synthetic antioxidants and vitamin E in raw and cooked pork patties. *Meat Science*, 57, 45-52.
- Menzek, A., Şengül, M., Kaya, A., Karakuş, M., & Kayardı, İ. (2009). Terpen yapısında bazı bileşiklerin sentezi ve reaksiyonları. TÜBİTAK, Kesin Rapor, Erzurum, 57s.
- Mielnik, M., Olsen, E., Vogt, G., Adeline, D., & Skrede, G. (2006). Grape seed extract as antioxidant in cooked, cold stored turkey meat. *LWT-Food Science and Technology*, 39(3), 191-198.
- Mitjavila, M.T., & Moreno, J.J. (2012). The effects of polyphenols on oxidative stress and the arachidonic acid cascade. Implications for the prevention/treatment of high prevalence diseases. *Biochemical Pharmacology*, 84(9), 1113-1122.
- Morrissey, P., Sheehy, P., Galvin, K., Kerry, J., & Buckley, D. (1998). Lipid stability in meat and meat products. *Meat Science*, 49, S73-S86.
- Müller, M., Siles, L., Cela, J., & Munné-Bosch, S. (2014). Perennially young: seed production and quality in controlled and natural populations of *Cistus albidus* reveal compensatory mechanisms that prevent senescence in terms of seed yield and viability. *Journal of Experimental Botany*, 65(1), 287-297.
- Negi, P., Jayaprakasha, G., & Jena, B. (2003). Antioxidant and antimutagenic activities of pomegranate peel extracts. *Food Chemistry*, 80(3), 393-397.
- Oğuz, A. (2008). *Bazı çerez gıdaların antioksidan kapasiteleri*. Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat, Türkiye.
- Oñate, M. & Munné-Bosch, S. (2010). Loss of flower bud vigour in the Mediterranean shrub, *Cistus albidus* L. at advanced developmental stages. *Plant Biology*, 12(3), 475-483.
- Özer, E. (1995). *Bazı et ürünlerinin (sucuk, salam, sosis) nitrat ve nitrit düzeylerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma*. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, Türkiye.

- Paduch, R., Kandefér-Szerszeń, M., Trytek, M., & Fiedurek, J. (2007). Terpenes: substances useful in human healthcare. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 55(5), 315-327.
- Papaefthimiou, D., Papanikolaou, A., Falara, V., Givanoudi, S., Kostas, S., & Kanellis, A.K. (2014). Genus *Cistus*: a model for exploring labdane-type diterpenes' biosynthesis and a natural source of high value products with biological, aromatic, and pharmacological properties. *Frontiers in Chemistry*, 2(35).
- Park, J., Kang, S., Shin, D., Hur, I., Kim, I., & Jin, S.K. (2013). Antioxidant activities of *Achyranthes japonica* Nakai extract and its application to the pork sausages. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 26(2), 287.
- Petereit, F., Kolodziej, H., & Nahrstedt, A. (1991). Flavan-3-Ols and Proanthocyanidins from *Cistus incanus*. *Phytochemistry*, 30(3), 981-985.
- Pitt, J.I., & Hocking, A.D. (2009). *Fungi and Food Spoilage* (Vol. 519). Springer.
- Pokorný, J. (2007). Are natural antioxidants better and safer than synthetic antioxidants. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109(6), 629-642.
- Pomponio, R., Gotti, R., Santagati, N.A., & Cavrini, V. (2003). Analysis of catechins in extracts of *Cistus* species by microemulsion electrokinetic chromatography. *Journal of Chromatography*, 990(1-2), 215-223.
- Prior, R.L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290-4302.
- Proksch, P., & Gülz, P.G. (1984). Methylated flavonoids from *cistus ladanifer* and *Cistus palhinhae* and their taxonomic implications. *Phytochemistry*, 23(2), 470-471.
- Qa'dan, F., Petereit, F., Mansoor, K., & Nahrstedt, A. (2006). Antioxidant oligomeric proanthocyanidins from *Cistus salvifolius*. *Natural Product Research*, 20(13), 1216-1224.
- Rebaya, A., Belghith, S.I., Cherif, J.K., & Trabelsi-Ayadi, M. (2016). Total phenolic compounds and antioxidant potential of rokrose (*Cistus salviifolius*) leaves and flowers grown in Tunisia. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8, 327-331.
- Riahi, L., Chograni, H., Elferchichi, M., Zaouali, Y., Zoghalmi, N., & Mliki, A. (2013). Variations in Tunisian wormwood essential oil profiles and phenolic contents between leaves and flowers and their effects on antioxidant activities. *Industrial Crops and Products*, 46, 290-296.
- Rice-Evans, C., Miller, N., & Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, 2(4), 152-159.
- Riss, T. & Moravec, R. (2006). Cell proliferation assays: improved homogeneous methods used to measure the number of cells in culture. *Cell Biology*. Elsevier Academic Press, Burlington.
- Riss, T. L. & Moravec, R. A. (2004). Use of multiple assay endpoints to investigate the effects of incubation time, dose of toxin, and plating density in cell-based cytotoxicity assays. *Assay and Drug Development Technologies*, 2(1), 51-62.

- Ryu, K.S., Shim, K.S., & Shin, D. (2014). Effect of grape pomace powder addition on TBARS and color of cooked pork sausages during storage. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 34(2), 200-206.
- Sadhu, S.K., Okuyama, E., Fujimoto, H., Ishibashi, M. & Yesilada, E. (2006). Prostaglandin inhibitory and antioxidant components of *Cistus laurifolius*, a Turkish medicinal plant. *Journal of Ethnopharmacology*, 108(3), 371-378.
- Sample, S. (2013). Oxidation and antioxidants in fish and meat from farm to fork. *Food Industry* (pp. 114–144), Croatia.
- Saracini, E., Tattini, M., Traversi, M.L., Vincieri, F.F., & Pinelli, P. (2005). Simultaneous LC-DAD and LC-MS determination of ellagitannins, flavonoid glycosides, and acyl-glycosyl flavonoids in *Cistus salvifolius* L. leaves. *Chromatographia*, 62(5-6), 245-249.
- Sargin, S.A., Selvi, S., & Açar, M. (2014). *Türkiye’de Yayılış Gösteren Cistus L.(Cistaceae) Cinsi Üzerinde Taksonomik ve Morfolojik Araştırmalar*. Bitki Bilimi Kongresi, 121.
- Sassi, A.B., Harzallah-Skhiri, F., & Aouni, M. (2007). Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities. *Pharmaceutical Biology*, 45(5), 421-428.
- Sebranek, J., Sewalt, V., Robbins, K., & Houser, T. (2005). Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. *Meat Science*, 69(2), 289-296.
- Seol, K.H., Joo, B.J., Kim, H.W., Chang, O.K., Ham, J.S., Oh, M.H., & Lee, M. (2013). Effect of medicinal plant extract incorporated carrageenan based films on shelf-life of chicken breast meat. *Food Science of Animal Resources*, 33(1), 53-57.
- Shahidi, F., Janitha, P., & Wanasundara, P. (1992). Phenolic antioxidants. *Food Science & Nutrition*, 32(1), 67-103.
- Shahidi, F. & Naczki, M. (2003). *Phenolics in Food and Nutraceuticals*. CRC press.
- Sharma, O.P. & Bhat, T.K. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry*, 113(4), 1202-1205.
- Singleton, V.L., & Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Sönmez, U., (1995). *Salvia napifolia Jacq. bitkisinden elde edilen yeni diterpenoit bileşiklerinin yapı araştırılması*. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.
- Skorić, M., Todorović, S., Gligorijević, N., Janković, R., Živković, S., Ristić, M., & Radulović, S. (2012). Cytotoxic activity of ethanol extracts of in vitro grown *Cistus creticus* subsp. *creticus* L. on human cancer cell lines. *Industrial Crops and Products*, 38, 153-159.
- Şen M., (2011). *Üvez meyvalarının antioksidan aktivitesi*. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.

Tahtabiçen, E. (2008). *Tekirdağ Damızlık Sığır Yetiştiricileri Birliği'ne kayıtlı bazı işletmelerde yetiştirilen siyah alaca sığırların süt verim özelliklerini etkileyen çevre faktörlerinin belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ, Türkiye.

Takım, K. (2010). *Kiraz yaprağı ekstraktlarının antioksidan kapasitesinin ve oksidatif DNA hasarı üzerine etkisinin belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya, Türkiye.

Thanos, C.A., Georghiou, K., Kadis, C., & Pantazi, C. (1992). *Cistaceae: a plant family with hard seeds*. Israel Journal of Plant Sciences, 41(4-6), 251-263.

Tomás-Menor, L., Morales-Soto, A., Barrajón-Catalán, E., Roldán-Segura, C., Segura-Carretero, A., & Micol, V. (2013). Correlation between the antibacterial activity and the composition of extracts derived from various Spanish *Cistus* species. Food and Chemical Toxicology, 55, 313-322.

Turp, G. (1999). *Tavuk köfterlerinde askorbik, asit, α -tokoferol/askorbik asit ve biberiye ekstraktı kullanımının bazı kalite özellikleri üzerine etkileri*. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Türkiye.

Ulu, H. (2004). Evaluation of three 2-thiobarbituric acid methods for the measurement of lipid oxidation in various meats and meat products. Meat Science, 67(4), 683-687.

Ulusoy, E. (2010). *Anzer balı ve polenin yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile fenolik bileşiminin belirlenmesi ve antioksidan özellikleri*. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, Türkiye.

Ünal, K. (2017). *Farklı hayvansal yağ ve değişik baharat ilavesinin sucuğun bazı kalite özelliklerine ve heterosiklik aromatik amin oluşumu üzerine etkilerinin belirlenmesi*. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, Türkiye.

Üstun, O., Ozcelik, B., Akyon, Y., Abbasoglu, U., & Yesilada, E. (2006). Flavonoids with anti-*Helicobacter pylori* activity from *Cistus laurifolius* leaves. Journal of Ethnopharmacology, 108(3), 457-461.

Varlık, C., Erkan, N., Özden, Ö., Mol, S., & Baygar, T. (2004). Su ürünleri işleme teknolojisi. İstanbul Üniversitesi Yayınları, 4465(7).

Vitali, F., Pennisi, G., Attaguile, G., Savoca, F., & Tita, B. (2011). Antiproliferative and cytotoxic activity of extracts from *Cistus incanus* L. and *Cistus monspeliensis* L. on human prostate cell lines. Natural Product Research, 25(3), 188-202.

Vogt, T., Proksch, P., Gülz, P.G., & Wollenweber, E. (1987). Rare 6- and 8-O-methylated epicuticular flavonols from two *Cistus* species. Phytochemistry, 26(4), 1027-1030.

Woisky, R.G. & Salatino, A. (1998). Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. Journal of Apicultural Research, 37(2), 99-105.

Wollenweber, E. & Mann, K. (1984). Flavonoid aglycones in the leaf resin of some *Cistus* species. Zeitschrift Fur Naturforschung C, 39(3-4), 303-306.

Xiao, S., Zhang, W.G., Lee, E.J., Ma, C.W., & Ahn, D.U. (2011). Effects of diet, packaging, and irradiation on protein oxidation, lipid oxidation, and color of raw broiler thigh meat during refrigerated storage. *Poultry Science*, 90:6, 1348- 1357.

Yavaşer, R. (2011). *Doğal ve sentetik antioksidan bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın, Türkiye.

Yeşilada, E., Ustun, O., Sezik, E., Takaishi, Y., Ono, Y., & Honda, G. (1997). Inhibitory effects of Turkish folk remedies on inflammatory cytokines: interleukin-1 alpha, interleukin-1 beta and tumor necrosis factor alpha. *Journal of Ethnopharmacology*, 58(1), 59-73.

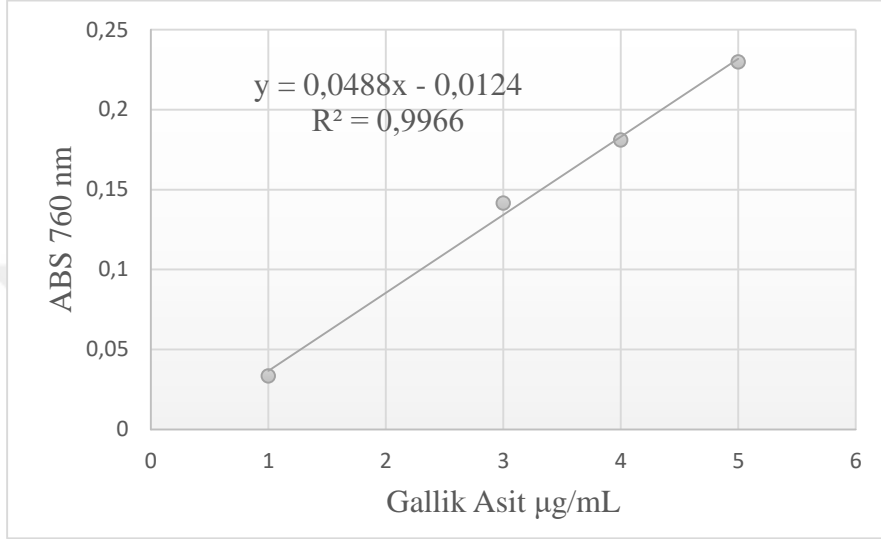
Yeşilada, E., Honda, G., Sezik, E., Tabata, M., Fujita, T., Tanaka, T. & Takaishi, Y. (1995). Traditional medicine in Turkey. V. Folk medicine in the inner Taurus Mountains. *Journal of Ethnopharmacology*, 46(3), 133-152.

Zungur Bastoğlu, A., Serdaroglu, M., & Nacak, B., (2016). Et ve et ürünlerinde protein oksidasyonu. *Journal of Food and Health Science* 2(4), 171-183.

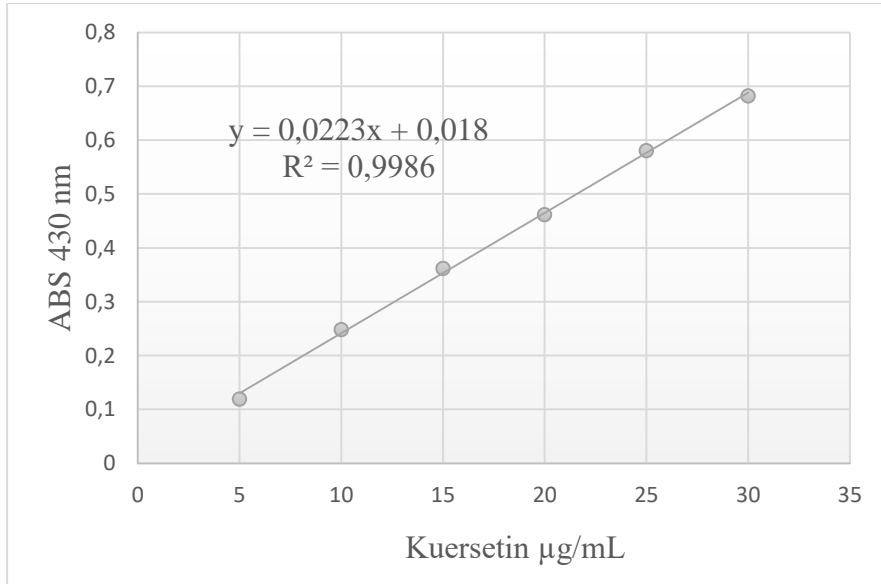
EKLER

EK A

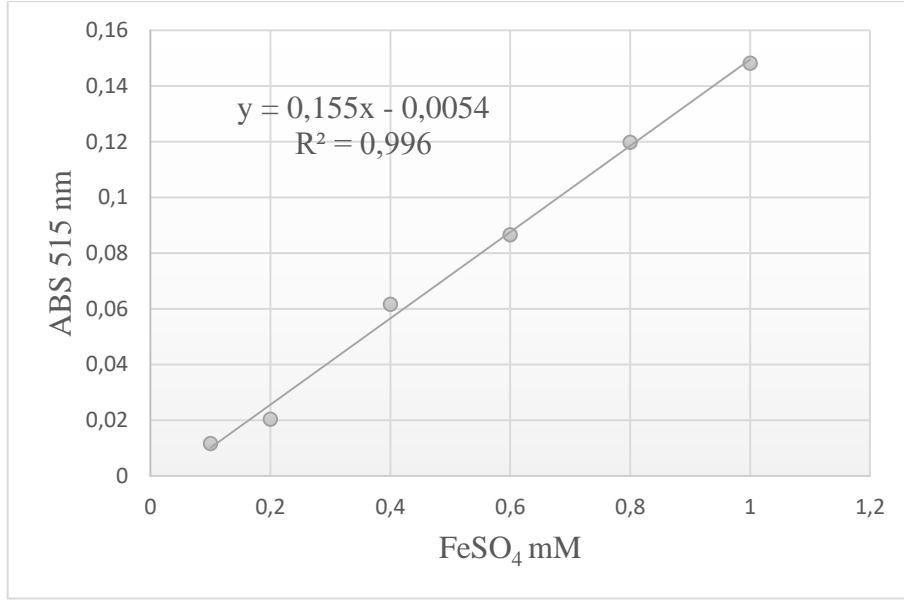
STANDART KALİBRASYON GRAFİKLERİ



Şekil A.1. Toplam fenolik madde analizi: Gallik asit standart eğrisi



Şekil A.2. Toplam flavanoid madde analizi: Kuersetin standart eğrisi



Şekil A.3. Ferrik iyon indirgeme kapasitesi (FRAP) analizi: FeSO₄.7H₂O standart eğrisi

EK B

SOSİS ÖRNEKLERİNİN YAKLAŞIK KİMYASAL KOMPOZİSYON ANALİZ SONUÇLARI

Tablo B.1. Sosis örneklerinin depolama süresince nem oranları (%)

Depolama (Hafta)	Örnek Grupları			
	K	CC1	CC2	CC3
1. hafta	62,94Aa	64,67ACb	64,21b	66,77Ac
3. hafta	62,76Aa	64,10ABCb	64,10b	63,86Bb
5. hafta	62,71Aa	63,54Bb	63,66b	63,33BCb
7. hafta	62,93Aa	64,01BCb	63,81bc	63,26BCac
9. hafta	61,78Ba	64,48Cb	63,85c	63,01Cd
11. hafta	62,57Aa	64,03ABCb	64,02b	63,69BCb
Standart Hata	0,20			

Farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki açıdan birbirinden farklıdır ($p < 0,05$). a-d sütunlar arasındaki farkları, A-C satırlar arasındaki farkları göstermektedir.

Tablo B.2. Sosis örneklerinin depolama süresince protein oranları (%)

Depolama (Hafta)	Örnek Grupları			
	K	CC1	CC2	CC3
1. hafta	10,09Aa	11,08Ab	10,74Ac	10,94Abc
3. hafta	10,26Aa	10,94Ab	10,89ABb	10,96ABb
5. hafta	10,74Ba	11,14ABb	11,23BCb	10,98ABab
7. hafta	11,06BCa	11,48BCb	11,36Cab	11,26ABCab
9. hafta	11,60D	11,74CD	11,53CD	11,60C
11. hafta	11,35CDac	12,04Db	11,79Db	11,30BCc
Standart Hata	0,11			

Farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki açıdan birbirinden farklıdır ($p < 0,05$). a-c sütunlar arasındaki farkları, A-D satırlar arasındaki farkları göstermektedir.

Tablo B.3. Sosis örneklerinin depolama süresince yağ oranları (%)

Depolama (Hafta)	Örnek Grupları			
	K	CC1	CC2	CC3
1. hafta	15,41	13,84	14,35	15,40
3. hafta	15,20	13,48	14,01	13,97
5. hafta	15,22	13,58	14,02	14,20
7. hafta	14,92	13,59	14,04	13,98
9. hafta	15,48	13,39	14,10	14,39
11. hafta	15,36	15,07	13,04	14,17
Ortalama	15.26A	14.32AB	13.93B	14.35AB
Standart Hata	0,30			

Farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki açıdan birbirinden farklıdır ($p < 0,05$). A-B farkları göstermektedir.

Tablo B.4. Sosis örneklerinin depolama süresince tuz oranları (%)

Depolama (Hafta)	Örnek Grupları			
	K	CC1	CC2	CC3
1. hafta	2,18	2,12	1,91	2,01
3. hafta	2,23	2,08	1,84	2,08
5. hafta	2,17	2,09	2,06	2,17
7. hafta	2,07	1,98	2,00	2,07
9. hafta	2,11	1,96	1,94	2,00
11. hafta	1,94	1,79	1,90	2,03

Tablo B.5. Sosis örneklerinin depolama süresince kolajen oranları (%)

Depolama (Hafta)	Örnek Grupları			
	K	CC1	CC2	CC3
1. hafta	1,82a	1,94ab	1,95ab	2,24b
3. hafta	1,70	1,69	1,95	1,945
5. hafta	1,72a	1,67a	2,32b	1,96ab
7. hafta	1,80	2,00	1,86	2,09
9. hafta	2,16	2,02	2,05	2,06
11. hafta	2,06	2,02	2,31	2,25
Standart Hata				0,14

Farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki açıdan birbirinden farklıdır ($p < 0,05$). a-b sütunlar arasındaki farkları göstermektedir.

EK C

STATA ANALİZLERİ SYNTAX'İ

manova Parametre = Uygulama Depolama Tekrar Uygulama#Depolama
Uygulama#Tekrar Tekrar# Depolama

Aynı uygulama (örnek) gruplarının farklı haftalardaki farklılıklarını tukey testi ile analizinin syntax'i

```
. pwcompare i(1/1).UYGULAMA#DEPOLAMA , pveffects mcompare(tukey)
. pwcompare i(2/2).UYGULAMA#DEPOLAMA , pveffects mcompare(tukey)
. pwcompare i(3/3).UYGULAMA#DEPOLAMA , pveffects mcompare(tukey)
. pwcompare i(4/4).UYGULAMA#DEPOLAMA , pveffects mcompare(tukey)
```

Farklı uygulama (örnek) gruplarının aynı haftalardaki farklılıklarının tukey analizi ile syntax'i

```
. pwcompare i(1/4)UYGULAMA#i(1/1).DEPOLAMA , pveffects mcompare(tukey)
. pwcompare i(1/4)UYGULAMA#i(2/2).DEPOLAMA , pveffects mcompare(tukey)
. pwcompare i(1/4)UYGULAMA#i(3/3).DEPOLAMA , pveffects mcompare(tukey)
. pwcompare i(1/4)UYGULAMA#i(4/4).DEPOLAMA , pveffects mcompare(tukey)
. pwcompare i(1/4)UYGULAMA#i(5/5).DEPOLAMA , pveffects mcompare(tukey)
. pwcompare i(1/4)UYGULAMA#i(6/6).DEPOLAMA , pveffects mcompare(tukey)
. pwcompare i(1/4)UYGULAMA#i(7/7).DEPOLAMA , pveffects mcompare(tukey)
. pwcompare i(1/4)UYGULAMA#i(8/8).DEPOLAMA , pveffects mcompare(tukey)
```

Tek yönlü anova sonrası tukey farklılık testi syntax'i

```
. pwmean Parametre, over(Depolama) mcompare(tukey) effects cimeans groups sort
```

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : A*****r P***K

Doğum Yeri : S***s

Doğum Yılı : 1**5

Eğitim ve Akademik Durumu:

Lise (2009–2013) Gültepe Anadolu Lisesi, Sivas (Merkez)

Lisans (2014–2018) Ondokuz Mayıs Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Samsun

Yüksek Lisans (2019-2021) Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Konya

Yabancı Dil: İngilizce