



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



SOSİS ÜRETİMİNDE UÇUCU N-NİTROZAMİNLERİN OLUŞUMUNUN ARAŞTIRILMASI

Sena ÖZBAY

**GIDA HİJYENİ ve TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. U. Tansel ŞİRELİ**

**ANKARA
2020**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SOSİS ÜRETİMİNDE UÇUCU N-NİTROZAMİNLERİN
OLUŞUMUNUN ARAŞTIRILMASI**

Sena ÖZBAY

**GIDA HİJYENİ ve TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. U. Tansel ŞİRELİ

**Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'nün
17L0239017 proje numarası ile desteklenmektedir.**

ANKARA

2020

Etik Beyan

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Sosis Üretiminde Uçucu N-nitrozaminlerin Oluşumunun Araştırılması” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Sena ÖZBAY

Tarih: 10.06.2020

İmza: 

KABUL VE ONAY

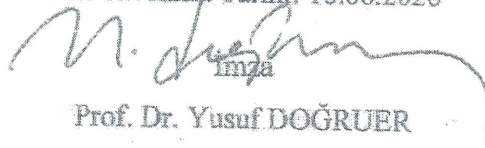
Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalında

Sena ÖZBAY tarafından hazırlanan

"Sosis Üretiminde Uçucu N-nitrozaminlerin Oluşumunun Araştırılması" adlı tez çalışması
aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ / ~~OY ÇOKLUĞU~~ ile
kabul/ret edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 10.06.2020


İmza

Prof. Dr. Yusuf DOĞRUER

Selçuk Üniversitesi

Jüri Başkanı


İmza

Doç. Dr. Ali GÜCÜKOĞLU

On Dokuz Mayıs

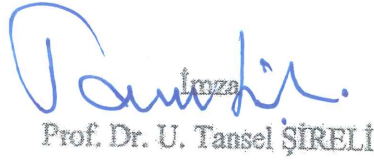
Üniversitesi

Raportör


İmza

Prof. Dr. Ayhan FİLAZİ

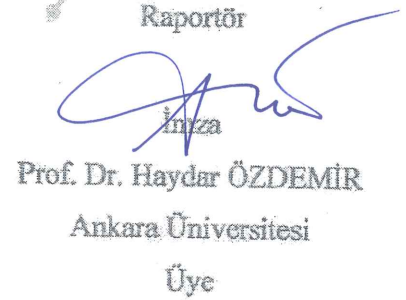
Ankara Üniversitesi


İmza

Prof. Dr. U. Tansel ŞİRELİ

Ankara Üniversitesi

Üye


İmza

Prof. Dr. Haydar ÖZDEMİR

Ankara Üniversitesi

Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

İmza

Unvanı Adı Soyadı

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	vii
Şekiller	viii
Çizelgeler	xi
1.GİRİŞ	1
1.1.Nitrozaminlerin Tarihçesi	3
1.2.Nitrozaminlerin Sınıflandırılması	4
1.3.Nitrozaminlerin Oluşumu	7
1.4. Gıdalarda Nitrozamin Bulunuşu	11
1.5.Et Ürünlerinde Nitrit Kullanım Nedenleri ve Nitrozamin Bulunuşu	13
1.5.1.Nitrozaminlerin Oluşumuna Etki Eden Faktörler	19
1.6.Nitrozaminlerin Toksisitesi	22
2.GEREÇ ve YÖNTEM	29
2.1.Gereç	29
2.1.1.Ekstraksiyon İşlemi İçin Gereçler	46
2.1.2.GC-MS Analizi İçin Gereçler	46
2.2.Yöntem	47
2.2.1.Deneme Planı	47
2.2.2.Numune Hazırlama Metodu	49
2.2.3. Nitrit-Nitrat Analizi Metodu	53
2.2.4.GC-MS Analizi Metodunun Uyarlanması	53
2.2.4.1. GC-MS Analizi SIM Mod Metodu	57
2.2.5.GC-MS Analiz Metodunun Validasyonu	58
2.2.5.1.Doğrusallık	59
2.2.5.2.Tayin Limiti (LOD) ve Ölçüm Limiti (LOQ) Belirlenmesi	63
2.2.5.3.Geri Kazanım Çalışması	64
2.2.5.4.Ölçüm Tekrarlanabilirliği	66
2.2.6.İstatistikî Analiz Metodu	67
3.BULGULAR	68
3.1.Nitrat-Nitrit Analizi Sonuçları	68
3.2.Ticari Sosislerdeki Uçucu N-nitrozamin Analizi Sonuçları	69
3.2.1.Üretim Hattı Uçucu N-nitrozamin Analizi Sonuçları	69
3.2.2.MAP Ambalajlı Numunelerin Uçucu N-nitrozamin Analizi Sonuçları	73
3.2.3. Vakum Ambalajlı Numunelerin Uçucu N-nitrozamin Analizi Sonuçları	81
3.2.4. Sosis Pişirme Yöntemlerinin Uçucu N-nitrozamin Analizi Sonuçları	87
3.2.4.1.Pişirilmemiş Sosis Numunelerinin Uçucu N-nitrozamin Analizi Sonuçları	87
3.2.4.2. Haşlanmış Sosis Numunelerinin Uçucu N-nitrozamin Analizi Sonuçları	88
3.2.4.3.Kızartılmış Sosis Numunelerinin Uçucu N-nitrozamin Analizi Sonuçları	91

3.2.4.4.Mikrodalga ile Pişirilmiş Sosis Numunelerinin Uçucu N-nitrozamin Analizi Sonuçları	92
3.2.4.5.Izgarada Pişirilmiş Sosis Numunelerinin Uçucu N-nitrozamin Analizi Sonuçları	93
4.TARTIŞMA	98
5.SONUÇ ve ÖNERİLER	114
ÖZET	118
SUMMARY	119
KAYNAKLAR	120
EKLER	129
ÖZGEÇMİŞ	134



ÖNSÖZ

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve desteği ile yanımda olan değerli danışman hocam Prof. Dr. Ufuk Tansel ŞİRELİ'ye,

Özellikle tez çalışmam sürecinde tüm sorunlarımda hem akademik hem manevi destek vererek tezimin tamamlanmasında önemli bir yeri olan kıymetli hocam Prof. Dr. Ayhan FİLAZİ'ye

Tezimin istatistikî çalışmalarında bütün sorularımı sabırla yanıtlayan, tezim için büyük emek harcayan, biricik arkadaşım, canım kardeşim Büşra ÖZBAY'a

Tüm eğitim hayatım boyunca hep yanımda olan hem manevi hem maddi desteğini üzerimden hiç eksik etmeyen sevgili annem Serpil GÜLTEK ÖZBAY'a ve canım babam Akif ÖZBAY'a

Tez çalışmamın değerlendirilmesinde, yaptığı gözden geçirmeler ve incelemeler ile bana ışık tutan hocam Prof. Dr. Haydar ÖZDEMİR'e

Deneyisel çalışmalarım sürecinde sürekli kapısını çaldığım, her seferinde yanımda olan dostlarım Sema AKAY ve Emrah DİKİCİ'ye

Eğitim sürecim devam ederken beni hep yüreklendiren sevgili müdürüm, hocam Dr. Öğretim Üyesi Neslihan TEKİN KARACAER'e

Ayrıca çalışmamın finansal kaynağını sağlayan Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne,

Tüm eğitim hayatım boyunca yanımda, arkamda olmuş, bana ışık tutmuş, yolumu açmış, tüm hocalarıma, sıra arkadaşlarıma, kitaplara, defterlere teşekkür ederim.

SİMGELER ve KISALTMALAR

Ø	Çap
%	Yüzde
°C	Santigrat Derece
CO ₂	Karbondioksit
DCIM	Diklorometan
dk	Dakika
EPA	Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı
GC-MS	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
IARC	Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı
kGy	Klogray
Kg	Kilogram
LD	Öldürücü Doz
LOD	Tayin Limiti
LOQ	Ölçüm Limiti
L	Litre
µg	Mikrogram
µm	Mikrometre
MAP	Modifiye Atmosferde Paketleme
Mg	Miligram
ml	Mililitre
N ₂	Azot
NO	Nitrit Oksit
NO ₂	Nitrit
NO ₃	Nitrat
NOMb	Nitrit-Oksit Miyoglobini
NDBA	N-Nitrosodi-N-Butylamine
NDEA	N-Nitrosodiethylamine
NDMA	N-Nitrosodimethylamine
NDPA	N- Nitrosodi-N-Propylamine
NDPHA	N-Nitrosodiphenylamine
NMEA	N-Nitrosomethylethylamine
NMOR	N-Nitrosomorpholine
NPIP	N-Nitrosopiperidine
NPYR	N-Nitrosopyrrolidine
ppm	Mg/Kg
ppb	µg/Kg
rpm	Revolutions Per Minute
Rt	Alıkonma Zamanı
SIM	Seçici İyon İzleme
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
Yy	Yüzyıl

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Nitrozamin molekülünün genel yapısı	4
Şekil 1.2. Nitrozamin türevlerinin genel molekül yapısı	6
Şekil 1.3. Nitrozamin oluşum mekanizması	8
Şekil 1.4. Sekonder aminlerin nitrozamin oluşturma reaksiyon dizisi	9
Şekil 1.5. Et ürünlerinde renk oluşum reaksiyonu	14
Şekil 2.1. Deneysel sosis üretimi akış diyagramı	30
Şekil 2.2. Sosis üretiminde numune toplama noktaları	31
Şekil 2.3. Sosis hamurunun kuterde hazırlanması aşaması	32
Şekil 2. 4. Sosis hamuruna baharatların eklenmesi	33
Şekil 2. 5. Sosis hamuruna gıda boyası eklenmesi	33
Şekil 2. 6. Sosis hamuruna askorbik asit eklenmesi	34
Şekil 2. 7. Kılıflara doldurulmak için hazırlanan sosis hamuru	35
Şekil 2. 8. Sosislerin kılıflara doldurulma aşaması	36
Şekil 2. 9. Isıl işlemler için hazırlanan sosisler	36
Şekil 2. 10. Sosislerin fırına yerleşimi	37
Şekil 2. 11. Birinci ısıl işlem sonrası üretim hattından alınan numuneler	38
Şekil 2. 12. Haşlama işlemi sonrası sosisler	39
Şekil 2. 13. Üçünü ısıl işlem sonrası üretim hattından alınan numuneler	39
Şekil 2. 14. Isıl işlem aşamaları tamamlanmış sosisler	40
Şekil 2. 15. Sosis soyulma aşaması	41
Şekil 2. 16. Vakum ambalaj ile paketlenmiş sosisler	42
Şekil 2.17. MAP ambalaj ile paketlenmiş sosisler	42
Şekil 2.18. N-nitrozamin analizleri için sosis numunelerinin pişirme işlemleri	45

Şekil 2.19. Depolama sürecinde numune toplama noktaları	46
Şekil 2.20. GC-MS cihazı	47
Şekil 2. 21. Tez çalışması deneme planı	49
Şekil 2.22. Numunenin homojenize edilmesi	50
Şekil 2.23. N-nitrozamin analizi için homojenize edilen numunelerin su banyosunda bekletilmesi işlemi	51
Şekil 2.24. Numunelerden ekstraktın süzülmesi	51
Şekil 2.25. Çözücünün uzaklaştırılması	52
Şekil 2.26. Hazırlanan numuneler	52
Şekil 2.27. Standart uçucu N-nitrozamin türevlerinin kromatogramı	54
Şekil 2.28. Kolon DB624 ile yapılan denemeye ait kromatogram	55
Şekil 2.29. SIM mod 50 ppb kromatogramı	58
Şekil 2.30. NDMA kalibrasyon eğrisi	59
Şekil 2.31. NMEA kalibrasyon eğrisi	60
Şekil 2.32. NDEA kalibrasyon eğrisi	60
Şekil 2. 33. NDPA kalibrasyon eğrisi	61
Şekil 2. 34. NPYR kalibrasyon eğrisi	61
Şekil 2. 35. NPIP kalibrasyon eğrisi	62
Şekil 2.36. NDBA kalibrasyon eğrisi	62
Şekil 2.37. Kör numuneye ait kromatogram	64
Şekil 2.38. Standart madde ile zenginleştirilmiş numuneye ait kromatogram	65
Şekil 3.1. Ön ısıtım işlem aşamasını takiben üretim hattından alınan numunelere ait kromatogram	70
Şekil 3.2. Beşinci ısıtım işlem uygulaması sonrası sosis numuneleri uçucu N-nitrozamin seviyeleri (ppb)	72

Şekil 3.3. MAP ambalaj içerisindeki 1. formülasyonla üretilen sosislerin depolama sürecinin ilk haftasına ait kromatogram	78
Şekil 3.4. MAP ambalaj içerisindeki 1. formülasyonla üretilen sosislerin depolama sürecinin son gününe ait kromatogram	79
Şekil 3.5. Birinci formülasyonla üretilen MAP ambalajlı sosislerin uçucu N-nitrozamin seviyeleri (ppb)	80
Şekil 3.6. İkinci formülasyonla üretilen MAP ambalajlı sosislerin uçucu N-nitrozamin seviyeleri (ppb)	80
Şekil 3.7. Birinci formülasyonla üretilen vakum ambalajlı sosislerin uçucu N-nitrozamin seviyeleri (ppb)	86
Şekil 3.8. İkinci formülasyonla üretilen vakum ambalajlı sosislerin uçucu N-nitrozamin seviyeleri (ppb)	86
Şekil 3.9. Birinci formülasyonla üretilen sosislerin haşlanması sonucu elde edilen numuneye ait kromatogram	90
Şekil 3.10. İkinci formülasyonla üretilen sosislerin haşlanması sonucu elde edilen numuneye ait kromatogram	91
Şekil 3.11. Birinci formülasyonla üretilen sosislerin pişirme işlemlerinde uçucu N-nitrozamin oluşumları ve düzeyleri (ppb)	95
Şekil 3.12. İkinci formülasyonla üretilen sosislerin pişirme işlemlerinde uçucu N-nitrozamin oluşumları ve düzeyleri (ppb)	95
Şekil 3.13. Birinci formülasyonla üretilen sosislerin maksimum oluşum düzeyleri	96
Şekil 3.14. İkinci formülasyonla üretilen sosislerin maksimum oluşum düzeyleri	97

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Uçucu bazı N-nitrozamin türevlerinin özellikleri	7
Çizelge 1.2. Farklı matrikslerde nitrozaminlerin bulunabilirliği	10
Çizelge 1.3. Nitrozaminlerin farklı matrikslerdeki yarılanma ömrü	10
Çizelge 1.4. Et ve et ürünleri içerisindeki ortalama nitrozamin düzeyleri	16
Çizelge 1.5. Et ürünlerindeki nitrozamin oluşumunu etkileyen faktörler	21
Çizelge 1.6. Bazı N-nitrozaminlerin muhtemel kanserojenik dozları	25
Çizelge 1.7. Nitrozaminlere duyarlı gruplar	26
Çizelge 2.1. Sosis hamuru bileşenleri	29
Çizelge 2.2. N-nitrozamin analizleri için alınan numunelerin pişirme koşulları	44
Çizelge 2.3. GC-MS metot parametreleri	56
Çizelge 2.4. Standart numune Rt ve parçalanma ürünleri	57
Çizelge 2.5. Uçucu N-nitrozamin türevleri için geri kazanım çalışması verileri	66
Çizelge 2.6. Yöntem validasyonuna ait veriler	67
Çizelge 3.1. Başlangıç nitrit-nitrat düzeyleri	68
Çizelge 3.2. Üretim Sürecinde askorbik asidin etkisi	71
Çizelge 3.3. Beşinci ısıtıl işlem sonrası sosis numunelerinin uçucu N-nitrozamin türevleri seviyeleri	72
Çizelge 3.4. MAP ambalaj içerisinde depolama sürecinin 7. Gününe ait uçucu N-nitrozamin miktarları	74
Çizelge 3.5. MAP ambalaj içerisinde depolama sürecinin 15. Gününe ait uçucu N-nitrozamin miktarları	75
Çizelge 3.6. MAP ambalaj içerisinde depolama sürecinin 30. Gününe ait uçucu N-nitrozamin miktarları	76
Çizelge 3.7. MAP ambalaj içerisinde depolama sürecinin 60. Gününe ait uçucu N-nitrozamin miktarları	77

Çizelge 3.8. MAP ambalaj içerisinde depolama sürecinin 90. Gününe ait uçucu N-nitrozamin miktarları	78
Çizelge 3.9. MAP ambalaj içerisinde muhafaza süreci boyunca askorbik asidin etkisi	81
Çizelge 3.10. Vakum ambalaj içerisinde depolama sürecinin 7. Gününe ait uçucu N-nitrozamin miktarları	82
Çizelge 3.11. Vakum ambalaj içerisinde depolama sürecinin 15. Gününe ait uçucu N-nitrozamin miktarları	83
Çizelge 3.12. Vakum ambalaj içerisinde depolama sürecinin 30. Gününe ait uçucu N-nitrozamin miktarları	83
Çizelge 3.13. Vakum ambalaj içerisinde depolama sürecinin 60. Gününe ait uçucu N-nitrozamin miktarları	84
Çizelge 3.14. Vakum ambalaj içerisinde depolama sürecinin 90. Gününe ait uçucu N-nitrozamin miktarları	85
Çizelge 3.15. Vakum ambalaj içerisinde muhafaza süreci boyunca askorbik asidin etkisi	87
Çizelge 3.16. Pişirilmemiş sosis numunelerinin uçucu N-nitrozamin miktarları	88
Çizelge 3.17. Haşlanmış sosis numunelerinin uçucu N-nitrozamin miktarları	90
Çizelge 3.18. Kızartılmış sosis numunelerinin uçucu N-nitrozamin miktarları	92
Çizelge 3.19. Mikrodalgada pişirilmiş sosis numunelerinin uçucu N-nitrozamin miktarları	93
Çizelge 3.20. Izgarada pişirilmiş sosis numunelerinin uçucu N-nitrozamin miktarları	94
Çizelge 3.21. Pişirme işlemlerinde uçucu N-nitrozamin oluşumuna askorbik asidin etkisi	94
Çizelge 3.22. Analiz aşamaları ile uçucu N-nitrozamin oluşumu arasındaki ilişki	97

1. GİRİŞ

Et ve et ürünleri, sağlıklı ve dengeli bir beslenme için günlük diyetin vazgeçilmez bir ögesi olarak kabul edilmektedir. Bilindiği üzere et, esansiyel aminoasitler, protein ve vitaminler açısından her bireyin günlük beslenmesinde önemli bir rol oynamaktadır.

Et ürünleri içerisinde kürlenmiş, ısıt işlem görmüş ya da emülsifiye et ürünleri, tüketicilerin tercihleri ile gıda sektörünün önemli ürünleri olarak görülmektedir. Özellikle sosis ve salam gibi emülsifiye et ürünleri, lezzetli, sağlıklı ve pratik ürünler olarak sıklıkla tercih edilmektedir. Fakat bu et ürünlerinin olumlu yönleri kadar uygulama ve işleme metotlarına bağlı olarak insan sağlığı açısından olumsuz yönleri de bulunabilmektedir. Bu açıdan Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 2015 yılında işlenmiş et ürünlerinin tüketimine dikkat edilmesine dair açıklaması, dikkatleri et ürünlerine ve dolayısıyla bunlar içerisinde de özellikle et ürünlerinde oluşabilen muhtemel kanserojen nitrozamin türevlerine çekmiştir (Anon, 2015).

Et ürünlerinde nitrozaminler, nitrat içeren yapılarla, amin gruplarının birleşmesi ile oluşabilmektedir. Bu süreci etkileyen üretim ve pişirme biçimleri doğru gerçekleştirildiğinde nitrozamin seviyelerini düşürürken bazı durumlarda risk yaratacak düzeylerde nitrozamin oluşturduğu da bilinmektedir.

Nitrozaminler ile ilgili literatür taraması gerçekleştirildiğinde hem üretim ve pişirme hem de depolama sürecini, nitrozamin oluşumu açısından bir bütün olarak

ele alan yeterli sayıda bilimsel çalışmaların bulunmadığı tespit edilmiştir. Çalışmaların büyük bir kısmının marketten satın alınan işlenmiş et ürünlerinde gerçekleştirilen sörvey çalışmalar (piyasa taraması) şeklinde yer aldığı görülmektedir. Bu çalışmalarda genellikle, üretim, pişirme ya da depolama parametrelerinden biri değerlendirilmiş ve süreç bütüncül olarak ele alınmamıştır. (Byun ve ark., 2004; Domanska-Blicharz ve ark., 2004; Herrmann ve ark., 2015; Pirinçci ve ark., 1986; Yuan ve ark., 2015 ve Yurchenko ve Mölder, 2007).

Bu bilgiler ışığında, doktora tezinin temel amacı, dünyada yaygın olarak tüketilen sosisin, nitrozamin oluşumu açısından bütüncül bir yaklaşımla değerlendirilmesidir. Bu açıdan sosisin, üretim, tüketim öncesi pişirme aşaması, farklı ambalajlama ve depolama süreçlerinde oluşumu takip edilmiştir. Tüm bu işlemlere, askorbik asit varlığının etkisi de araştırma sürecinde incelenmiştir.

Bu tez çalışmasında hava, su, toprak, gıda gibi matrikslerde üç yüze yakın çeşiti bulunan nitrozaminler içerisinde özellikle Uluslararası Kansere Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından muhtemel kanserojen oldukları kabul edilen, aynı zamanda Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (EPA) tarafından kanserojen etkilerine vurgu yapılan yedi farklı nitrozaminle bir arada çalışılmıştır. Bu nitrozamin türevleri, N-nitrosodimethylamine (NDMA), N-nitrosodiethylamine (NDEA), N-nitrosodi-n-butylamine (NDBA), N-nitrosopiperidine (NPIP) N-nitrosopyrrolidine (NPYR) N-nitrosodi-n-propylamine (NDPA) ve N-nitrosomethylethylamine (NMEA) olarak belirlenmiş ve GC-MS (Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi) cihazı ile sosis üretim akışı içerisinde, paketlenme ve muhafaza aşamalarında alınan sosis numunelerinde düzeyleri saptanmıştır.

Bu tezde, temel amaç üretim, tüketim ve muhafaza sürecinin etkileşimli olarak nitrozamin oluşumuna katkısını yorumlayabilmek ve aynı zamanda hem üretici hem de tüketiciye daha sağlıklı bir süreç için tavsiyeler verebilmektir.

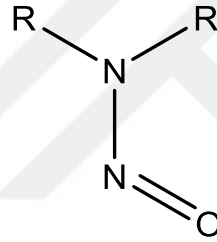
1.1.Nitrozaminlerin Tarihçesi

N-nitrozaminlerin keşfi ve sağlığa etkileri çalışmaları 20. yy ortalarına dayanmaktadır. Nitrozaminlerin oluşum mekanizmalarının tam aydınlatılmadığı dönemlerde, Magee ve Barnes (1956) farelerde yaptıkları çalışma ile doğrudan dimetilnitrozamin ile beslenen farelerin karaciğerlerine bu kimyasal maddenin toksik etkisini tespit etmişlerdir. Bu durum nitrozaminlerin sağlığa etkisi üzerine dikkat çekmiş ve sonrasında Druckrey ve ark., (1962) düşük molekül ağırlıklı nitrozaminlerin, aminler vasıtasıyla oluştuğunu göstermişlerdir.

Nitritin, et ürünlerinde kanserojen nitrozamin oluşumuna sebep olması ise 1970’li yılların başında anlaşılmıştır. Bu aşamadan sonra çalışmalar nitrit kullanımının et üretim sürecinden elimine edilmesi üzerine geliştirilmiştir (Sebranek ve Bacus, 2007). Bu gelişmelerle 1970’lerde, nitrat ve nitritin N-nitrozaminlere dönüşümüyle kanser riskini arttırması gerçeği, konu üzerine endişeleri de beraberinde getirmiş (Bryan, 2006) ve çalışmalar hız kazanmıştır. Yapılan deneysel çalışmalar sonucunda IARC, uçucu nitrozaminler başta olmak üzere nitrozaminleri insanlar için de muhtemel kanserojen olarak tanımlamıştır (IARC, 1987). Bu açıklama ile N-nitrozaminlerin oluşumu, toksisitesi ve miktarının düşürülmesi ile ilgili çalışmalar hız kazanmıştır.

1.2.Nitrozaminlerin Sınıflandırılması

N-nitroso bileşenleri, nitrozaminler ve nitrosoamid tip bileşenler olarak temelde iki ana gruba ayrılmaktadır. Bu iki grup bileşen, kimyasal oluşumları ve biyolojik etkinlikleri açısından farklılıklar göstermektedir (Reinik, 2007). Bu alt gruplardan olan nitrozaminler, $R_1R_2N-N=O$ fonksiyonel grubuna sahip amin türevleri olarak tanımlanırlar (Yuan ve ark., 2015). Şekil 1.1.'de Nitrozamin molekül yapısının genel hali gösterilmektedir.



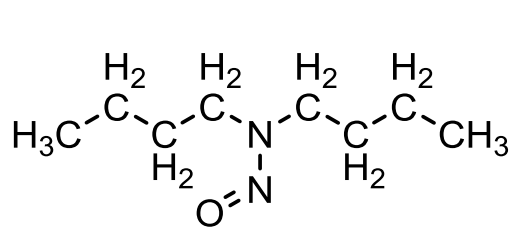
Şekil 1.1. Nitrozamin molekülünün genel yapısı

Çeşitli matrislerde yaklaşık 300 nitrozamin türevi olduğu bildirilmektedir (Tricker ve Presussmann, 1991). Günümüzde bu nitrozamin türevleri kimyasal yapılarına göre uçucu ve uçucu olmayanlar olarak sınıflandırılırken, karsijenik etkileri açısından da IARC'ın sınıflandırması içerisinde farklı gruplarda yer almaktadırlar.

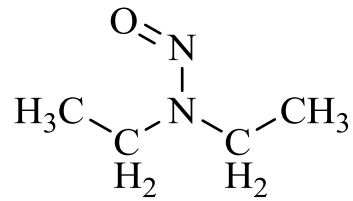
Kanserojen etkisine göre nitrozaminler sınıflandırıldığında, N-nitrosodimethylamine (NDMA), N-nitrosodiethylamine (NDEA), N-nitrosodi-n-butylamine (NDBA), N-nitrosopiperidine (NPIP) ve N-nitrosopyrrolidine (NPYR) özellikle kanserojen ve muhtemel kanserojen uçucu nitrozamin çeşitleri olarak

karşımıza çıkmaktadır (Yuan ve ark., 2015). EPA, bu beş nitrozamine ek olarak N-nitrosodi-n-propylamine (NDPA) ve N-nitrosomethylethylamine (NMEA) tiplerini de incelemiş özellikle NDMA ve NDEA tiplerinin kanserojen etkisine vurgu yapmıştır (Anon, 2011). Aynı şekilde bu iki nitrozamin türevi Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından yüksek seviyede potansiyel mutajenik ve kanserojen olarak sınıflandırılmıştır (Anon, 2019a). Belirtilen bu uçucu nitrozaminler, literatürde araştırmalara en çok konu olan türler olarak da dikkat çekmektedir (Sannino ve Bolzani, 2013).

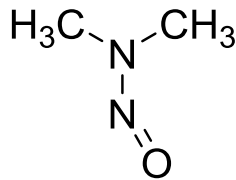
Diğer sınıflandırma sistemine göre nitrozaminler kimyasal özelliklerine göre sınıflandırılmaktadır. Buna göre, düşük molekül ağırlıklı, ekstraksiyonu kolay gerçekleştirilen nitrozamin türevleri, uçucu nitrozaminler olarak isimlendirilmektedir (Downes ve ark., 1976). Şekil 1.2.'de uçucu nitrozamin türevlerinden araştırma kapsamında incelenen yedi nitrozaminin açık formülleri verilmiştir.



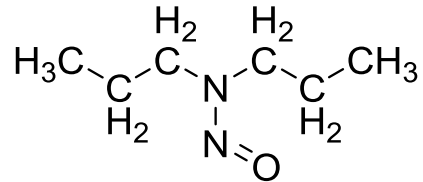
N-Nitrosodi-*n*-butylamine



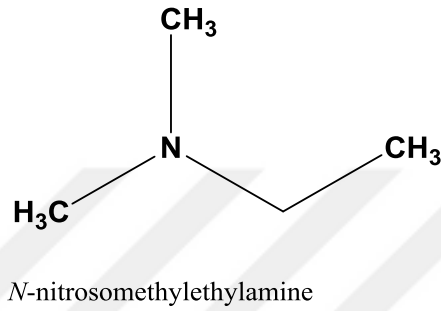
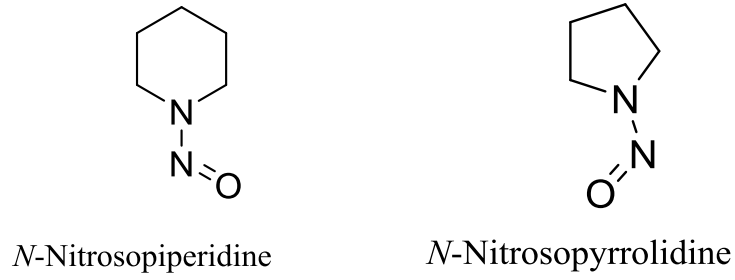
N-Nitrosodiethylamine



N-nitrosodimethylamine



N-Nitrosodi-*n*-propylamine



Şekil 1.2. Nitrozamin türevlerinin genel molekül yapısı

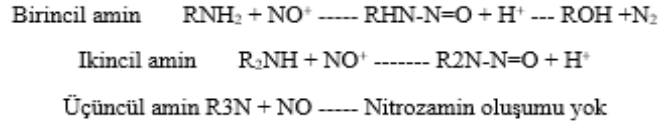
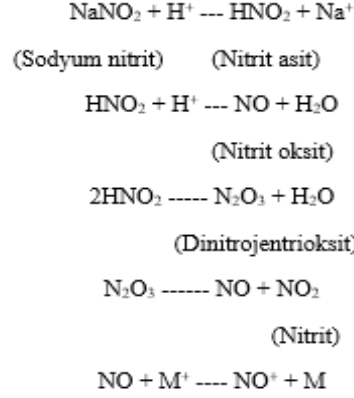
Bu uçucu N-nitrozamin türevlerinin benzer fiziksel özellikleri bulunmaktadır. NDMA, oda sıcaklığında sıvı ve sarı renktedir. Suda, alkol, eter, kloroform ve diğer organik çözücülerde yüksek çözünürlük göstermektedir (EPA, 2016). NDEA da uçuk sarı renkli, oda sıcaklığında sıvı bir bileşendir. Suda, alkolde, organik çözücülerde ve yağlarda çözünmektedir. Karanlık, alkali ya da nötr ortamlarda stabilitesini daha uzun süre koruyabilir. Asit ya da ultraviyole ışık altında stabilitesi zayıftır. NDPA ve NPYR ise fiziksel özellikleri ve stabilizasyonu açısından NDEA ile benzer özellikler gösterir. NPIP ise hidroklorik asit içinde de çözünebilmektedir NDBA ise çözünürlüğü daha düşük bir nitrozamin türevidir. O da organik çözücüler, su ve yağlarda çözünebilir. (Anon, 2016). Çizelge 1.1.'de Nitrozamin türevlerinin diğer özellikleri gösterilmektedir.

Çizelge 1.1. Uçucu bazı N-nitrozamin türevlerinin özellikleri (Anon, 2016 ve Kadmi ve ark., 2015)

Adı	Kısaltması	Molekül formülü	Molekül ağırlığı	EPA kanser grubu	IARC değerlendirmesi
N-nitrosodi-n-butylamine	NDBA	C ₈ H ₁₈ N ₂ O	158,2	B2	Deney hayvanlarının pek çok farklı dokusunda tümör oluşurması nedeniyle insanlar için muhtemel kanserojen
N-nitrosodiethylamine	NDEA	C ₄ H ₁₀ N ₂ O	102,1	B2	Deney hayvanlarının pek çok farklı dokusunda tümör oluşurması nedeniyle insanlar için muhtemel kanserojen
N-nitrosodimethylamine	NDMA	C ₂ H ₆ N ₂ O	74,1	B2	Deney hayvanlarının pek çok farklı dokusunda tümör oluşurması nedeniyle insanlar için muhtemel kanserojen
N-nitrosodi-n-propylamine	NDPA	C ₆ H ₁₄ N ₂ O	130,2	B2	Deney hayvanlarının pek çok farklı dokusunda tümör oluşurması nedeniyle insanlar için muhtemel kanserojen
N-nitrosopiperidine	NPIP	C ₅ H ₁₀ N ₂ O	114,2	B2	Deney hayvanlarının pek çok farklı dokusunda tümör oluşurması nedeniyle insanlar için muhtemel kanserojen
N-nitrosopyrrolidine	NPYR	C ₄ H ₈ N ₂ O	100,1	-	Deney hayvanlarının pek çok farklı dokusunda tümör oluşurması nedeniyle insanlar için muhtemel kanserojen
N-nitrosomethylethylamine	NMEA	C ₃ H ₈ N ₂ O	88,1	B2	-

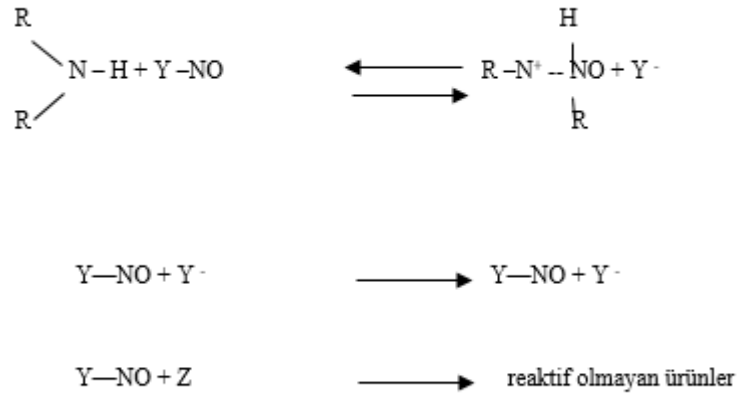
1.3.Nitrozaminlerin Oluşumu

Temel olarak nitrozamin oluşumu, nitrit ile amino grubu içeren yapıların reaksiyonu sonucunda (Filho ve ark., 2003) sekonder veya tersiyer aminlerin bir nitrolama (bir moleküle nitro kökü katmak için yapılan işlem) maddesi ile (azot oksitleri veya nitrat tuzları gibi) reaksiyonu sonucu gerçekleşmektedir. Şekil 1. 3.'de bu yapıların oluşum mekanizması gösterilmektedir.



Şekil 1.3. Nitrozamin oluşum mekanizması (Honikel, 2008)

Reaksiyon şeması Şekil 1.3’de de görüldüğü gibi birincil aminler hızla alkol (ROH) ve azota (N₂) dönüşürken, sadece ikincil aminler stabil nitrozamin oluşumunu gerçekleştirmektedir (Honikel, 2008). Sekonder aminler ya da amidler, nitrolama maddesi ile reaksiyona girerek, **R₁R₂N-N=O** fonksiyonel grubuna sahip nitrozaminleri oluşturmaktadır. Sekonder aminlerin gerçekleştirdiği nitrozamin oluşumu reaksiyonu Şekil 1.4.’de gösterilmiştir.



Şekil 1.4. Sekonder aminlerin nitrozamin oluşturma reaksiyon dizisi (Douglass ve ark., 1978).

Reaksiyon şemasında Şekil 1.3.'de görülen Y-NO bir nitrolama maddesidir. Bu maddenin Y maddesi ile etkinliği değişmekte, buna bağlı olarak da nitrozamin oluşumunun artabileceği veya azalabileceği ileri sürülmektedir (Douglass ve ark., 1978). Nitrolama maddesinin varlığı dışında bu reaksiyona etki eden ısı işlem süresi, sıcaklığı ve yöntemi, mikrobiyal flora, ortam sıcaklığı, ortamdaki kalıntı ya da eklenen nitrit miktarı, nitrozamin prekürsörlerinin konsantrasyonu, tuz konsantrasyonu ve pH gibi birçok faktörün daha bulunduğu bildirilmiştir. Nitrozamin oluşumu ayrıca, ortamdaki aminlerin yapısına, reaktiflerin ve bazı inorganik iyonların konsantrasyonuna, nitrit/amin oranına ve depolama şartlarına bağlı olarak da değişebilmektedir (Gençcelep, 2010; Herrmann ve ark., 2015; Honikel, 2008; Özçelik, 1982 ve Yurchenko ve Mölder, 2007).

Nitrozaminler, bu reaksiyon dizisi ile bu reaksiyonları etkileyen faktörlerin etkileşimi sonucunda farklı matrislerde oluşabilmektedir. Örneğin aynı reaksiyon dizisiyle gıda matrislerinde olduğu gibi uygun şartlarda insan vücudunda (midede) ya da farklı biyolojik ve çevresel matrislerde de meydana gelebilmektedirler. Suda bulunan nitrat - nitrit, su içerisinde de N-nitrozamin oluşumuna sebep olmaktadır. Ancak bu oluşuma ait kimyasal reaksiyonlar çok kompleks ve birçok faktöre bağlı

olarak değişmektedir. Bu faktörler arasında reaktantların, inhibitörlerin, prekürsörlerin varlığı ve birçok reaksiyonun eş zamanlı olarak gerçekleşmesi sayılabilmektedir (Kadmi ve ark., 2015). Bu kimyasal yapıların sulara bulunması, doğal olarak farklı ortamlara (toprak, hava, hayvansal, bitkisel dokular vb.) geçişlerini de kolaylaştırmaktadır. Bu yapılar farklı teknolojilerle ürünlere işlenirken de toksik bileşenler oluşarak insan sağlığını tehlikeye düşürebilmektedir. Yapılan çalışmalarda nitrozaminlerin, bitki, çamur, toprak gibi çevresel matrikslerde de oluştuğu bildirilmektedir (De Mey ve ark., 2017; Gushgari ve ark., 2017; Qiu ve ark., 2017; Rattray ve Cochran, 2014 ve Venkatesan ve ark., 2014). Çizelge 1.2.'de nitrozaminlerin oluştuğu farklı matriksler Çizelge 1.3.'de de bulunduğu matrikslerde nitrozaminlerin yarılanma ömrü gösterilmiştir.

Çizelge 1.2. Farklı matrikslerde nitrozaminlerin bulunabilirliği. (İkeda ve Migliorose, 1990).

Matriks (Ortam)	Maddeler (Ürünler)
Gıda Ürünü	Salam, sos, sosis, kürlenmiş et ürünleri, tavuk, balık ve balık ürünleri, peynir, bira, bitkisel yağlar, margarin
İlaç	Antihistaminikler, tetrasiklin, oksitetrasiklin, aminopirin ve disülfiram ihtiva eden formülasyonlar
Biyolojik numuneler	Hayvansal doku ve organlar, idrar, salya, kan ve serum
Çevresel numuneler	Su, atık su, hava, toprak, sigara dumanı
Endüstriyel kimyasallar	Pestisitler, herbisitler, alkanolamidler
Diğerleri	Lastik emzikler, kozmetikler, deterjanlar

Çizelge 1.3. Nitrozaminlerin farklı matrikslerdeki yarılanma ömrü (EPA, 2016)

Matriks	NDBA	NDEA	NDMA	NDPA	NMEA	NPYR
Suda	15 gün	38 gün	38 gün	38 gün	38 gün	38 gün
Toprakta	30 gün	75 gün	75 gün	75 gün	75 gün	75 gün
Havada	0,58 gün	0,92 gün	6,2 gün	0,67 gün	1,6 gün	1 gün
Sedimentte	140 gün	340 gün	340 gün	340 gün	340 gün	340 gün

1.4.Gıdalarda Nitrozamin Bulunuşu

Nitrat ve nitrit varlığı ile oluşan nitrozaminlere maruz kalmamızın en temel kaynaklarının başında gıdaların geldiği bilinmektedir (Gushgari ve Halden, 2018). Nitrat ve nitrit ise birçok gıda içerisinde doğal olarak bulunabilmektedir. Özellikle yeşil yapraklı bitkiler ve kök bitkiler topraktan aldıkları nitrata bünyelerinde barındırabilmektedirler (Horsch, 2013). Pancar, kereviz, marul, ıspanak ve turp gibi sebzelerin 1000 mg/kg üzerinde nitrat içerebildiği bilinmektedir. (Özdestan ve Üren, 2010). Meyvelerde ise, nitrat (10 mg/kg) ve nitrit (1 mg/kg) genelde düşük seviyelerde bulunmaktadır (Hill, 1996).

Her ne kadar nitrat-nitrit tüketimi, işlenmiş et ürünleri ile ilişkilendirilse de bu maddelerin tüketimi genel olarak sebzelerle ilişkilidir. Yapılan çalışmalar, işlenmiş et ürünlerinin sebzelerden daha düşük düzeylerde nitrat-nitrit içerdiğini göstermektedir. Organizmaya alım açısından değerlendirdiğimizde ise çalışmalar, günlük alınan nitrat miktarının büyük bir yüzdesinin sebze kaynaklı olduğunu bildirmekte (Walker, 1996), işlenmiş et ürünlerinden alınan nitrat-nitrit miktarının, sebzelerdekinden çok daha az olduğu ifade edilmektedir (Andrade ve ark., 2005; Archer, 2002 ve Honikel, 2008).

Genel olarak, nitrozaminler ise, katkı maddesi olarak kullanılan nitrit ilavesi ile işlenmiş ürünlerde ya da nitrata yüksek düzeyde bulunduğu sebzelerde oluşabilmektedir. Fakat özellikle sebzelerin bileşiminde doğal olarak bulunan (askorbik asit, Vitamin E vb.) antioksidanların nitrozamin oluşumuna karşı koruyucu etkide bulundukları bilinmektedir. (Challis, 1985). Nitrit ilaveli işlenmiş gıdalarda ise, koruyucu olarak eklenen potasyum nitrit (E 249) ve sodyum nitrit (E 250), ortamdaki prekürsörlerin varlığı, mikrobiyal flora ve kimyasal reaksiyonlardan etkilenecek nitrozamin oluşumuna sebep olmaktadır (Domanska – Blicharz ve ark., 2004). Mikroorganizmalar, nitrozamin oluşumunda nitrata nitrite indirgeyerek ve

proteinleri de amin ve amino asitlere parçalayarak kilit bir rol üstlenebilmektedir (Tricker ve Preussmann, 1991).

Diğer yandan nitrozaminlerin çoğunlukla kürlenmiş etlerde, peynir ve balıklarda yüksek düzeylerde olduğu bildirilmiştir (Österdahl, 1988). Yürchenko ve Mölder (2006) çalışmalarında kızarmış, salamura edilmiş ve tuzlanmış balıklarda toplam nitrozamin seviyelerini sırasıyla 8,29 µg/kg, 5,37 µg/kg ve 3,16 µg/kg olarak bulmuşlardır. Nitrozaminlerin düşük düzeylerde (0,08 – 0,93 µg/kg) dahi olsa peynir altı suyu tozunda (Oliveira ve ark., 1995) ve bitkisel yağlarda da (Yurchenko ve Mölder, 2006) bulunabildiği bilinmektedir.

Yapılan çalışmalardan elde edilen bilgiler, peynirlerde nitrozamin düzeylerinin ise genelde 10 µg/kg ' ı geçmediğini genel olarak 1-5 µg/kg arasında değişmekte olduğunu bildirmektedir (Gray ve ark., 1979). Gouda ve edam peynirlerinin nitrozamin düzeylerinin incelendiği bir başka çalışmada ise sonuçlar 0.15-0.5 µg/kg arasında değişkenlik göstermiştir (Stephany ve ark., 1978).

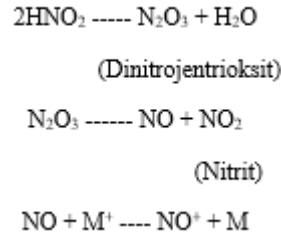
Alkollü içeceklerde NDMA oluşumu ile ilgili yapılan bir çalışmada ise votka, şarap, likör, cin, viski ve bira çeşitleri analiz edilmiş. Bira ve viski dışındaki alkollü içeceklerde NDMA'ya rastlanmazken, birada 0,4 – 7 µg/L düzeyinde viskide ise 0,3 – 2 µg/L seviyesinde tespit edilmiştir (Goff ve Fine, 1979). Çin'de yapılan bir başka çalışmada ise 176 bira örneği içerisinde 146 tanesinde 0,1 – 6 µg/L seviyesinde NDMA tespit edilmiştir (Song ve Hu, 1988). Aynı çalışmada araştırmacılar, konserve sebzelerde de yüksek seviyede NPYR (0,1 – 25,5 µg/kg) ve NDMA (0,1 – 15 µg/kg) olduğunu bildirmişlerdir.

1.5.Et Ürünlerinde Nitrit Kullanım Nedenleri ve Nitrozaminlerin Bulunuşu

Et ve et ürünleri yüz yıllardır kültürel farklılıklara bağlı olarak, farklı geleneksel işlemlerle üretilmekte ve zengin protein kaynağı olarak önem taşımaktadır. Heinz ve Hautzinger (2007), et ve ürünlerinin geliştirilmesinde tüketici tercihlerinin önemli olduğunu ve özellikle tüketici beklentilerinin sadece tek bir özellik üzerinden olmadığını, lezzet, aroma ile beraber muhafaza sürelerinin de önemli olduğunu bildirmişlerdir. Bu faktörler bir arada değerlendirildiğinde, tüketiciye, kaliteli, güvenilir, uzun ömürlü ve severek tüketebilecekleri lezzet ve aromada ürünler sunmak önem taşımıştır. İşlenmiş et ürünleri bu açıdan önemli bir gıda grubunu oluşturmuştur.

İşlenmiş et ürünlerinde bir katkı maddesi olarak kullanılan nitritin bu ürünlerde tercih edilmesinin birçok avantajı bulunmaktadır. Bunlar içerisinde nitrit kullanımının teknolojik en önemli faydası işlenmiş et ürünlerinde arzu edilen rengi oluşturmasıdır.

Et ürünlerinde rengin sağlanması, bir dizi reaksiyon sonucunda gerçekleşmektedir. Reaksiyon dizisi ilk olarak, organik azotun biyokimyasal oksidasyonu sonucu nitratın oluşması ile başlamaktadır (Mikuška ve Vecera, 2003). Nitrat, Şekil 1.5.'de de görüldüğü gibi nitrat redüktaz enziminin aktivitesi ile nitrit iyonlarına dönüşmektedir. Bu indirgenme sonrasında oluşan nitrit oksit (NO) ile miyogloblin reaksiyona girerek, tipik et rengini oluşturan nitrozomiyogloblin ile kırmızı renk meydana gelmektedir.



Şekil 1. 5. Et ürünlerinde renk oluşum reaksiyonu (Honikel, 2008)

Reaksiyon şemasında da görüldüğü gibi et ürününün renginin oluşumunda nitrit oksit (NO) miyoglobine bağlanarak, nitrik-oksit miyoglobin (NOMb) yapısını meydana getirir. Oluşan bu yapı dumanlama ve ısı uygulaması ile istenen renk yapısına ve stabiliteye sahip hale gelir. Daha sonra et ürünlerinin stabil kırmızı rengini sağlayan NO-hemokromojene dönüşür. (Anar, 2015). Özet olarak, nitrit oksit, pişmiş kürlenmiş et ürünlerinde hemoglobinin ‘‘hem’’ yapısına, pişmemiş kürlenmiş et ürünlerinde de miyoglobine bağlanarak beklenen kırmızı rengin oluşumunu sağlamaktadır (Horsch, 2013).

Renk oluşum etkisine ek olarak nitritin sahip olduğu ikinci en önemli avantaj, antimikrobiyal etkiye de sahip olmasıdır. *C. botulinum* et ve özellikle sosis için önemli bir halk sağlığı riski olarak karşımıza çıkmaktadır. Nitrit ise özellikle *C. botulinum*’a karşı inhibitör etki sağladığı için et ürünlerinde önemli bir ajan olarak kullanılmaktadır (Archer, 2002). Bu amaçla et ürünlerine katılan nitrit;

- Nitrit ve reaksiyon ürünleri hücre içi enzimlere okside ve redükte edici etkide bulunarak,
- *C. botilinum* için gerekli olan Fe ve diğer metalleri bağlayarak,
- Hücre membranı ile reaksiyonları sonucu madde transportunu ve metabolik değişimleri kısıtlayarak *C. botilinum* gelişimini inhibe etmektedir.

Bunlara ek olarak nitritin hem gram pozitif hem de gram negatif mikroorganizmalar için uygun bir antimikrobiyal olduğu da bilinmektedir (Horsch, 2013). *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* ve *Salmonella* spp üzerinde de inhibe edici etkisi bulunmaktadır (Anar, 2015). Nitrit varlığının doğrudan kendisinin antimikrobiyal veya inhibitör etkisi, kütleme ajanı olarak kullanım işlemleri sırasındaki diğer faktörlere bağılı olarak değişebilmektedir. Örneğin nitritin bazı mikroorganizmalar için inhibisyon etkisinin asidik pH ile arttığı bilinmektedir (Sanz ve ark., 1997). Ayrıca, tuz, ısıt işlem uygulamaları ve etin başlangıçtaki kalıntı nitrit seviyesi (Archer, 2002), oksijen ve ısınlama gibi etmenler de nitritin mikroorganizmalar üzerindeki etkinliğini olumlu veya olumsuz etkileyebilmektedir (Öztürk ve ark., 2015).

Ancak nitritin bu avantajlarına rağmen et ürünlerinde meydana getirdiğı nitrozaminlerin, Uluslararası Kanseri Ajansı (IARC) göre tüketici sağlığı açısından risk ve tehlike oluşturabildiğı de bilinmektedir. (IARC, 2010). Ancak Rywotyccki (2003), nitrit kullanılmamış ve işlem görmemiş etlerde de nitrozaminlerin olabileceğini ve bunun nedenleri arasında ise hayvan türü, beslenme biçimi ve hatta mevsimlerin bile çiğ etlerdeki nitrozamin bileşiklerinin düzeyini etkileyebileceğini belirtmiştir.

Yapılan çalışmalar, kürlenmiş, tuzlanmış ya da emülsifiye et ürünlerinin özellikle kızartılması ve ızgarada pişirilmesi halinde uçucu nitrozaminler açısından riskli olduğunu bildirmektedir. Çizelge 1.4’de farklı et ürünlerinde güncel literatür taraması sonucu oluşan nitrozaminler ve düzeyleri gösterilmektedir.

Çizelge 1.4. Et ve et ürünleri içerisindeki ortalama nitrozamin düzeyleri (Lee, 2019)

Ortalama Konsantrasyon ($\mu\text{g kg}^{-1}$)							
Et ürünü	NDMA	NPYR	NPIP	NMEA	NDEA	NDPA	NDBA
Salam – kurutulmuş	2,0	1,5	0,6	-	1,0	<0,2	0,5
Sosis – pişirilmiş	0,7	0,6	0,4	-	0,4	<0,2	<0,2
Sosis – mangal ya da yağda pişirilmiş	0,3	0,4	0,2	-	1,1	-	<0,2
Sosis - dumanlanmış	1,1	2,3	1,4	-	0,8	-	0,5
Bacon – kürlenmiş ya da dumanlanmış	1,8	5,2	-	-	0,3	-	<0,2
Bacon - kızartılmış	1,7	8,8	0,2	-	<0,2	-	<0,2
Bacon – mikrodalgada pişirilmiş	0,3	<0,2	-	-	-	-	-
Sucuk	0,3	0,6	1,1	-	0,3	0,5	0,4
Et - pişirilmiş ya da konserve	0,5	-	<0,2	-	-	-	-
Et - dumanlanmış ya da kürlenmiş	0,4	<0,2	<0,2	-	-	-	<0,2
Kanatlı eti - konserve	0,9	2,0	1,1	-	-	-	0,5
Kanatlı eti - pişirilmiş ya da ızgara edilmiş	1,1	6,1	1,3	-	0,3	-	<0,2
Kanatlı eti - kızartılmış	1,3	18,8	1,1	-	0,8	-	0,4
Kanatlı eti – baharatlanmış, ızgara edilmiş	1,4	14,6	2,0	-	0,6	-	0,3
Domuz eti – baharatlanmış, pişirilmiş	1,1	7,2	1,0	<0,2	0,3	-	<0,2
Domuz eti - kızartılmış	0,9	3,4	<0,2	-	-	-	-

Et ürünlerinin üretim biçimlerine göre nitrozamin düzeyleri değişkenlik göstermektedir. Byun ve ark., (2004) çalışmalarında Amerika Birleşik Devletlerindeki ticari et ürünlerinin nitrozamin içeriğinin $10 \mu\text{g/kg}$ seviyesinde olduğunu belirtirken Güney Kore’de bu durum $36,8 \mu\text{g/kg}$ seviyelerine kadar çıkabilmektedir. Türkiye’de nitrozamin oluşumu açısından sonuçlar bu seviyelere çıkmasa da özellikle işlenmiş et ürünlerinde $0,45\text{-}16,63 \mu\text{g/kg}$ düzeyinde nitrozamin

türevlerinin olduğu bildirilmiştir. (Ozel ve ark., 2010). Jo ve ark., (2003) bu miktarı sosisler için özelleştirerek 10 – 40 µg/kg seviyelerinde nitrozamin tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Buna karşılık Cintya ve ark., (2019) marketten satın aldıkları 5'er farklı marka içeren, sosis, dumanlanmış et, burger ve konserve et numunelerinden güncel çalışmalarında marketten satın aldıkları et ürünlerinin hiçbirinde NDEA tespit etmemişlerdir.

Türkiye'de sıklıkla tüketilen sucuk üzerine yapılan bir araştırmada da, araştırmacılar, farklı nitrozamin türleri için 1,4 – 600 µg/kg arasında büyük bir skalada değişen değerler elde etmişlerdir (Pirinçi ve ark., 1986). Sadece işlenmiş et ürünlerinde değil, burgerler, köfteler yada ısıtılmış işlem görmemiş çiğ ürünler de nitrozamin içerebilmektedir (Campillo ve ark., 2011).

Estonya süpermarketlerinden alınan et ürünlerinde NDMA, NDEA, NPYR, NPIP ve NDBA miktarlarının incelendiği bir araştırmada kızartılmış, ızgara edilmiş, dumanlanmış sosislerin nitrozamin seviyelerine bakılmış ve tüm numunelerin yaklaşık %90'ında NDMA ve NPYR tespit etmişlerdir. Bu çalışmada araştırmacılar kırmızıbiberle kızartılmış domuz etinin yağında 32,46 µg/kg seviyesinde toplam nitrozamin bulunduğunu da bildirmişlerdir. Aynı çalışmada kırmızıbiberli kızartılmış kanatlı etinin 24,42 µg/kg seviyesinde Nitrozamin içerdiği sonu da elde edilmiştir (Yurchenko ve Mölder, 2007).

Farklı bir çalışmada ise kuru kürlenmiş domuz eti, pişmiş domuz eti, mortedella (bir tür İtalyan sosisi), bresaola (İtalyan pastırması) gibi marketten temin edilen ürünler incelenmiş ve ürünlerin tamamında 0,3 – 1,1 µg/kg seviyeleri arasında NDMA tespit edilmiştir (Sannino ve Bolzoni, 2013).

Yuan ve ark. (2015) yaptıkları çalışma ile marketten temin ettikleri 28 farklı et ürününün, pişirme yöntemlerine göre nitrozamin seviyelerini incelemişler ve en yüksek nitrozamin seviyesinin ızgara sosiste oluştuğunu ve et ürünleri içerisindeki nitrozamin miktarlarının 0,42-51,018 ppb arasında değişkenlik gösterdiğini de bildirilmişlerdir.

Depolama süreci ve şartları da N-nitrozamin oluşumlarına etki etmektedir. “Blood” (kan)sosis ve “liver” (karaciğer) sosis gibi geleneksel ürünlerin incelendiği bir çalışmada NDMA, NDEA, NDPA, NDBA, NPYR ve NMOR seviyeleri incelenmiştir. Ürünlerin alındığı gün toplam N-nitrozamin seviyeleri, blood sosis için tespit edilebilen seviyenin altında kalırken, liver sosis için bu rakam 0,03 µg/kg olarak bildirilmiştir. Bir gün oda sıcaklığında muhafaza edildikten sonra toplam N-nitrozamin seviyeleri blood sosis için 4,0 µg/kg, liver sosis için ise 6,7 µg/kg olarak belirlenmiştir (Domanska-Blicharz ve ark., 2004). Benzer şekilde yapılan bir araştırmada da, Belçika marketlerinde satılan sosislerin raf ömrü sonunda birçok farklı kanserojen N-nitrozamin barındırdığı bildirilmiştir. Özellikle “Pepper Salami” adı verilen ürünün, raf ömrü sonunda 12,3 µg/kg seviyesinde NPIP içerdiği araştırmanın bir sonucu olarak tespit edilmiştir (De Mey ve ark., 2014).

Olgunlaştırma sürecini nitrozamin oluşumu açısından değerlendiren bir başka çalışmada ise araştırmacı, araştırma boyunca incelediği üç nitrozamin türevinin (NDMA, NDEA ve NPYR) süreç içerisinde oluştuğu ve miktarının arttığını belirtmiştir. Bu durumun sebebi olarak ise olgunlaştırma prosesi esnasında meydana gelen kimyasal ve mikrobiyolojik reaksiyonlar olarak ifade edilmiştir (Xiao ve ark., 2018).

Işınlama gibi koruyucu işlemler ve ambalajlama yöntemleri de nitrozamin oluşumunu etkilemektedir. Ahn ve ark. (2002) yaptıkları bir çalışmada farklı dozlarda ışın ile muamele ettikleri sosisleri aerobik ve vakum altında olmak üzere iki farklı koşulda muhafaza etmişlerdir. Bu çalışmaya göre 20 kGy dozda ışınlanmış vakum ortamdaki sosislerde 4 hafta depolama sonunda NDMA tespit edilmezken aynı şartlarda ışınlanıp aerobik ortamda aynı depolama süresinde 4,7 µg/kg düzeyinde NDMA oluşmuştur. Işınlama dozu da N-nitrozamin oluşumunu etkilemektedir. Aynı çalışmada, hiç ışınlanmamış, aerobik şartlarda 4 hafta depolanmış sosislerde 24,9 µg/kg NPYR tespit edilirken, 5 kGy dozda ışınlanmış aynı şartlar ve sürede depolanmış sosislerde 3,3 µg/kg seviyesinde NPYR tespit edilmiştir.

1.5.1. Nitrozamin Oluşumuna Etki Eden Faktörler

İşlenmiş et ürünleri açısından nitrozaminler büyük önem taşımaktadır ve hammadde seçiminden, tüketimin son gününe kadar, nitrozamin oluşumları ve düzeyleri bu süreçten etkilenmektedir.

Isıl işlem uygulamaları (pişirme süresi, şekli ve sıcaklık) büyük oranda süreci etkilemekle birlikte, nitrozamin oluşumu için, nitrat, nitrit, birincil, ikincil ve üçüncül dereceden aminler, amidler, proteinler, peptitler, aminoasitler, farklı prekürsörler ve mikrobiyal aktivite gerekmektedir (Yurchenko ve Mölder, 2007).

Ortamda inhibitör varlığı (Fiddler ve ark., 1978), kalıntı olan ya da eklenen nitrit konsantrasyonuna ve depolama şartlarına bağlı olarak et ürünlerindeki nitrozamin

miktarı değişmekte (Yurchenko ve Mölder, 2007) ve ortamdaki putresin, kadaverin gibi biyogen aminlerin varlığının nitrozamin oluşumunu arttırdığı da bilinmektedir (Sun ve ark., 2016). Drabik-Markiewicz ve ark. (2011), nitrozamin oluşumunun, nitrit miktarı, işlem sıcaklığı ve ortamda bulunan biyogen aminlerin varlığı ile ilişkisini domuz pastırmasında tespit etmişlerdir. Kısacası N-nitrozamin oluşumunda temel etmenler, nitrit ve ısıl işlemler olarak kabul edilmekle birlikte süreçteki oluşumu arttıran ve azaltan farklı etmenler de bulunmaktadır.

Yapılan bir çalışma ile prolin ve hidroksiprolinin nitrozamin oluşumu üzerine etkileri incelenmiş ve prolinin, nitrozamin oluşumunda önemli bir prekürsör olduğu ancak hidroksiprolinin tam tersi şekilde NPYR oluşumunu inhibe ettiği bildirilmiştir (Drabik-Markiewicz ve ark., 2009). Benzer şekilde tiyosiyanat iyonunun, nitrozamin oluşumunu hızlandırdığı ancak askorbik asit ve tuzları ile tokoferol gibi maddelerin bu oluşumu engellediği bildirilmiştir (Marriott ve ark., 1981; Mejbourn ve ark., 2019; Pirinçci ve ark., 1986 ve Rywotycki, 2002;). Askorbik asit kullanıldığı durumlarda %75'e varan oranlarda işlenmiş et ürünlerinde nitrozamin seviyesini düşürmektedir (Herrmann ve ark, 2015). Bu durum, askorbik asitin, özellikle et ürünlerindeki varlığı ile nitritin, nitrik okside indirgenmesini sağlayarak nitrit miktarının aşamalı olarak düşmesinden kaynaklanmaktadır (Li ve ark., 2013).

Sadece kimyasal yapılar değil teknolojik işlemler, ambalajlama yöntemleri ve depolama şartları da N-nitrozamin oluşumuna etki etmektedir. Işınlama ile et ürünlerinde nitrozamin miktarının düşürüldüğü (Byun ve ark., 2004), gamma ışınlarının, miktarın düşürülmesinde etkin olduğu bildirilmektedir (Rabie ve ark., 2010). Işınlamada, yöntemin uygulanma biçimine bağlı olarak nitrozamin oluşumunun minimize edilebildiği de gösterilmiştir (Jo ve ark., 2003).

Ambalajlamanın da mikrobiyal aktivite ve dolayısıyla nitrozamin seviyesi ile bir ilişkisi bulunmaktadır. Jo ve ark. (2003) yaptıkları çalışma ile ambalajlamanın, nitrozamin oluşumuna etkilerini incelemiş ve CO₂ ile ambalajlanmış soslerde aerobik veya vakum ortama göre en düşük nitrozamin oluşumunu tespit etmişlerdir. Başka bir çalışmada ise vakum paketlemenin aerobik paketlemeye kıyasla nitrozamin oluşumu açısından üstünlüklerine vurgu yapılmıştır (Ahn ve ark., 2002). Song ve ark., (2003) yaptıkları çalışmada farklı atmosfer koşulları ile paketleme CO₂ (100%), N₂ (100%), CO₂/N₂ (25%/75%) ve farklı seviyelerde gamma ışınlamanın 0, 5, 10 ve 20 kGy nitrozamin oluşumuna etkilerini incelemişler, bu araştırmanın bir sonucu olarak modifiye atmosfer ile ışınlama uygulamasının bir arada yapılmasının, soslerde nitrozamin miktarını düşürdüğünü bildirmişlerdir. Çizelge 1.5.'te et ürünlerindeki nitrozamin oluşumunu etkileyen faktörler gösterilmektedir.

Çizelge 1.5. Et ürünlerindeki nitrozamin oluşumunu etkileyen faktörler

Faktörler	Etki Şekli
Kürleme	Arttıran etki
Isıl işlemler	Arttıran etki
Kalıntı nitrit/nitrat	Arttıran etki
Prekürsörlerin varlığı	Arttıran etki
Aminler, amidler, proteinler	Arttıran etki
Depolama şartları	Şartlara bağlı olarak değişen etki
Tiyosiyanat	Arttıran etki
Askorbit asit/tuzları	Azaltan etki
Tokoferol	Azaltan etki
Polifosfatlar	Arttıran etki
İşinlama	Azaltan etki
Ambalajlama	Şartlara bağlı olarak değişen etki

İşlenmiş ürünlerde ürün hijyeni, aroması, tekstürü, rengi ve lezzetine katkıda bulunan kimyasallar olması nedeni ile nitrat ve nitritin önemi bilinmekte ve kullanılmaktadır (Park ve ark., 2015). Ancak bu önemli avantajlarına rağmen sağlığa olan etkisinden dolayı nitrat ve nitrit kullanımı yarar-zarar ekseninde hala tartışılmaktadır (Sannino ve Bolzoni, 2013). Bu durum, nitrat ve nitritin işlenmiş ürünlerde miktarının azaltılması ya da tamamen elimine edilmesi gerekliliğini

doğurmuştur (Marriott ve ark., 1981). Bu bağlamda bu tip işlenmiş gıdaların üretiminin, katkı maddesi miktarı ve işlem süreçleri açısından özenle gerçekleştirilmesi halk sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır (Ozbay ve ark., 2019).

1.6.Nitrozaminlerin Toksisitesi

Nitrozaminler, pek çok matrikste (hava, toprak, gıda, su vb) bulunabilen, insan sağlığı açısından tehdit yaratan amin türevleridir. Bilinen 300’den fazla nitrozaminin, yaklaşık %90’ının deney hayvanlarında kanserojen etki gösterdiği, yüksek primatlar da dâhil olmak üzere 40 deney hayvanı türünün değişik organlarında kanser oluşturma potansiyeli de bildirilmiştir (Anar, 2015). IARC da yapılan deneylerin bir sonucu olarak uçucu nitrozaminler başta olmak üzere nitrozaminleri insanlar için de muhtemel kanserojen olarak tanımlamıştır (IARC, 1987).

Nitrat, nitrit ve nitrozaminlerin sağlığa etkileri ayrı ayrı incelendiğinde, bu kimyasal yapıların, farklı sağlık sorunları yarattıkları görülmektedir. Örneğin yetişkinlerde 8-15 g sodyum ya da potasyum nitrat tüketimini takiben şiddetli gastroenterit, karın ağrısı, idrar ve gaitada kan ve kişide halsizlik bulguları tespit edilmiştir. Nitritin ise düşük seviyelerde bile nitrata göre daha toksik olduğu bilinmektedir. Oral yoldan nitrit alımında sıçanlarda öldürücü doz-50 (LD₅₀)’nin 100–200 mg/kg olduğu bildirilmiştir (Lundberg ve ark., 2011). Bu toksisite seviyelerinden de anlaşılacağı gibi akut nitrat toksisitesi çok sık rastlanılan bir sağlık sorunu değildir. Ancak nitritte durum tamamen farklı olarak, akut toksisite vakalarına çok daha sık rastlanmakta, hatta akut nitrit toksisitesine bağlı ölüm vakaları dahi yaşandığı bilinmektedir (Özdestan ve Üren, 2010). Bunun sebebi, akut

nitrit toksisitesinde, nitritin kandaki hemoglobinin ile hızla reaksiyona girerek, ölüm riski oluşturabilmesidir (Lundberg ve ark., 2011).

Nitrat ve nitritin kullanımları ile oluşan nitrozaminlerin yarattığı sağlık riskleri, halk sağlığı açısından otoritelerde endişe yaratmaktadır. Nitrozaminin sağlığa olumsuz etkilerinin keşfi çok eski zamanlara dayanmamaktadır. İlk defa 1950'li yıllarda, nitrozamin ile kanser ilişkisi ilk defa gündeme gelmiştir. Olay bir vizyon çiftliğinde nitrit bulunan yemlerle beslenen vizyonlarda, yüksek sayıda tümör oluşumu ile başlamıştır. Bu gerçeğe birlikte yapılan çalışmalarla nitrozamin ve tümör gelişimi arasındaki bağlantı görülmüş ve yapılan çalışmalar, nitrozamin-sağlık ilişkisi eksenine doğru kaymıştır (Horsch, 2013).

Süreci takiben deney hayvanları üzerine yapılan çalışmalarda, sıçanlar, fareler ve hamsterlarda, nitrozaminlerin, karaciğer, özafagus, böbrekler, burun mukozası ve pankreasta tümörlere sebep olduğu görülmüştür (Mirvish, 1986). Daha sonrasında yapılan birçok çalışmada, bu durumu destekleyen sonuçlar elde edilmiştir. Demeyer ve ark., (2008) yaptıkları epidemiyolojik çalışma ile, özellikle kolorektal kanser ile işlenmiş et ürünleri tüketimi arasında ilişki olduğunu ortaya atmışlardır. Bulushi ve ark., (2009) da tuzlanmış, kürlenmiş ve kurutulmuş balık eti tüketimi ile gastrik kanser arasında pozitif bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Hatta doğrudan nitrozamin alımına bağlı olmaksızın, gıdalar ile nitrozamin öncüllerinin alımının dahi idrar kesesi kanseri riskini arttırabileceği bildirilmiştir (Wilkens ve ark., 1996).

Uçucu nitrozamin türevlerinden olan NDMA, toksik etkiye sahip türevlerin başında gelmektedir. Yapılan çalışmalarda farelerde oral alımda LD₅₀ dozu 23-40 mg/kg olarak belirlenirken, dört saat hava yoluyla 16 mg/kg NDMA'ya maruz kalan köpeklerin ise öldüğü bildirilmiştir (WHO, 2002). NDMA kanser ilişkisi incelendiğinde ise özellikle gastrik, idrar torbası, akciğer ve beyin kanserleri ile arasında güçlü ilişki tespit edilmiştir. Kanserojen etkisinin yanı sıra gözlerde iritasyon, kusma, diyare, abdominal kramplar, baş ağrısı, öksürük, halsizlik, ateş de

NDMA'nın akut etkileri olarak bildirilmiştir (EPA, 2016). Ayrıca NDMA'nın genotoksik ve mutajenik etkileri de bulunmaktadır (Health Canada, 2011). Otoriteler NDMA için tolere edilebilir alım dozunu 96 ng/gün olarak belirlemişlerdir (Anon, 2019a).

Bir diğer uçucu toksik N-nitrozamin olan NDBA'nın ise karaciğer ve yemek borusunda tümör oluşumuna sebep olduğu bildirilmiştir. NDBA'nın en güçlü kanser etkisi yarattığı yer ise idrar torbası olarak tespit edilmiştir (EPA, 2016).

NDEA ise karaciğer ve yemek borusunda tümörlere sebep olurken (EPA, 2016) aynı zamanda karaciğer ve böbrek enzimlerine olumsuz etki (Bansal ve ark., 2000), karaciğerde kolesterol seviyesini yükseltme gibi sağlık sorunları da meydana getirmektedir (Tang ve ark., 1992). NDEA'nın aynı zamanda mutajenik ve genotoksik etkileri de bulunmaktadır (Donovan ve Smith, 2008). NDEA için kabul edilebilir alım dozu 26,5 ng/gün olarak bildirilmiştir (Anon, 2019a).

NDPA, NMEA ve NPYR'nin ise yemek borusu kanserine sebep olduğu bilinmektedir. Bu türevler içerisinde NDPA aynı zamanda akciğer kanserine de neden olmaktadır (Larsson ve ark., 2006). NDPA'nın mutajenik ve genotoksik etkileri de bulunmaktadır. Akut toksisite açısından NMEA, farelerde LD₅₀ 90 mg/kg olarak bildirilmiştir bu doz oral yolla alınan tek doz olarak bildirilmiştir (EPA, 2016). NPYR'nin ise akut toksisitesi çok düşüktür (Ketkar ve ark., 1982). Ancak NPYR'nin de genotoksik, mutajenik etkileri ile karaciğer tümörüne neden olması in vivo ve in vitro çalışmalarda tespit edilmiştir (EPA, 2016). Kanserojen etkilerinin yanı sıra nitrozaminler, toksik, mutajenik ve teratojenik etkiler de göstermektedir (Hotchkiss 1987 ve Mirvish, 1975).

Nitrozaminlerin ispatlanmış kanserojen etkilerine rağmen her birey ve dozda aynı toksik etkiyi beklemek doğru olmayacaktır. Nitrozaminlerin sağlığa etkileri açısından alımı ve alım dozları büyük önem taşımaktadır. Yapılan bir çalışmada uçucu nitrozaminlerin insan sağlığı açısından tolere edilen seviyesi 5–10 µg/kg vücut ağırlığı şeklinde bildirilmektedir (Campillo ve ark., 2011). Lag (2011) ise yaptığı çalışma ile her bir N-nitrozamin için kanserojen eğilimine bağlı olarak oral alım dozlarını belirlemiştir. Çizelge 1.6’da muhtemel kansorejenik dozları verilmiştir.

Çizelge 1.6. Bazı N-nitrozaminlerin muhtemel kanserojenik dozları (Lag, 2011)

Nitrozamin	Oral alım Dozu (mg/kg bw/d)*
NDBA (N-nitrosodi-n-butylamine)	5,4
NDPA (N-nitrosodi-n-propylamine)	7
NMEA (N-nitrosomethylethylamine)	22
NPIP (N-nitrosopiperidine)	37,5
NDMA (N-nitrosodimethylamine)	51
NDEA (N-nitrosodiethylamine)	150

*bw; vücut ağırlığı, d;gün

Hamilelik döneminde annenin kürlenmiş et tüketimi ile fetüste kanser oluşumu üzerine yaptıkları çalışmada Blot ve ark. (1999) herhangi bir etkileşim tespit etmezken, EPA güncel verilerinde fetüsün de nitrozaminlere duyarlı bir grup olduğunu bildirmiştir. Nitrozamine duyarlı gruplar Çizelge 1.7.’da gösterilmektedir.

Çizelge 1.7. Nitrozaminlere duyarlı gruplar (EPA, 2016)

Grup	NDBA	NDEA	NDMA	NDPA	NMEA	NPYR
Fetüs	Fetüs	Fetüs	Fetüs	Fetüs	Veri yok	Bebek
Bebek	Bebek	Bebek	Bebek	Bebek		Çocuk
Çocuk	Çocuk	Çocuk	Çocuk	Çocuk		
Kronik tüketenler	alkol Veri yok	Artan tümör	Artan tümör	Artan tümör	Veri yok	Artan tümör

Nitrozaminlerin, kanser ile ilişkilendirilmesi artık tartışılmaz bir gerçek gibi görülmektedir. Özellikle işlenmiş et ürünleri ve sigaranın doğrudan nitrozamine maruz kalma açısından önemli kaynaklar olduğu bilinmektedir. (Wilkens ve ark., 1996). İşlenmiş et ürünleri, et seçiminden, üretimine, ambalajlamadan tüketimine kadar nitrozamin oluşumu açısından önem taşımaktadır. Hatta tüketici tarafından satın alınan ürünlerin ne şekilde pişirilip, depolanarak tüketileceği de bu ürünlerin halk sağlığına etkileri açısından doğru değerlendirilmelidir. Riskleri ve oluşum aşamalarını bilerek buna uygun bilinçle üretim ve tüketim süreçlerini gerçekleştirmek bu tip gıdalardan gelebilecek sağlık risklerini bertaraf ederek endişeleri ortadan kaldıracaktır.

Bu sağlık sorunlarının bir sonucu olarak özellikle nitrat-nitrit kullanımı ile ilgili yasal sınırlamalar büyük önem taşımaktadır. Gıdalarda nitrit ve nitrat kullanımı yasal olarak sınırlandırılmadan önce, 20. yy sonlarında Almanya’da bazı et ürünlerine yüksek miktarlarda ilave edildikleri için çeşitli ölüm vakalarının görüldüğü bildirilmiştir (Honikel, 2008).

Türkiye’de, Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği’ne göre (Anon, 2013), ısıtılma işlemi görmüş işlenmiş et ürünlerinde yasal kullanılabilir en yüksek sodyum ve potasyum nitrit miktarı sterilize et ürünleri hariç 150 mg/kg, sterilize et ürünlerinde ise 100 mg/kg, sodyum ve potasyum nitrat miktarı ise fermente sucuk ve pastırma hariç 150 mg/kg düzeyindedir. Avrupa Birliği de katkı maddeleri ile ilgili 2006/52/EC yönergesinde, et ürünlerinde kullanılabilecek potasyum nitrit miktarını 150 mg/kg olarak, sterilize et ürünlerinde ilave edilebilecek sodyum nitrit miktarını 100 mg/kg ile sınırlandırmıştır (Anon, 2006). Türk Gıda Kodeksi’nde et ve et ürünlerinde N-nitrozamin seviyeleri için bir limit değeri bulunmazken, sadece buralar için 0,0005 mg/kg olarak toplam uçucu N-nitrozamin değeri belirlenmiştir (Anon, 1997).

Avrupa Birliđi ise yakın zamanda yaptığı açıklamada nitrat ve nitrit kullanımının nitrozamin oluşumuna sebep olduğunu bu açıdan askorbik asit ile kullanımlarının miktarları dūřureceđini tavsiye etmiştir (Anon, 2019b). Çin Halk Cumhuriyeti gıdalarda kalıntı raporunda ise deniz őrunleri ve tahıllar için nitrozamin sınır değerleri belirlenmiş ve NDMA için deniz őrunlerinde 4 ppb, NDEA için ise 7 ppb olarak limit değerler esas alınmıştır. Aynı nitrozaminler için tahıllarda maksimum seviye ise sırasıyla 3 ppb ve 5 ppb olarak kabul edilmiştir (Butterworth ve Bugang, 2006).

Sonuç olarak tez çalışmasında ۆzellikle EPA, WHO gibi kurumların açıklamalarında ۆn plana çıkan, uçucu N-nitrozaminlerden, muhtemel kanserojen etkisi IARC tarafından da teyit edilmiş tőrlevlerinin (NDMA, NDBA, NDPA, NMEA, NDEA, NPYR, NPIP) ticari sosis őretimi işlem basamaklarında, tőketim ve depolama sőrerlerinde oluşması, dőzeyleri ile risk basamaklarının belirlenmesi amaçlandı.

Aynı zamanda çalışmada, nitrozaminlerin GC-MS cihazında belirlenmesi için yۆntem uyarlanması, daha sonraki araştırmalar için referans oluşturulması da bir diğer ۆnemli amaç olarak belirlendi.

Bu temel amaçlara ulaşmak için aşağıda belirlenen noktalar hedeflenmiştir;

- Sosiste risk yaratabilecek nitrozamin varlığının ve dőzeyinin belirlenmesi
- Oluşan nitrozaminlerin, őretimin hangi aşamasında oluştuğu ya da miktarının hangi aşamalarda değiştiğinin belirlenmesi

- Değişen parametrelere (askorbik asit düzeyi, pişirme şekli, ambalajlama, depolama süreci) bağlı olarak oluşan nitrozamin seviyelerinin belirlenerek, miktarını arttıran ve azaltan faktörlerin tespit edilebilmesi
- Oluşan nitrozaminlerin, depolamanın hangi aşamalarında oluştuğu ya da miktarlarının hangi aşamalarda değiştiğinin belirlenmesi



2. GEREÇ VE YÖNTEM

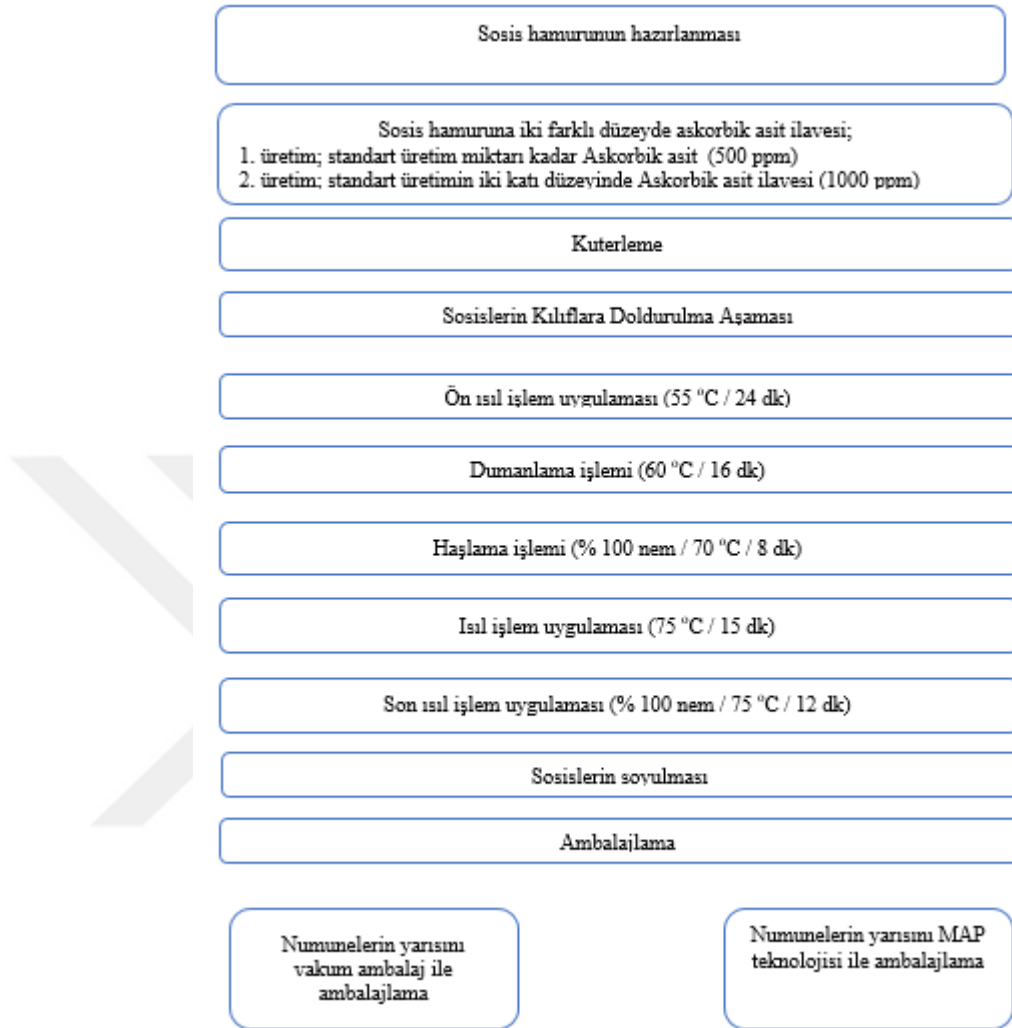
2.1.Gereç

Bu tez çalışmasında, araştırma materyali olarak 18 Nisan 2019 tarihinde Ankara Et ve Süt Kurumu Sincan Et Kombinası tesislerinde deneysel olarak üretilen sosis ürünü ve üretim aşaması numuneleri kullanıldı. Üretilen bu deneysel sosisin bileşenleri Çizelge 2.1.'de gösterilmektedir.

Çizelge 2.1. Sosis hamuru bileşenleri

Bileşen	Miktar (%)
Sığır eti (% 20 – 25 yağ oranında)	77,8
Nişasta	3,9
Buz	15,5
İnce tuz	1,2
Nitritli tuz	0,40 (130 ppm nitrit)
Polifosfat	0,31
Karabiber	0,19
Duman esansı	0,06
Beyaz biber	0,12
Kişniş	0,09
Zencefil	0,06
Askorbik asit	500 mg/kg / 1000 mg/kg
Gıda boyası	0,013
Kırmızı tatlı biber	0,31

Araştırmada, üretim parametrelerinde askorbik asit seviyesi değiştirilerek üretim, tüketim ve depolama sürecine askorbik asitin etkileri incelendi. Bu amaç doğrultusunda kontrol grubu olarak standart sosis üretim formülasyonuna uygun askorbik asit (500 mg/kg) ve standart üretimin iki katı askorbik asit (1000 mg/kg) içeren iki ayrı üretim gerçekleştirildi. Deneysel sosis üretim aşamaları çalışma boyunca 1. formülasyonla üretim (500 mg/kg askorbik asit içeren) ve 2. formülasyonla üretim (1000 mg/kg askorbik asit içeren) olarak isimlendirildi. Şekil 2.1.'de deneysel sosis üretim süreci verilmiştir.

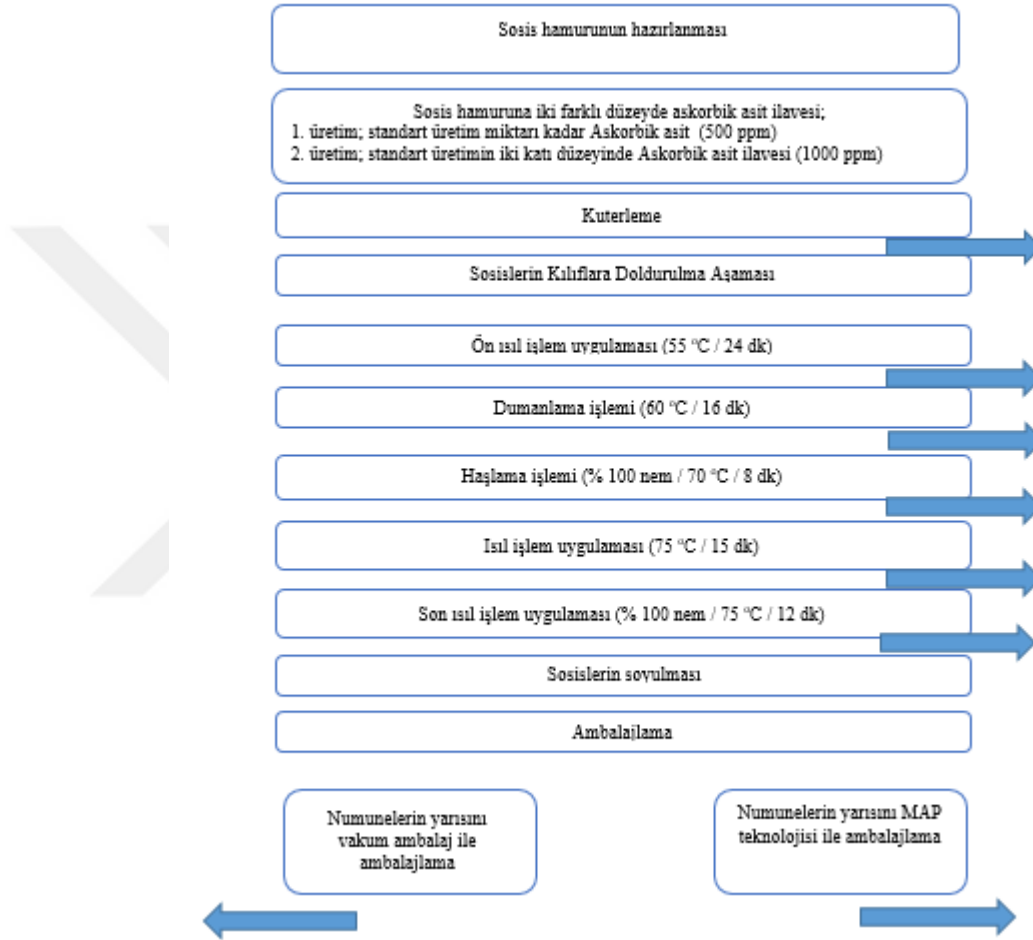


Şekil 2.1. Deneysel sosis üretimi akış diyagramı

Analizlerin gerçekleştirilmesi için öncelikle üretim sürecinin ilk basamağındaki nitrit – nitrat düzeylerini belirlemek için numuneler alındı. Bu amaçla işletme içinde kullanılan su (500 ml) ve sosis üretiminde kullanılan baharat karışımı (200 g) ile aynı zamanda herhangi bir işleme maruz kalmamış farklı askorbik asit düzeylerindeki (1. formülasyon – 2. formülasyon) iki sosis hamurundan (200 g × 2) numuneler alındı.

Tez çalışmasında sosis örnekleri ise uçucu N-nitrozamin analizleri için üç paralel olarak iki farklı üretim ile Şekil 2.1.'de gösterilen deneysel sosis üretim prosedürü ile

üretildi. Elde edilen altı farklı sosis hamurundan üretim aşamalarının her birinin sonunda yaklaşık 100 - 150 g olmak üzere toplam 36 adet numune alındı. Şekil 2.2.'de üretim süreci numune alım noktaları gösterilmektedir.



Şekil 2.2. Sosis üretiminde numune toplama noktaları

Belirlenen noktalardan toplanan numuneler ağzı kapalı numune alma poşetlerinde analize alınana kadar soğukta muhafaza edildi. Deneysel sosis üretimi aşamaları aşağıdaki aşamalar takip edilerek gerçekleştirildi.

1. Sosis hamurunun hazırlanması

Sosis hamuru hazırlık aşamasında hamur, yağlı sığır eti (%77,8), nişasta (%3,9), buz (%15,5), ince tuz (%1,2), nitritli tuz (%0,4), polifosfat (%0,31), karabiber (%0,19), duman esansı (%0,06), beyaz biber (%0,12), kişniş (%0,09), zencefil (%0,06), kırmızıbiber (%0,31), gıda boyası (%0,013) ve askorbik asit (500 ppm – 1000 ppm) bileşenleri karıştırılarak hazırlandı. Karışıma önce sığır eti ve yağ eklendi sonrasında baharatlar ve katkı maddeleri, gıda boyası ve askorbik asit ilavesi gerçekleştirildi. Şekil 2. 3, Şekil 2. 4, Şekil 2. 5 ve Şekil 2. 6’da bu aşamalar gösterilmektedir.

Hazırlanan sosis hamurları, kuter (Mixer kuter, Seydelman, Almanya) vasıtasıyla homojen şekilde karıştırıldı. Kuterleme işlemi 1000 devirde 30 sn, 1500 devirde 30 sn ve son olarak 2000 devirde 30 sn olarak üç aşamada tamamlandı.



Şekil 2. 3. Sosis hamurunun kuterde hazırlanması aşaması



Şekil 2. 4. Sosis hamuruna baharatların eklenmesi aşaması



Şekil 2. 5. Sosis hamuruna gıda boyası eklenmesi aşaması



Şekil 2. 6. Sosis hamuruna askorbik asit eklenmesi aşaması

Bu aşamaların sonunda hazırlanan sosis hamuru dolum aşamasına gönderildi. Aynı zamanda bu aşamada başlangıç nitrat, nitrit ve uçucu N-nitrozamin analizlerini yapmak için iki farklı formülasyondaki sosis hamurundan da yaklaşık 200 g numune alındı. Şekil 2.7’de tamamlanan doluma hazır sosis hamuru gösterilmektedir.



Şekil 2. 7. Kılıflara doldurulmak için hazırlanan sosis hamuru (ilk numune alım noktası)

2. Kılıflara dolum aşaması

Bu aşamada elde edilen sosis hamuru, 20 kalibre kollajen kılıflara, dolum makinesi (Vemag, Almanya) ile dolduruldu ve ısıt ışılem aşamaları için askılara dizildi. Şekil 2. 8 ve Şekil 2. 9’da dolum aşaması ve ısıt ışıleme hazır ürünler gösterilmektedir.



Şekil 2. 8. Sosislerin kılıflara doldurulma aşaması



Şekil 2. 9. Isıl işlemler için hazırlanan sosisler

3. Kurutma İşlemi (1. Isıl işlem uygulaması)

Ön ısıl işlem uygulaması aşamasında sosisler, fırınlar (Schröter, Almanya) içerisine alınarak 55 °C’de, 24 dk süreyle ısıl işleme tabi tutuldu. Şekil 2. 10’da deneysel sosis üretiminin pişirme fırınındaki görünümü verilmiştir.



Şekil 2. 10. Sosislerin fırına yerleşim

Üretim sürecinin her ısıt işlem basamağından sonra numuneler, her bir hamur formülasyonu ve paralel üretim için alındı. Şekil 2.11’de ön ısıt işlem uygulaması sonrası alınan numuneler verilmiştir.



Şekil 2. 11. Birinci ısıt işlem sonrası üretim hattından alınan numuneler (55 °C / 24 dk)

4. Dumanlama işleminin uygulanması (2. Isıt işlem uygulaması)

Bu aşamada sosisler, aynı fırınlar içerisinde sıvı duman (Rollsmoke, 30 kg) kullanılarak dumanlama işlemine tabi tutuldu. Bu işlem 60°C sıcaklıkta 16 dk boyunca devam ettirildi. İşlem sonunda numuneler alındı.

5. Haşlama aşaması (3. Isıt işlem uygulaması)

Bu aşamada sosisler %100 nem varlığı ile 70 °C’de 8 dk boyunca ısıt işleme tabi tutuldu ve haşlama işlemi tamamlandı. İşlem sonunda numuneler alındı. Şekil 2. 12’de haşlama işlemi sonrası sosisler ve Şekil 2.13.’de üçüncü ısıt işlem sonrası alınan örnekler verilmiştir.



Şekil 2. 12. Haşlama işlemi sonrası sosisler

Haşlama işlemi sonunda her üretim formülasyonu ve paralel üretimden alınan numuneler Şekil 2.13.'de verilmiştir.



Şekil 2. 13. Üçüncü ısıt işlem sonrası üretim hattından alınan numuneler (70 °C / 8 dk / %100 nem)

6. Isıl işlem uygulaması (4. Isıl işlem uygulaması)

Bu aşamada sosisler aynı fırınlar içerisinde 75 °C’de 15 dk daha ısıtılma maruz kalmaktadır. İşlemin tamamlanması sonrasında N-nitrozamin analizleri için numuneler alındı.

7. Son ısıtılma uygulaması (5. Isıl işlem uygulaması)

Ambalajlama öncesinde sosis stabilitesini sağlamak amacı ile uygulanan son ısıtılma işlem bu basamakta gerçekleştirilmektedir. Bu aşamada sosisler aynı fırınlar içerisinde %100 nem altında 75 °C’de 12 dk daha ısıtılarak ambalajlama aşamasına geçildi. Ambalajlama işleminden sonra N-nitrozamin analizleri için numuneler alındı. Şekil 2. 14’de ısıtılma işlem süreçleri tamamlanmış soyulma aşamasına hazır sosisler verilmiştir.



Şekil 2. 14. Isıl işlem aşamaları tamamlanmış sosisler

8. Sosis soyulma aşaması

Sosisler bu aşamada ısıtma işlemi uygulaması öncesinde dolduruldukları kılıflardan soyulma makinesi ile (Fermak, Türkiye) soyularak ambalajlamaya hazır hale getirildi. Şekil 2. 15’de sosis soyulma aşaması gösterilmektedir.



Şekil 2. 15. Sosis soyulma aşaması

9. Ambalajlama aşaması

Bu aşamada sosisler, yarısı vakum ambalaj makinesi (Multivac R254, Almanya) ile vakumlanarak, diğer yarısı ise MAP ambalaj makinesi (Multivac R254, Almanya) ile %30 CO₂, %70 N₂ atmosfer şartlarında ambalajlandı. Şekil 2.16’da vakum ambalaj içerisindeki Şekil 2. 17’de ise MAP ambalajdaki numuneler gösterilmektedir.



Şekil 2. 16. Vakum ambalaj ile paketlenmiş sosisler



Şekil 2.17. MAP ile ambalajlanmış numuneler

Üretim sürecinin tamamlanması sonrası uçucu N-nitrozamin analizleri için numune alımları da tamamlanmış oldu. Buna göre öncelikle herhangi bir ısıtım işlemi görmemiş hamur karışımından ilk numune alındı. Sonrasında her bir ısıtım işlem aşamasını takiben örnek alımları gerçekleştirildi. Sonuç olarak deneysel sosis üretimi aşamalarından her biri yaklaşık 100-150 g arasında toplamda 36 örnek (n=36) üretim süreci uçucu N-nitrozamin analizleri için alındı.

Ayrıca vakum ve MAP olmak üzere iki farklı ambalajlamadan, muhafaza ve pişirme süreçlerinde oluşan uçucu N-nitrozaminlerin analizi için numune alımına geçildi. Bu analizlerin gerçekleştirilmesi için 45 adet MAP ambalajlı 45 adet de vakum ambalajlı olmak üzere 200'er g'dan oluşan toplam 90 adet ambalajlı sosis numunesi alındı. Ayrıca deney sürecinin sonuna kadar saklanarak analiz tekrarının yapılabilmesi için de 12 paket 200 g'lık ürün de çalışmalar sırasında oluşabilecek problemlere karşı ek olarak alındı. Deneylerin tekrar edilmesi ihtimali ile tüm numunelerden toplam 30 adet paketli örnek de deney sürecinin sonuna kadar şahit örnek olarak Ankara Et ve Süt Kurumu Sincan Et Kombinası'nda 4 °C'de muhafaza edildi.

Alınan numuneler, ekstraksiyon ve GC-MS analizlerinin gerçekleştirilmesi için araç içi buzdolabı ile Aksaray Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarlarına soğuk zincir kırılmaksızın taşındı. Üretim süreci analizleri, uçucu N-nitrozamin düzeylerinin belirlenmesi ve bu duruma askorbik asitin etkisinin ortaya konulması amacı ile üretimin yapıldığı gün içinde gerçekleştirildi.

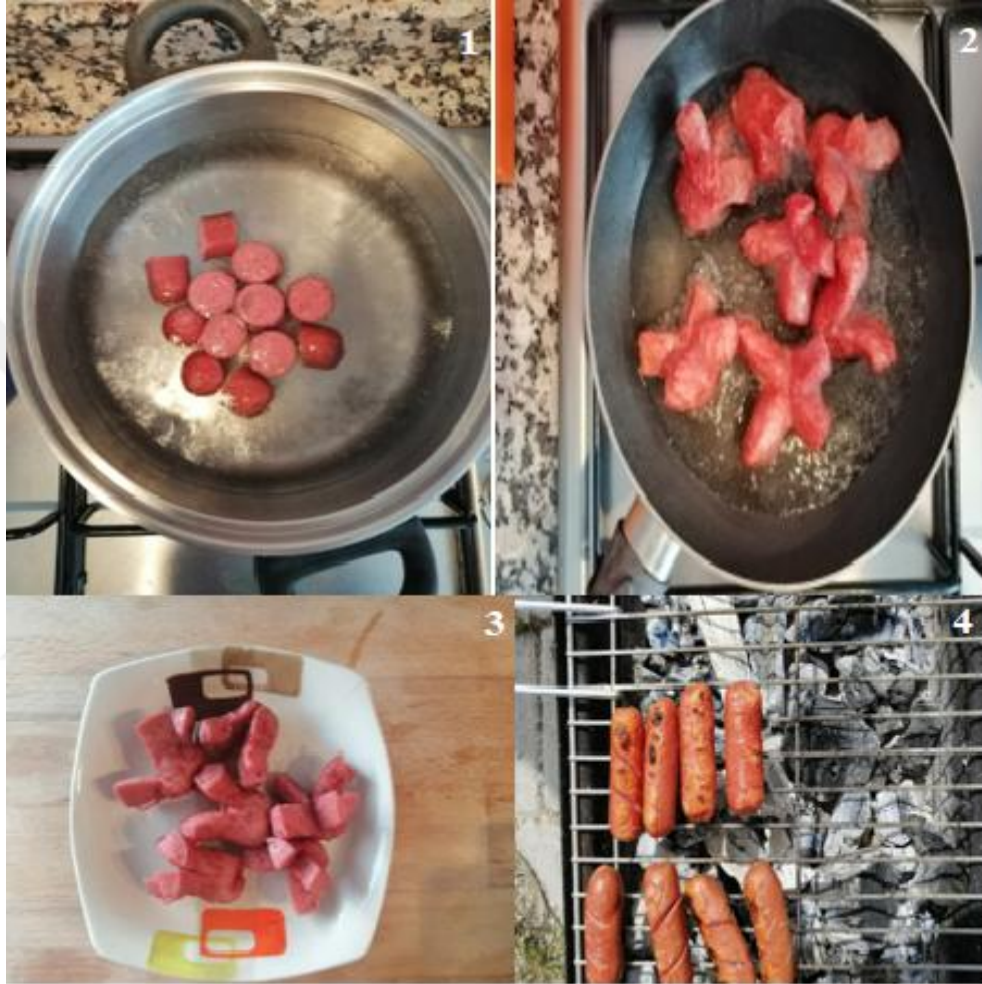
Bu aşamadan sonra uçucu N-nitrozamin oluşumunun farklı pişirme metotları arasındaki oluşum etkisini belirlenmesi sürecine geçildi. Bu amaç için sosis tüketiminde en çok tercih edilen dört pişirme yöntemi olan haşlama, kızartma, mikrodalga ve ızgara (mangal) işlemleri, deneysel üretilen sosis numunelerine iki paralel şekilde uygulandı (n=48). Bu aşama için kontrol grubu olarak, pişmemiş ambalajlı sosis örnekleri iki paralel şekilde analiz edildi (n=12).

Belirlenen pişirme işlemlerine ait parametreler, ön çalışmalar sonucunda optimum olarak belirlendi ve ürünün, tüketime en uygun olduğu şartlar tespit edildi. Haşlama suyu, kızartma yağı ve mangal közünün sıcaklıkları dijital bir termometre ile ölçülerek hedeflenen sıcaklığa ulaşılması ile pişirme süreleri başlatıldı. Sonrasında metotlar her sosis numunesi için ayrı ayrı, aynı süre ve sıcaklıklarda farklı pişirme kapları içerisinde uygulandı. Pişirme şekli ve sürelerine ait veriler Çizelge 2.2.'de verilmiştir.

Çizelge 2.2. N-nitrozamin analizleri için alınan numunelerin pişirme koşulları

Pişirme Şekli	Süre (dk)	Ortam	Sıcaklık
Haşlama	10	Kaynar su, çelik tencere içerisinde kısık ateşte	Su, 100 °C
Kızartma	4	Kızgın ayçiçek yağı ile teflon tavada	Ayçiçek yağı, 200 °C
Mikrodalga	3	600 W mikrodalga enerjisi ile porselen kâsede	-
Izgara	5	Kömür köz haline geldikten sonra 10 cm mesafeden ızgara üzerinde	Izgara közü, 210 °C

Mikrodalga pişirme işlemi gerçekleştirilirken ise ev tipi (Samsung, ME711K/AND 20 Litre, Güney Kore) mikrodalga fırın kullanıldı. Pişirme işlemleri Şekil 2. 18.'de gösterilmektedir.

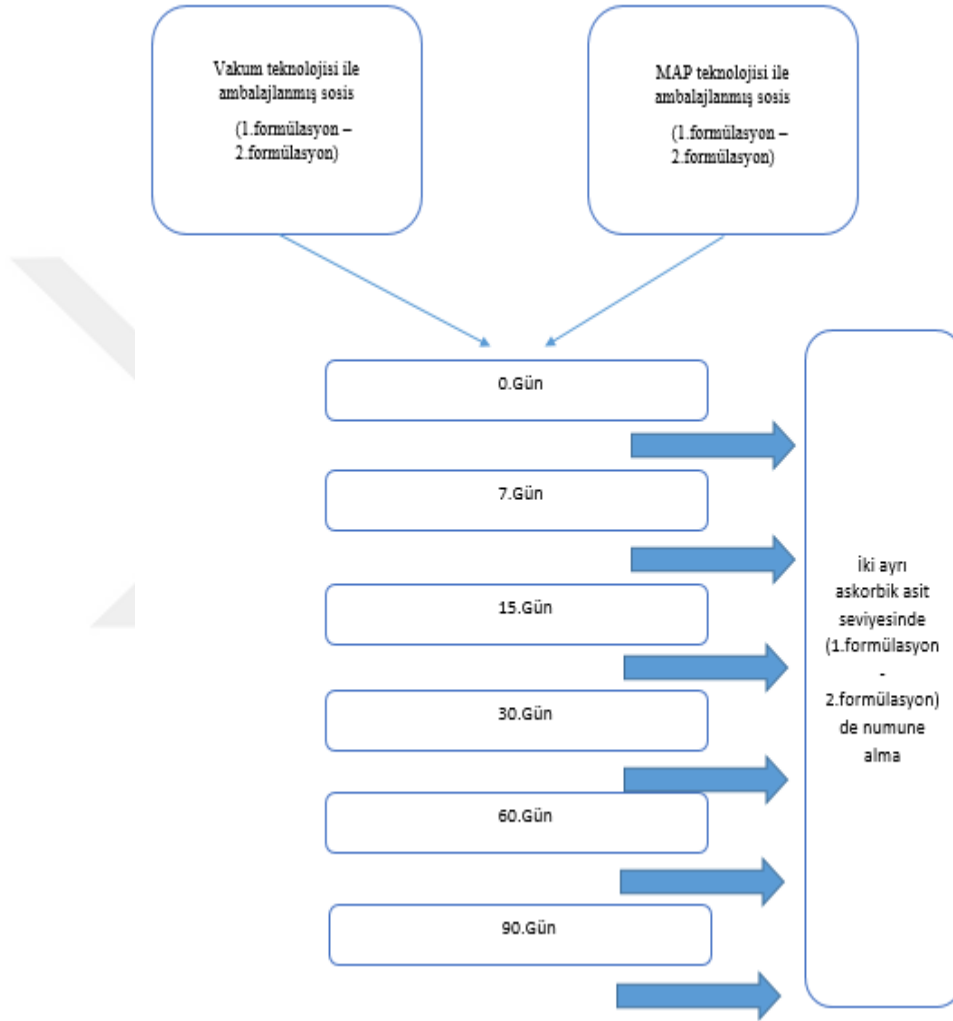


*¹Haşlama işlemi; ²Kızartma işlemi; ³Mikrodalga kızartma işlemi ⁴Izgarada pişirme işlemi

Şekil 2. 18. N-nitrozamin analizleri için sosis numunelerinin pişirme işlemleri

Araştırmanın son iki basamağı olan depolama süreci ve ambalajın uçucu N-nitrozamin oluşum ve düzeyine etkisini incelemek için de numuneler hazırlandı. Bu numuneler iki farklı ambalaj içerisinde (vakum, MAP) 4 °C buzdolabında üretim sürecinden analize kadar muhafaza edildi. Bu amaç doğrultusunda kontrol grubu olarak üretilen ambalajlı (0. gün analizi) sosis numuneleri (n=12) kullanılırken, analiz için hem vakum ambalaj hem de MAP ile paketlenmiş tüm numunelerden 7,

15, 30, 60 ve 90. günlerde numuneler alınarak analiz edildi (n=60). Bu süreçte tüm depolama süreci numuneleri, uygun muhafaza şartlarında (4 °C’de buzdolabında - 90 gün) tutularak, belirlenen zamanlarda analize alındı. Şekil 2.19’da depolama süreci numune alım noktaları gösterilmektedir.



Şekil 2.19. Depolama sürecinde numune toplama noktaları

2.1.1. Ekstraksiyon İşlemi İçin Gereçler

Belirlenen aşamalardan alınan numuneler, ekstrakte edilerek analize uygun hale getirildi. Bu amaç doğrultusunda ekstraksiyon işleminde aşağıdaki gereçler kullanıldı;

- Homojenizasyon için blender (Philips, HR1316/00, Türkiye)
- Hassas Terazî (KERN, ABJ 220-4NM, Almanya)
- Diklorometan (Merck, Dichloromethane for gas chromatography, Almanya)
- Ultrasonik su banyosu (VWR, Ultrasonic Cleaner - USC-TH, Malezya)
- Filtre kâğıdı (S & H Labware, Ø125 mm, Türkiye)
- Evaporatör (Heidolph, Hei-VAP Advantage, Almanya)
- Metanol (Merck, Methanol for chromatography, Almanya)
- Filtre (0.45 µm, Sartorius Stedim, Almanya)
- Vorteks (VELP Scientifica, İtalya)
- Cam vial (2 ml)

2.1.2. GC-MS Analizi İçin Gereçler

Sosisteki uçucu N-nitrozamin içeriğinin uygun çözücü ve işlemler ile alınması sonucunda elde edilen ekstrat, Yuan ve ark. (2015)'dan alınıp revize edilen metot ile GC-MS analizine tabi tutuldu. Bu aşama için Gaz Kromatografisi - GC (Agilent Technologies, 7890A, United States) cihazı ve bu cihaza entegre kütle spektrometresi – MS (Agilent Technologies, 5975C, United States) dedektörü kullanıldı. Şekil 2.20'de kullanılan GC-MS cihazı verilmiştir.



Şekil 2.20. GC-MS cihazı (Agilent Technologies)

Uçucu nitrozaminlerin GC-MS cihazı ile analizlerinde kolon olarak DB624 (30 m, 0.25 mm I.D and 1.40 μ m, Agilent, USA) kullanıldı.

Analiz metodunun uyarlanması ve metot validasyonunun gerçekleştirilmesi için de içerisinde ***N*-Nitrosodimethylamine (NDMA)** ***N*-Nitrosodibutylamine (NDBA)** ***N*-Nitrosodi-*n*-propylamine (NDPA)**, ***N*-Nitrosomethylethylamine (NMEA)**, ***N*-Nitrosodiethylamine (NDEA)**, **Nitrosopyrrolidine (NPYR)**, **Nitrosopiperidine (NPIP)** nitrozamin türevleri bulunan 1 ml ampul halinde satın alınan standart karışım (EPA 521 Nitrosamine Mix, 2000 ppm, Sigma-Aldrich,USA) kullanıldı.

2.2.Yöntem

2.2.1. Deneme Planı

Araştırmada deneme planı oluşturulurken, çalışmanın amacına uygun olarak sosiste dört farklı süreçte, belirlenen yedi farklı uçucu N-nitrozamin türevinin oluşumu ve miktarı incelendi. Belirlenen dört aşama;

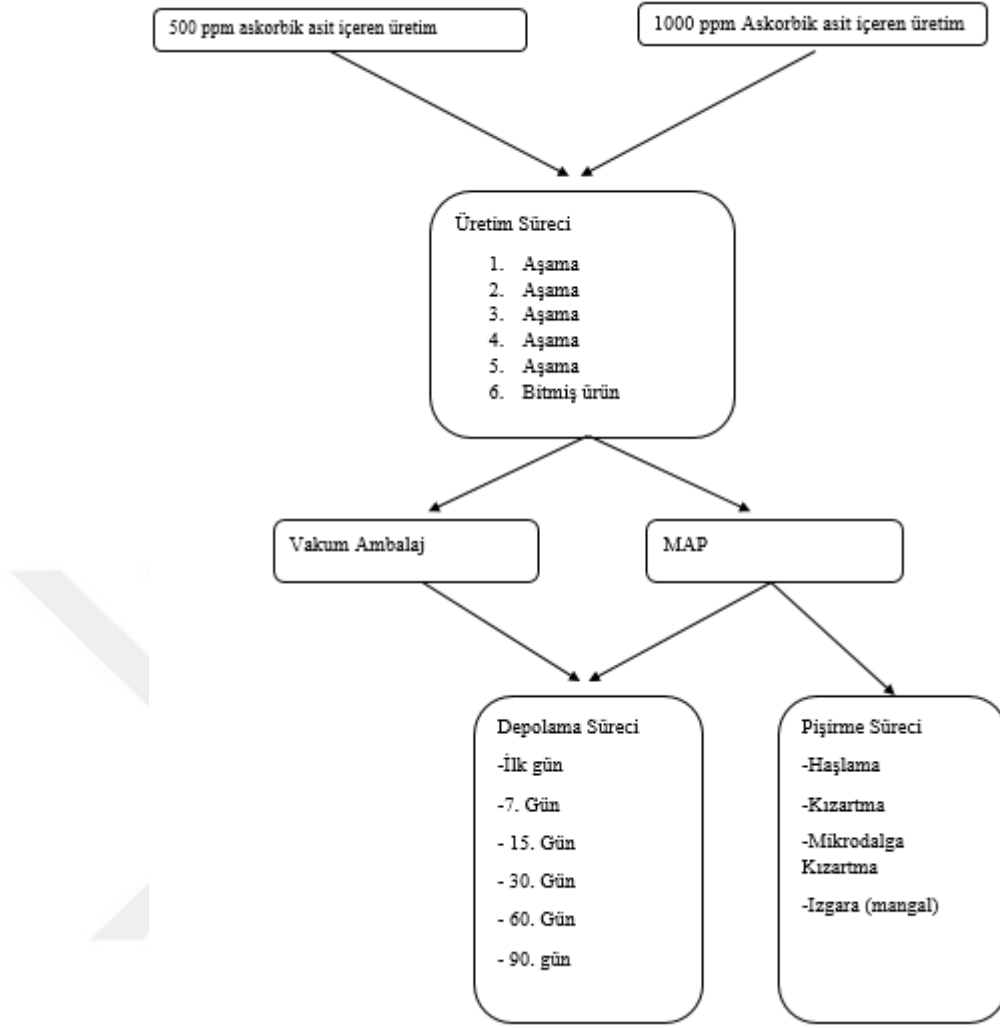
1. Aşama; Üretim süreci boyunca uçucu N-nitrozamin oluşumu ve düzeyinin belirlenmesi

2. Aşama; Farklı ambalaj yapılarına (vakum – MAP) bağlı olarak uçucu N-nitrozamin oluşumu ve miktarının tespit edilmesi

3. Aşama; Muhafaza süresi boyunca uçucu N-nitrozamin oluşumu ve miktarının belirlenmesi

4. Aşama; Pişirme yöntemine (haşlama, kızartma, mikrodalga, ızgara) bağlı olarak uçucu N-nitrozamin türevlerinin oluşumu ve miktarının tespit edilmesi

Bu amaçlar doğrultusunda üretim hattında üç tekrar yapılarak örnekler alındı ve her numune paralel olarak analiz edildi. Böylece analiz edilen toplam sos is numunesi 276 (n=276) olarak belirlendi. Bu bağlamda kurgulanan ve gerçekleştirilen deneme planı Şekil 2.21’de verilmiştir.



Şekil 2.21. Tez çalışması deneme planı

2.2.2. Numune Hazırlama Metodu

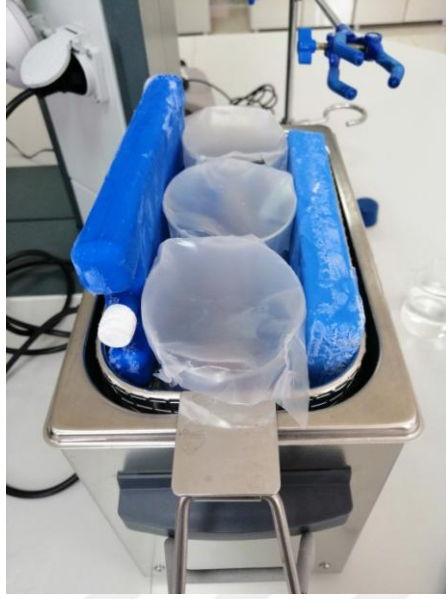
Üretim, tüketim ve muhafaza sürecine ait belirlenen aşamalardan alınan tüm bu numuneler, GC-MS analizlerine uygun hale getirilmek amacıyla, öncelikle ekstraksiyon işlemine tabi tutuldu. Ekstraksiyon yöntemi, Yuan ve ark. (2015) tarafından geliştirilen yöntem temel alınarak modifiye edildi. Yöntem basamakları maddeler halinde sıralanmaktadır;

- Numuneler başlangıçta Şekil 2.22’de gösterildiği gibi parçalanarak homojenize edildi.



Şekil 2.22. Numunenin homojenize edilmesi

- Sosis numuneleri homojenize edildikten sonra hassas terazi ile 20 g tartıldı ve bir beher içerisinde üzerine 40 ml DCIM (Dikolorometan) eklendi. Bu şekilde DCIM içerisindeki numuneler ultrasonik su banyosunda 15 dk boyunca etken maddenin çözücü içerisinde daha fazla miktarda geçmesi amacı ile bekletildi. Şekil 2.23.'de su banyosunda ekstraksiyon süreci devam eden numuneler verilmiştir.



Şekil 2.23. N-nitrozamin analizi için homojenize edilen numunelerin su banyosunda bekletilmesi işlemi

- Su banyosunda bekleme süresi sonunda örnekler filtre kâğıdı ile süzüldü ve filtrat (süzüntü) toplandı. Sonrasında örnekler yeniden DCIM (40 ml) ile muamele edilerek tekrar su banyosunda 15 dk süresince bekletildi. Şekil 2.24.'de numunelerin süzülmesi aşaması gösterilmektedir.



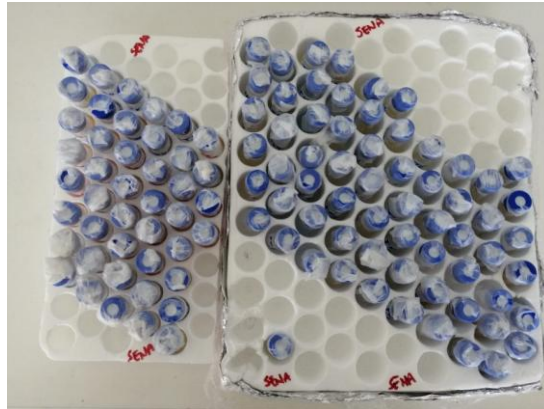
Şekil 2. 24. Numunelerden ekstraktın süzülmesi

- Toplanan filtrat, hızla rotary evaporatöre aktarılarak içerisindeki çözücü madde (DCIM) uzaklaştırıldı. Bu süreç, 185 rpm dönüş hızında 10 dk süre içerisinde tamamlandı. Şekil 2.25’de numunelerin rotary evaporatör içerisinde çözücüsünün uzaklaştırılması aşaması gösterilmektedir.



Şekil 2. 25. Çözücünün uzaklaştırılması

- Çözücüsü alınan ekstrat, 1 ml metanol ile toplanarak, filtrelenip cam viallere alındı.
- Son olarak viale alınan numuneler vortekslenerek homojenize edildi.
- Viallerde tutulan numuneler analize alınana kadar buzdolabı içerisinde ağzı kapalı ve parafilm sarılı olarak muhafaza edildi. Şekil 2. 26.’da hazırlanan numunelerin bir kısmı gösterilmektedir.



Şekil 2. 26. Hazırlanan numuneler

2.2.3. Nitrat – Nitrit Analizi Metodu

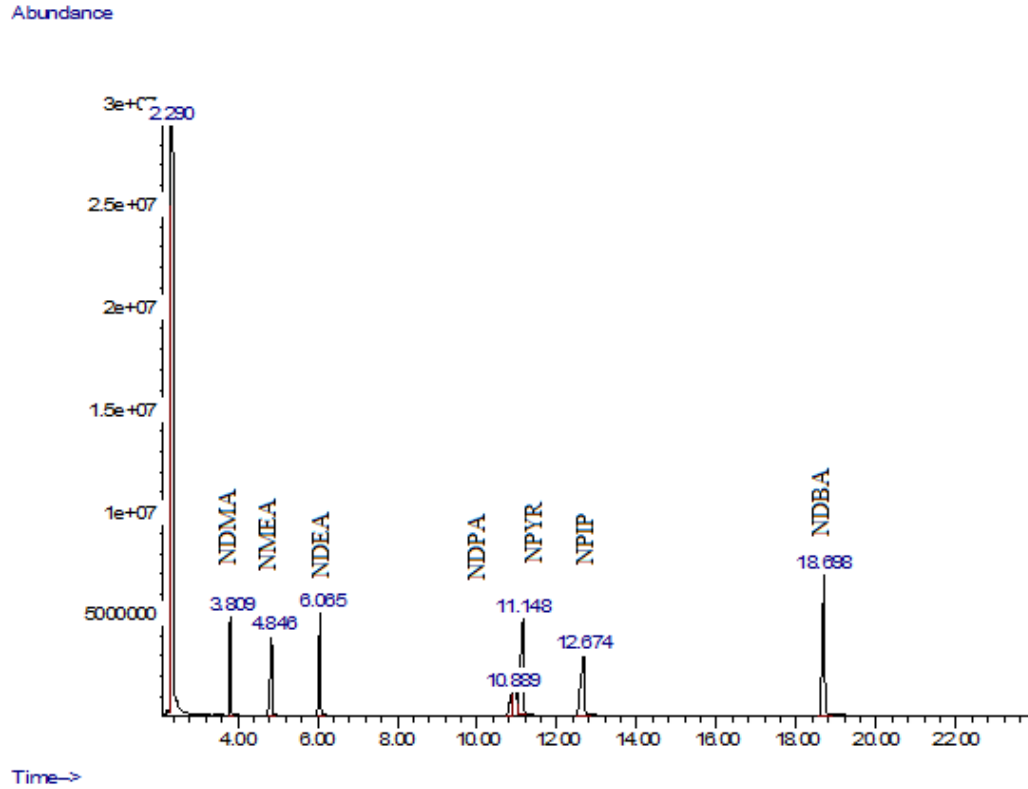
Tez çalışmasındaki iki farklı sosıs hamuru numunesi ve baharat karışımı numunesindeki nitrit - nitrat miktarı analizleri, Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) Marmara Araştırma Merkezi Gıda Enstitüsü tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu analizler için Schormüller (2013) nitrit ve nitrat analiz metodu kullanılmıştır.

Et ve Süt Kurumu'na ait su numunesindeki nitrit ve nitrat miktarı analizleri ise, Aksaray Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümü, Su Analizi Laboratuvarı'nda iyon kromatografi cihazı ile (Dionex / Thermo Scientific, ICS-1000, United States) ve SM 4110 B yöntemi (Standard Methods, 1992) ile gerçekleştirilmiştir.

2.2.4. GC-MS Analizi Metodunun Uyarlanması

Ekstrakte edilmiş sosıs numuneleri içerisindeki uçucu N-nitrozamin türevlerinin oluşum ve düzeyleri GC-MS cihazı ile analiz edildi. Bu amaçla Aksaray Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi Kromatografi Laboratuvarında bulunan ve çalışmada kullanılacak olan GC-MS analiz cihazı ile Yuan ve ark.'nın (2015) geliştirdiği yöntem kullanıldı. Bu amaçla metotta HP-5MS kolon (30 m, 0.25 mm I.D and 0.25 µm, Agilent, USA) tercih edildi. Bu yöntemle göre, GC fırın sıcaklık programı; 40 °C'da 1 dk bekletme, sonrasında dk'da 30 °C artarak 80 °C'ye getirildi. Bu işlemi takiben fırın sıcaklığı dk'da 2 °C daha arttırılarak 105 °C'ye gelmesi sağlanmış ve sonrasında fırın sıcaklığı dk'da 10 °C daha arttırılarak son değer olan 195 °C'ye ulaşmıştır.

Tez çalışmasında, her bir uçucu N-nitrozamin türevi için 2000 ppb düzeyinde daha önceden hazırlanan standart çözelti GC-MS cihazında belirlenen metot ile analize alındı. Şekil 2.27’de bu analiz metoduna göre elde edilen kromatogram verilmiştir.

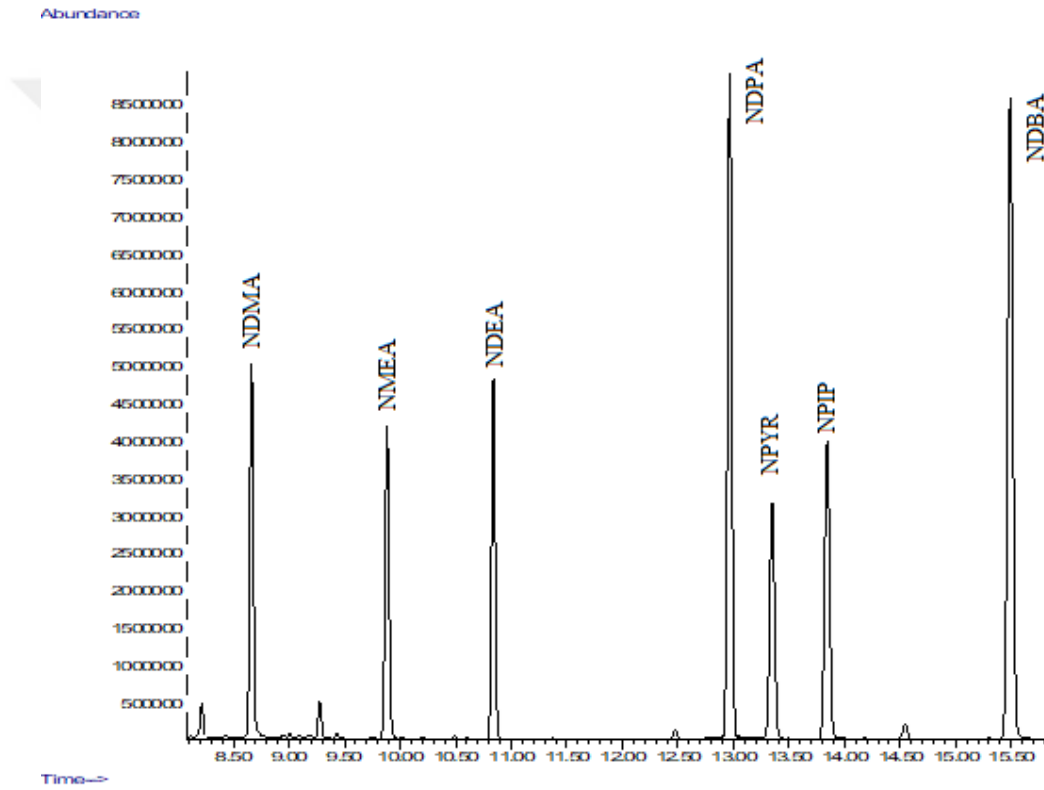


Şekil 2.27. Standart uçucu N-nitrozamin türevlerinin kromatogramı

Bu metoda göre yedi farklı uçucu N-nitrozamin türevi belirgin pikler olarak elde edildi ve kütüphane taraması ile molekül ağırlıkları ve isimleri doğrulandı.

Deneyssel olarak üretilecek olan sosislerin içerisindeki düşük düşük seviyelerde bulunabilen N-nitrozamin türevlerinin ölçümünü yapabilmek için standart madde ile daha düşük konsantrasyonlarda standart çözeltiler hazırlandı (100 ppb – 50 ppb – 25 ppb) ve denemelere devam edildi. Bu denemeler ile fırın, enjeksiyon bloğu, kolon gibi cihaz içerisindeki tüm birimlere ait parametreler farklı

kombinasyonlarda düzenlenerek, belirlenen konsantrasyonlardaki standart çözelti ile GC-MS analizleri gerçekleştirildi. Metoda uygun olarak kullanılan HP-5MS kolon ile standart maddenin düşük konsantrasyon dozunda pik alınamadığı tespit edildi. Bu durumun bir sonucu olarak kolonun değiştirilerek kalıntılar ile uçucu bileşenlerin analizinde kullanılan, DB624 kolon (30 m, 0.25 mm I.D and 1.40 μ m, Agilent, USA) ile denemelere başlandı. Şekil 2.28’de DB624 kolon ile yapılan denemeye ait kromatogram gösterilmektedir.



Şekil 2.28. Kolon DB624 ile yapılan denemeye ait kromatogram

Kromatogramda DB624 kolon ile ilk denemelerde yüksek pikler elde edildi. Denemeler sonucunda metot iyileştirilerek SCAN mod metodu tamamlandı. Hazırlanan yöntemin ayrıntıları Çizelge 2.3’de gösterilmektedir.

Çizelge 2.3. GC-MS metot parametreleri

Enjeksiyon Bloğu Özellikleri	Heater: 180 °C Pressure: 16.052 psi Septum Purge Flow: 3 mL/min Mode: Pulsed Splitless Injection Pulse Pressure: 70 psi / 1 min.
Kolon Özellikleri	Model; DB-624 Boyut; 30 m, 0.25 mm I.D and 1.40 µm Sıcaklık: Min: -20 °C Max: 260 °C Akış: 1,1591 mL/min Ortalama Hız: 26.644 cm/sec
Fırın Özellikleri	Başlangıç sıcaklığı-bekleme: 60 °C–2 dk Sıcaklık artış oranı: 20 °C/dk Sıcaklık-bekleme: 120 °C – 1 dk Sıcaklık artış oranı: 20 °C/dk Son sıcaklık-bekleme: 220 °C – 2 dk Toplam süre: 13 dk Post run: 260 °C Post run time: 6,9155 dk
Thermal Aux Özellikleri	Sıcaklık: 180 °C – 13 dk
MS Parametreleri	Solvent Delay: 5 dk Mod: SCAN Run Time: 13 dk

Metodun oluşturulmasından sonra aşağıdaki adımlar takip edildi;

- Belirlenen parametreler ile analizin tekrarlanabilirliğini teyit etmek için SCAN modda, 5 kere 10 ppb seviyesinde standart madde cihaza verildi ve aynı alıkonma zamanında (retention time= Rt) piklerin alındığı tespit edildi.
- Sonrasında piklere ait Rt ve parçalanma ürünleri kaydedildi. Bu veriler seçici iyon izleme (selected ion monitoring SIM) modun oluşturulması için kullanıldı.
- SCAN modda ortaya çıkan gürültülerden kurtulabilmek için SIM mod metodu hazırlandı.
- Kalibrasyon eğrileri çizildi ve metot validasyonu yapıldı.

2.2.4.1.GC-MS Analizi SIM mod metodu

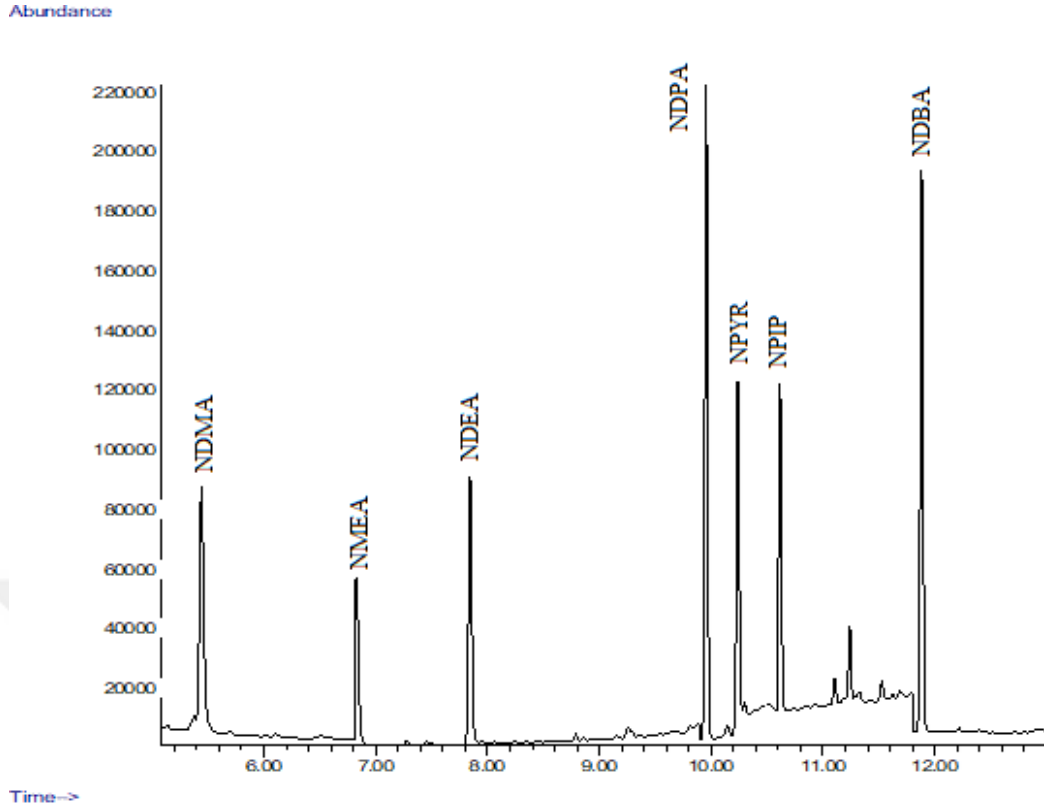
Oluşturulan SCAN mod metotdan elde edilen veriler ile aşağıdaki basamaklar takip edilerek SIM mod metodu oluşturuldu.

1. SCAN mod ile standart madde içerisindeki N-nitrozamin türevlerinin her birinin Rt'leri ve her maddeye ait parçalanma ürünleri tespit edildi. Buna göre her bir N-nitrozamin türevinin parçalanma ürünleri ve Rt'leri Çizelge 2.4.'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.4. Standart numune Rt ve parçalanma ürünleri

N-nitrozamin adı	Molekül Ağırlığı	Rt	Parçalanma Ürünleri
NDMA	74	5.441	74.1 / 84.0 / 86.0
NMEA	88	6.82	88.1 / 71.1 / 73.1
NDEA	102	7.839	102.1 / 71.1 / 73.1
NDPA	130	10.071	70.1 / 113.1 / 130.1
NPYR	100	10.426	100.1 / 71.1 / 85.1
NPIP	114	10.909	114.1 / 71.1 / 85.1
NDBA	158	12.664	84.1 / 99.1 / 116.1

2. Bu veriler ışığında GC parametreleri birebir aynı olmak şartıyla değişen MS parametreleri ile SIM modda, N-nitrozamin SIM mod metodu belirlendi.
3. Belirlenen konsantrasyonlarda standart maddeler hazırlandı (100 ppb, 75 ppb, 50 ppb, 25 ppb, 10 ppb, 5 ppb, 1 ppb, 0,5 ppb) ve GC-MS cihazında ölçümleri yapıldı. Şekil 2.29'da SIM modda 50 ppb standart maddeye ait kromatogram verilmiştir.



Şekil 2. 29. SIM mod 50 ppb kromatogramı

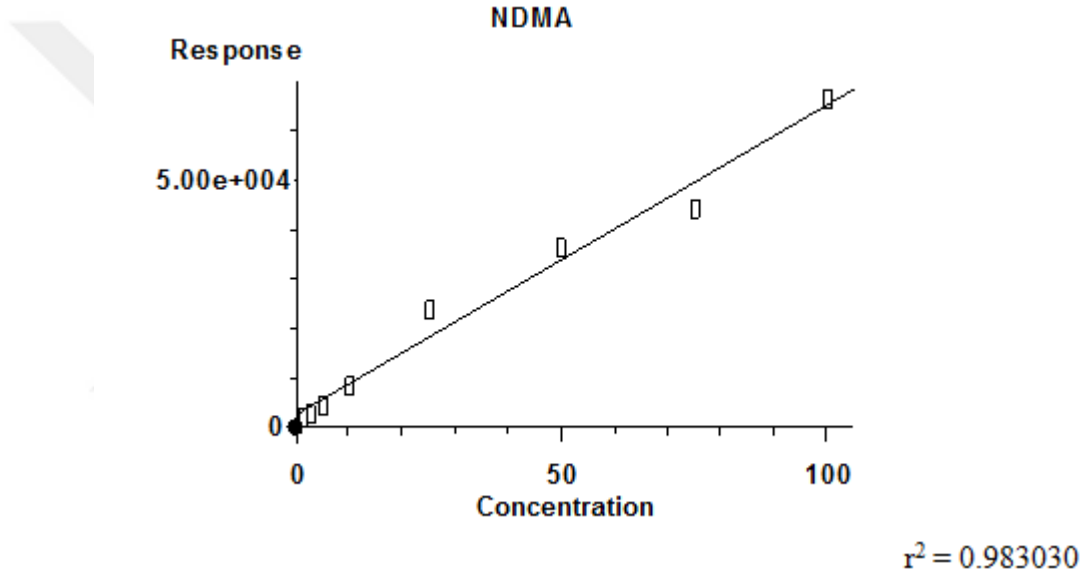
4. Elde edilen sonuçlar ile kalibrasyon eğrileri çizildi.
5. Metot validasyonunu yapıldı.

2.2.5. GC-MS Analiz Metodunun Validasyonu

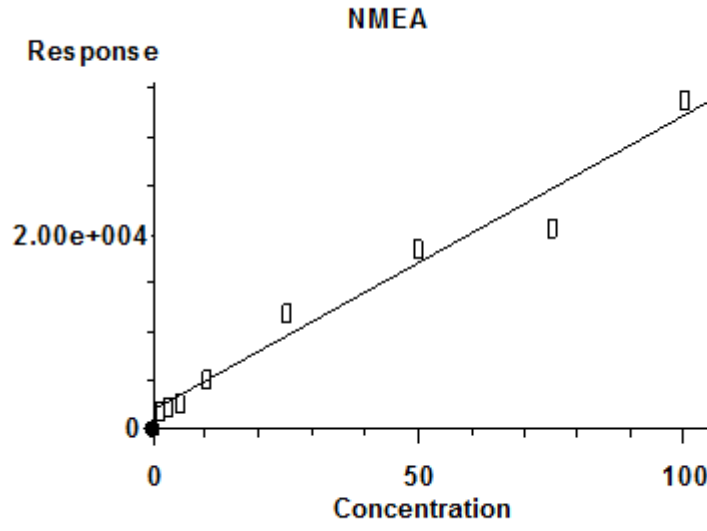
Uyarlanıp geliştirilen GC-MS metodunun validasyon çalışması Eurochem metot validasyonu aşamaları takip edilerek gerçekleştirilmiştir (Magnusson ve Örnemak, 2014).

2.2.5.1.Doğrusallık

Metodun belirlenmesi ile metot validasyonu çalışmaları gerçekleştirildi. Bu amaçla analizi yapılan uçucu N-nitrozamin türevlerine ait kalibrasyon eğrilerinin çizilebilmesi için belirlenen konsantrasyonlarda standart numunelerin ölçümleri gerçekleştirildi. Her bir N-nitrozamin türevine ait kalibrasyon eğrileri ile r^2 değerleri belirlendi. Buna göre numunelere ait kalibrasyon eğrileri Şekil 2.30 – 2.36 arasında gösterilmektedir.

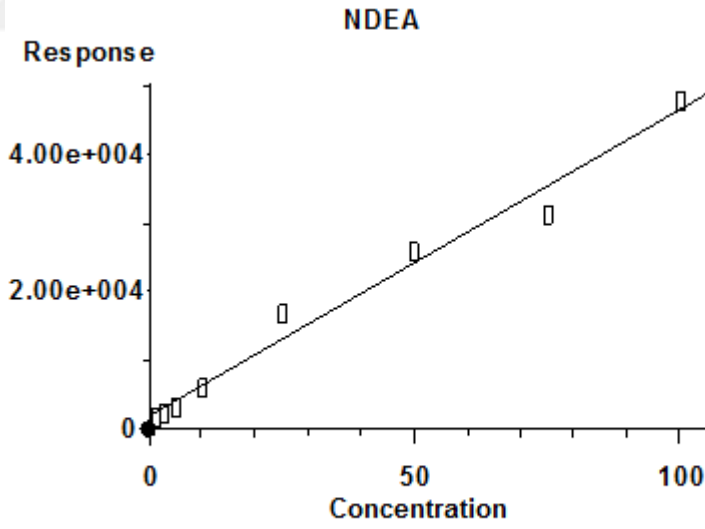


Şekil 2.30. NDMA Kalibrasyon Eğrisi



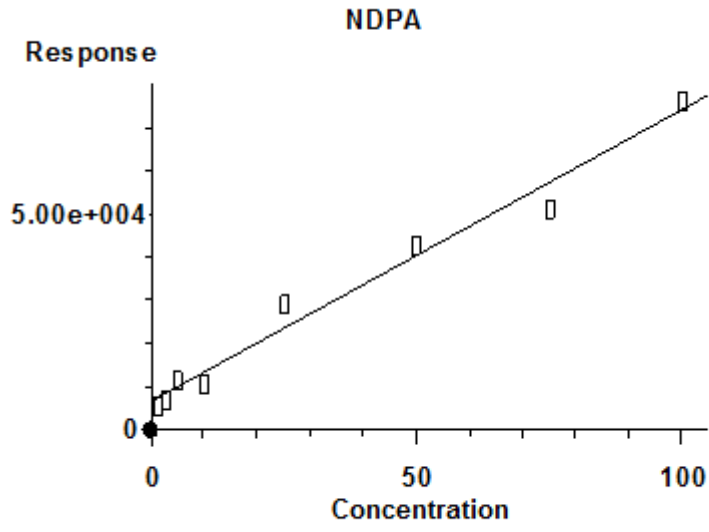
$$r^2 = 0.972287$$

Şekil 2.31. NMEA Kalibrasyon Eğrisi



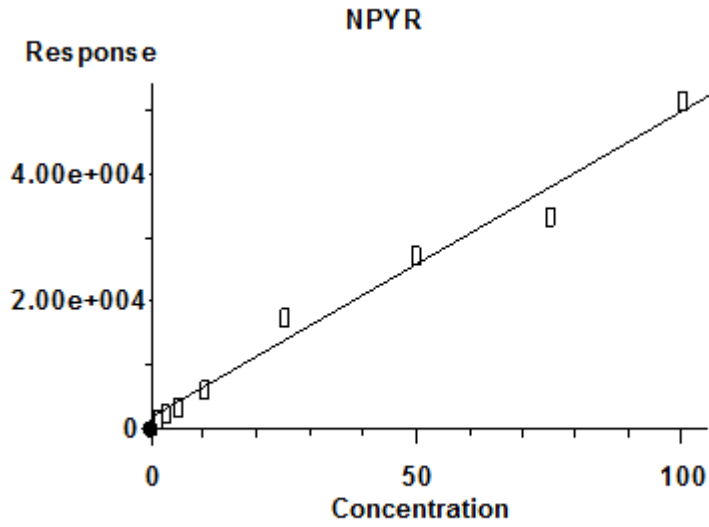
$$r^2 = 0,981711$$

Şekil 2.32. NDEA Kalibrasyon Eğrisi



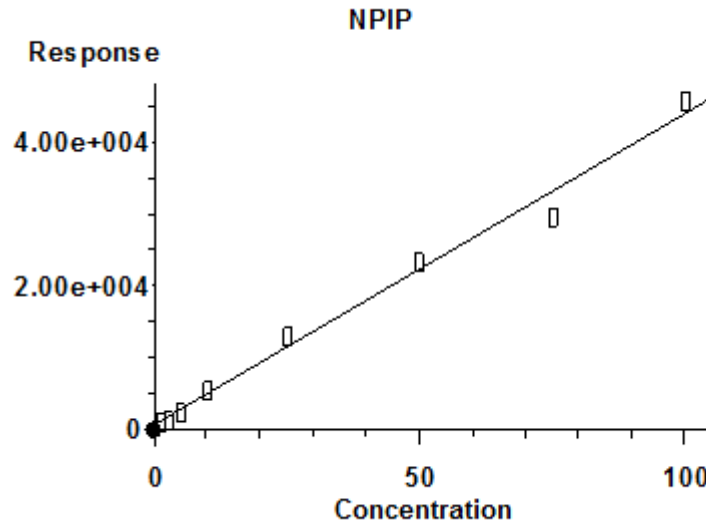
$$r^2 = 0,979911$$

Şekil 2.33. NDPA Kalibrasyon Eğrisi

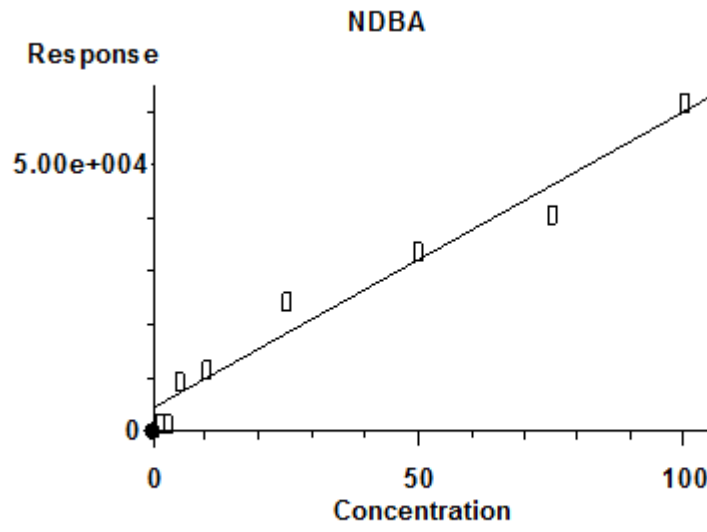


$$r^2 = 0,983214$$

Şekil 2.34. NPYR Kalibrasyon Eğrisi



Şekil 2.35. NPIP Kalibrasyon Eğrisi



Şekil 2.36. NDBA Kalibrasyon Eğrisi

Bu işlem sonucunda kalibrasyon eğrileri oluşturulan standart maddeler ile geliştirilen SIM metodun yüksek r^2 değerleri ($\leq 0,967$) ile lineer kalibrasyon eğrileri elde edildi. Böylelikle validasyon çalışmasının doğrusallık aşaması tamamlanmış oldu.

2.2.5.2.Tayin Limiti (LOD) ve Ölçüm Limiti (LOQ) Belirlenmesi

Doğrusallık çalışmasını takiben LOD ve LOQ değerlerinin belirlenmesi aşamasına geçildi. LOD değeri, metodun, tayin edebildiği en düşük konsantrasyon değerini temsil etmektedir. Bunu hesaplamak için cihaza, sıfıra yakın çok düşük seviyede standart çözelti okutuldu. LOD değeri bu analizin tekrarlanabilirlik standart sapma değerinin 3 katı alınarak hesaplanırken LOQ değeri ise yine standart sapma değerinin 10 katı alınarak belirlendi.

Bu çalışma için 0,1 - 0,2 – 0,3 – 0,4 – 0,5 ppb şeklinde farklı konsantrasyonlar denenerek her bir N-nitrozamin türevi için en düşük ölçüm yapılabilen konsantrasyon tespit edildi. Belirlenen bu konsantrasyonda her bir madde için ayrı ayrı on kez ölçümler tekrarlanarak yapıldı. Tekrarlanabilirlik deneyleri sonucunda bulunan standart sapma değerleri aşağıdaki eşitlikler sayesinde LOD ve LOQ değerlerinin bulunması sağlandı. Çizelge 2.6.'da tüm N-nitrozamin türevlerine ait LOD, LOQ değerleri verilmiştir.

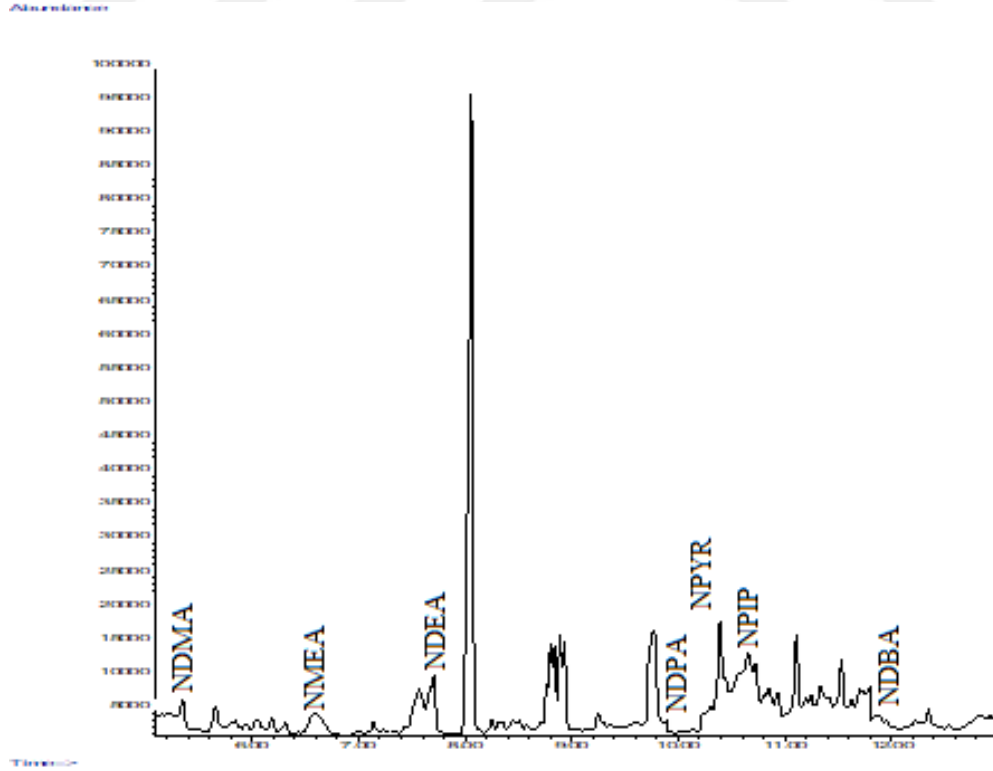
$$\text{LOD} = 3 \times \text{STANDART SAPMA}$$

$$\text{LOQ} = 10 \times \text{STANDART SAPMA}$$

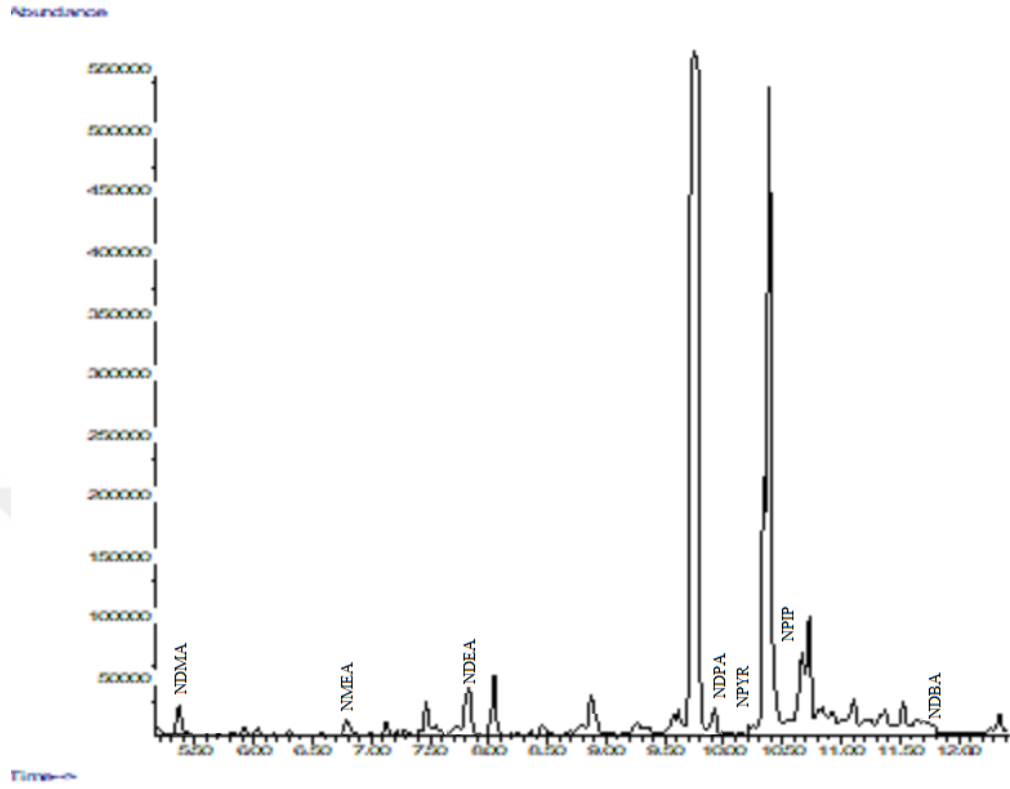
2.2.5.3.Geri Kazanım Çalışması

Tez çalışmasında LOD ve LOQ değerleri belirlendikten sonra metod validasyonunun tamamlanması için geri kazanım çalışmasına geçildi. Bu amaçla öncelikle kör numuneden ekstraksiyon yapıldı ve numune içerisindeki nitrozamin seviyesi belirlendi. Sonrasında kör numune 2 ppb, 4 ppb ve 6 ppb standart madde ile zenginleştirildi ve ölçümler tekrarlandı. Şekil 2. 37’de kör numuneye ait kromatogram, Şekil 2.38’de ise 2 ppb standart madde ile zenginleştirilmiş spike numunesine ait kromatogram gösterilmektedir.

Geri kazanım çalışmasında metodun uygun hale gelmesini takiben kör numune ve zenginleştirilmiş numuneler 10’ar defa analiz edilerek, geri kazanım aşaması tamamlandı. Çizelge 2.5.’de N-nitrozamin türevlerine ait geri kazanımlar verilmiştir.



Şekil 2.37. Kör numuneye ait kromatogram



Şekil 2.38. Standart madde ile zenginleştirilen numuneye ait kromatogram

Çizelge 2.5. Uçucu N-nitrozamin türevleri için geri kazanım çalışması verileri

Nitrozamin	Katılan miktar (ppb)	Mevcut miktar (ppb)	Bulunan miktar (ppb)	Geri kazanım (%)	Ortalama geri kazanım (%)
NDMA	2	1,29	2,72	82,67	87,70
	4	1,29	4,54	85,90	
	6	1,29	6,89	94,54	
NMEA	2	1,43	3,10	90,41	92,90
	4	1,43	4,85	89,32	
	6	1,43	7,22	98,95	
NDEA	2	1,46	3,04	87,75	90,02
	4	1,46	4,76	87,22	
	6	1,46	7,1	95,08	
NDPA	2	1,79	3,14	82,96	87,44
	4	1,79	5,10	88	
	6	1,79	7,12	91,35	
NPYR	2	1,59	3,33	92,81	94,5
	4	1,59	5,27	94,2	
	6	1,59	7,33	96,56	
NPIP	2	1,38	3,18	94,2	93,90
	4	1,38	4,95	92,03	
	6	1,38	7,04	95,37	
NDBA	2	1,16	2,69	85,25	95,82
	4	1,16	4,28	102,82	
	6	1,16	7,12	99,4	

2.2.5.4. Ölçüm Tekrarlanabilirliği

Geri kazanım çalışmasının tamamlanması ile metot validasyonu çalışmalarının son basamağı olan ölçüm tekrarlanabilirliği aşamasına geçildi. Ölçüm tekrarlanabilirliğini sağlamak amacı ile standart maddeden 50 ppb hazırlandı ve 10 defa arka arkaya aynı metot ile 50 ppb standart maddenin ölçümü sağlanarak sonuçlar kaydedildi. Yöntem validasyonuna ilişkin doğrusallık, LOD, LOQ, geri kazanım ve tekrarlanabilirliğe ilişkin sonuçlar Çizelge 2.6. 'da verilmiştir.

Çizelge 2.6. Yöntem validasyonuna ait veriler

Nitrozamin	Kalibrasyon aralığı (µg/L)	Doğrusallık (r^2)	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)	Geri kazanım (%)	Tekrarlanabilirlik (%RSD)
NDMA	0,5 - 100	0.983030	0.11	0.36	87.70	3.5342
NMEA	0,5 - 100	0.972287	0.12	0.40	92.90	2.0331
NDEA	0,5 - 100	0.981711	0.11	0.37	90.02	8.1090
NDPA	0,5 - 100	0.979911	0.10	0.32	87.44	5.0704
NPYR	0,5 - 100	0.983214	0.06	0.21	94.5	3.4497
NPIP	0,5 - 100	0.989461	0.17	0.56	93.9	4.5262
NDBA	0,5 - 100	0.967297	0.08	0.26	95.82	5.0957

2.2.6. İstatistikî Analiz Metodu

Tüm örneklerle ait verilerin istatistikî analizi için SPSS (Statistical Package for the Social Science) 15.0 lisanslı programı kullanılarak, verilere One Way ANOVA ve 3^3 deney tasarımı uygulandı, verilerin normal dağılıma uygun olduğu da Q-Q plot grafikleri çizilerek görüldü. İki tekerrür üç paralelli gerçekleştirilen çalışmada 276 (n=276) örneğin, üretim süreci (1.formülasyon, 2.formülasyon), pişirme (kızartma, haşlama, ızgara, mikrodalga) ve ambalaj (vakum – MAP) şekli ile muhafaza süresi (7., 15., 30., 60., 90. günler) aşamalarındaki yedi farklı uçucu N-nitrozamin düzeyi ve süreçler ile ilişkisi analiz edildi.

3. BULGULAR

Bu tez çalışmasının deneysel sosis üretimi Ankara Et ve Süt Kurumu Sincan Et Kombinası'nda gerçekleştirildi. Tez çalışmasında ticari sosis üretiminde, risk oluşturan ve IARC tarafından muhtemel kanserojen olarak tanımlanan uçucu N-nitrozamin türevlerinin (NDMA, NDBA, NDPA, NMEA, NDEA, NPYR, NPIP), düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

3.1.Nitrat-Nitrit Analizi Sonuçları

Uçucu N-nitrozamin oluşumuna nitrat – nitrit varlığının etki ettiği bilinmektedir. Bu açıdan öncelikle başlangıç hammaddelerinin (ana bileşenler) nitrit – nitrat düzeyleri saptanmıştır. İlk olarak iki farklı seviyede (500 ppm – 1000 ppm) askorbik asit ilave edilerek oluşturulan ticari sosis hamurunun (1.formülasyon ve 2.formülasyon) bileşenleri; et ve yağ karışımı, baharat karışımı ve su numunelerindeki nitrat-nitrit düzeyleri belirlendi. Çizelge 3.1.'de ana bileşenlere ait nitrit ve nitrat düzeyleri mg/kg ve mg/L olarak verilmiştir. Yapılan analiz sonuçlarına göre düşük düzeylerde hammaddelerden nitrit ve nitrat bulaşımı görülmüştür.

Çizelge 3.1. Başlangıç nitrat-nitrit düzeyleri

Ana bileşenler	Nitrit Düzeyi	Nitrat Düzeyi
1. formülasyona ait sosis hamuru	11.35 mg/kg	32.95 mg/kg
2. formülasyona ait sosis hamuru	5.68 mg/kg	53.14 mg/kg
Su	0,0191 mg/L	6,2787 mg/L
Baharat karışımı	Tespit edilemedi	648.26 mg/kg

3.2. Ticari Sosislerdeki Uçucu N-nitrozamin Analizi Sonuçları

Bu tez çalışmasında, 7 (yedi) farklı uçucu N-nitrozamin türevinin, üretim aşamalarında, farklı pişirme şekli, muhafaza süreci ile vakum ve MAP ambajlamadan sonra alınan numunelerdeki düzeyleri belirlendi.

Deneysel çalışmanın, belirlenen 7 uçucu N-nitrozamin türevinin analizleri, 4 aşama ile gerçekleştirildi;

1. Aşama; Üretim boyunca uçucu N-nitrozamin oluşumu ve düzeyi tespiti
2. Aşama; Farklı ambalajlara (vakum – MAP) bağlı olarak uçucu N-nitrozamin oluşumu ve miktarı tespiti
3. Aşama; Depolama süresi boyunca uçucu N-nitrozamin oluşumu ve miktarı tespiti
4. Aşama; Tüketim öncesi pişirme yöntemine (haşlama, kızartma, mikrodalga, ızgara) bağlı olarak uçucu N-nitrozamin türevlerinin oluşumu ve miktarının tespiti

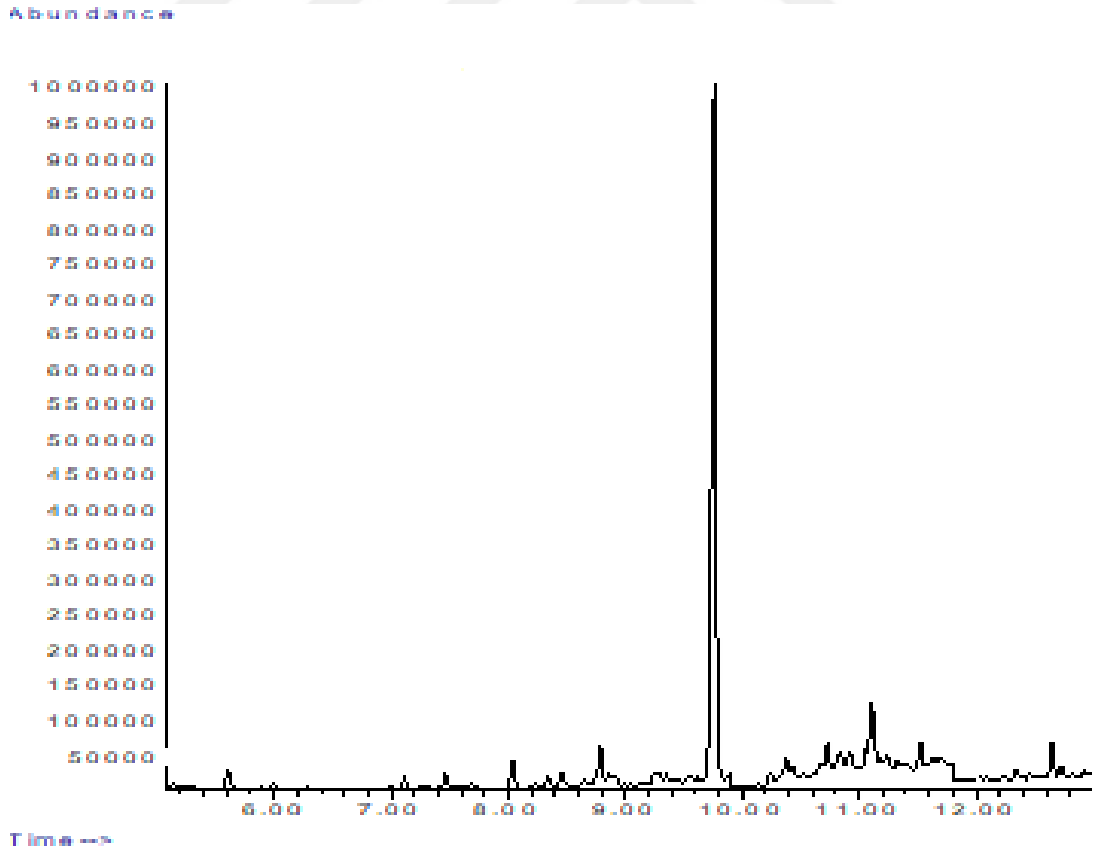
3.2.1. Üretim Hattı Uçucu N-nitrozamin Analizi Sonuçları

Tez çalışmasının 1. Aşaması, üretim boyunca belirlenen 7 farklı uçucu N-nitrozamin türevinin oluşumu ve düzeyinin belirlenmesine yönelik olmuştur. Analizlerin bu aşamasında her iki formülasyonla üretimde de,

- Ön ısıtım işlem (1. Isıtım işlem uygulaması; 55 °C’de, 24 dk),

- Dumanlama işlemi (2. ısıt işlem uygulaması; 60 °C sıcaklıkta 16 dk),
- Haşlama aşaması (3. ısıt işlem uygulaması; %100 nem varlığı ile 70 °C’de 8 dk)
- Isıt işlem (4. ısıt işlem uygulaması; 75 °C’de 15 dk) sonrasında alınan numunelerde 7 farklı uçucu N-nitrozamin türevlerinden hiçbiri saptanmamıştır.

Bu durum Şekil 3.1’de üretimin ön ısıt işlem aşaması olan kurutma işlemi (55 °C – 24 dk) sonrasında alınan numuneye ait GC-MS kromatogramında da görülmektedir. Kromatogramda belirlenen uçucu 7 N-nitrozamin türevine ait pikler oluşmamıştır.



Şekil 3.1. Ön ısıt işlem aşamasını (55 °C – 24 dk) takiben üretim hattından alınan numunelere ait kromatogram

Ancak, ambalajlama aşaması öncesinde uygulanan son ısıt işlem (5. Isıt işlem uygulaması; %100 nem altında 75 °C’de 12 dk) sonrası iki formülasyonla üretim sürecine ait numunelerde de uçucu N-nitrozamin türevlerinden bazılarına rastlanmıştır.

Analizler sonucu, 1. formülasyonla üretimin son ısıt işlemini takiben sosis örneklerinde NMEA 2,53 ppb, NDEA 1,48 ppb, NPIP 0,73 ppb, NDBA 0,48 ppb ve NDPA 0,40 ppb, düzeylerinde saptanırken, 2. formülasyonla üretimin son ısıt işlemi sonrasında alınan sosis örneklerinde ise NMEA 0,47 ppb, NDPA 0,39 ve NDEA 0,14 ppb düzeylerinde saptanmıştır.

İkinci formülasyonla üretimde NDMA, NPYR, NPIP ve NDBA’nın ise LOD (Limit of Detection) değeri altında kaldığı tespit edilmiştir. NMEA, NDEA, NPIP ve NDBA uçucu N-nitrozamin türevleri ile askorbik asit miktarı arasında anlamlı bir ilişki bulunduğu da görülmüştür ($P<0,05$). Ayrıca üretim sürecine askorbik asitin etkisi ise Çizelge 3.2.’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Üretim sürecinde askorbik asitin etkisi

*P değeri	NMEA	NDEA	NPIP	NDBA	NDPA	NDMA	NPYR
5.ısıt işlem sonrası	,000	,002	,000	,000	,128	-	-

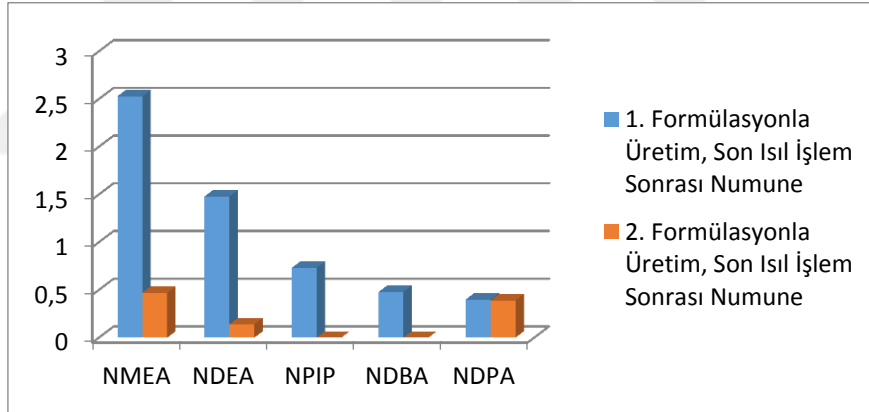
* $P<0,05$ düzeyinde anlamlı

Diğer yandan her iki formülasyonla üretimde de NDMA ve NPYR’nin üretim süreci içerisinde oluşumunun LOD seviyesi altında kaldığı görülmüştür. NDBA oluşumu ise 2. formülasyonla daha düşük seviyelerde seyretmekle beraber her iki

formülasyonda yakın düzeylerde tespit edilmiştir. Çizelge 3.3.'de 5. ısıt işlem sonrası sosıs hamuruna ait sonuçlar verilmiştir. Şekil 3.2.'de ise son ısıt işlemde oluşan uçucu N-nitrozamin türevleri ve seviyeleri grafik olarak verilmiştir.

Çizelge 3.3. 5. Isıt işlem (%100 nem altında 75 °C'de 12 dk) sonrası sosıs numunelerinin uçucu N-nitrozamin türevleri seviyeleri

Uçucu N-nitrozamin	n	5. Isıt işlem sonrası sosıs hamuru nitrozamin seviyesi (ppb)	
		1. formülasyon	2. formülasyon
NMEA	12	2.53	0.47
NDEA	12	1.48	0.14
NPIP	12	0.73	<LOD
NDBA	12	0.48	<LOD
NDPA	12	0.40	0.39
NDMA	12	<LOD	<LOD
NPYR	12	<LOD	<LOD



Şekil 3.2. 5. Isıt işlem uygulaması (%100 nem altında 75 °C'de 12 dk) sonrası sosıs numuneleri uçucu N-nitrozamin türevleri seviyeleri (ppb)

Tez çalışmasının üretim (1. aşama) analizlerinden sonra, analizlerin 2. ve 3. aşamaları olan ambalajlama ve muhafaza sürecine bağlı olarak uçucu N-nitrozamin oluşumu, bu oluşumun seviyeleri ve askorbik asidin bu duruma etkileri açısından incelendi.

Bu amaçla her iki askorbik asit seviyesinde (1.formülasyon – 2.formülasyon) üç tekrarlı üretilen ve iki farklı ambalaj (vakum – MAP) ile depolanan (4 °C – buzdolabında) sosis numunelerinden 0. gün kontrol grubu olmak üzere belirlenen periyotlarla (7. gün, 15. gün, 30. gün, 60. gün, 90. gün) raf ömrü süresince numune toplanarak analiz edildi. Bu amaçla 144 adet numune üç ay süren periyotta incelendi.

Numunelerin muhafazasına ait ilk hafta ve son gün analizi sonuçları incelendiğinde bazı uçucu N-nitrozamin türevlerinin ilk haftada oluşmadığını ancak zaman ilerledikçe oluştuğunu ve oluşanların seviyelerinde de artış olduğu görülmüştür.

3.2.2. MAP Ambalajlı Numunelerin Uçucu N-nitrozamin Analizi Sonuçları

Çalışmanın bulgularına göre MAP ambalaj altında muhafazanın ilk haftasında 1. formülasyonla üretilen sosislere NDMA ve NDBA oluşmazken, muhafazanın son gününde NDBA 2,79 ppb ve NDMA 1,23 ppb seviyelerinde meydana gelmiştir. Tüm depolama sürecinde MAP ambalaj içerisinde en yüksek seviyede 90. günde 1. formülasyonla üretilen sosislerin NDEA değerinde 10,3 ppb ölçülürken en düşük seviyede ölçüm ise 2. formülasyonla üretilen, birinci haftanın sonundaki sosislere ait NMEA değerinde 0,20 ppb olmuştur.

Ayrıca MAP ambalajla muhafaza süresinin son günündeki sosislere 1. formülasyonla üretimde ortalama 10,3 ppb NDEA, 9,87 ppb NPIP, 7,4 ppb NMEA, 2,79 ppb NDBA, 2,22 ppb NPYR, 1,74 ppb NDBA ve 1,23 ppb NDMA oluşmuştur.

Depolamanın son gününde tüm uçucu N-nitrozamin türevlerinin her iki üretimde de oluştuğu görülürken, 2.formülasyonla üretimde askorbik asit etkisiyle tüm türevler için ortalama değerlerin düştüğü görülmüştür.

Muhafaza sürecinde MAP ambalaja ait veriler detaylı incelendiğinde, MAP ambalaj içerisinde oluşumlarda ilk hafta içerisinde NDMA ve NDBA, LOD seviyesinin altında kalırken NMEA, NDEA, NDPA, NPYR ve NPIP’in her iki formülasyonda da meydana geldiği görülmüştür. Ancak bu oluşumlarda NMEA, NDEA, NDPA ve NPYR’nin, askorbik asit miktarı artışı ile beraber anlamlı şekilde seviyeleri düşmüştür ($P<0,05$).

NDMA ve NDBA her iki formülasyonda da ilk hafta içerisinde oluşmazken, NPIP oluşumu her iki formülasyonda da benzer düzeylerde seyretmiştir. Çizelge 3.4.’de de MAP ambalaj içerisindeki numunelerin muhafaza süresinin 7. günündeki istatistiki sonuçları verilmiştir.

Çizelge 3.4. MAP ambalaj içerisinde depolama sürecinin 7. gününe ait uçucu N-nitrozamin miktarları

Nitrozamin	n	MAP ambalaj 7. gün nitrozamin seviyesi (ppb)	
		1.formülasyon	2.formülasyon
NMEA	12	1.71	0.20
NDEA	12	1.41	1.02
NPIP	12	1.35	1.39
NPYR	12	1.23	0.48
NDPA	12	0.59	0.41
NDMA	12	<LOD	<LOD
NDBA	12	<LOD	<LOD

* $P<0,05$ düzeyinde anlamlı

Muhafazanın MAP ambalaj içerisindeki 15. günü değerlendirildiğinde ise en yüksek seviyede 1. formülasyonla üretilen sosislerin NPIP değerinde 2,6 ppb olarak

ölçülmüştür. Ölçülebilen en düşük seviye ise NDPA değerinde meydana gelmiş ve 0,37 ppb olarak kaydedilmiştir. MAP ambalaj içerisinde muhafazanın 15. gününde 1. formülasyonla üretilen numunelerde NDMA hariç tüm uçucu N-nitrozamin türevlerinin oluştuğu da görülmüştür. Bu türevler sırasıyla NPIP 2,6 ppb, NMEA 2,21 ppb, NPYR 1,98 ppb, NDEA 1,5 ppb, NDBA 0,87 ppb ve NDPA 0,61 ppb seviyesinde ölçülmüştür.

Ayrıca ikinci formülasyonla üretilen sosislerin ise MAP ambalaj içerisinde muhafazanın 15. gününde oluşum miktarları sırasıyla, NPIP 2,25 ppb, NDEA 1,23 ppb, NMEA 0,85 ppb, NPYR 0,83 ppb ve NDPA 0,37 ppb olarak belirlenmiştir. İkinci formülasyonla, 1.formülasyon ile oluşan NDBA'nın ise hiç oluşmadığı görülmüştür. Bu verilere ek olarak oluşan tüm N-nitrozaminler ile askorbik asit seviyesi arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir ($P<0,05$). Çizelge 3.5.'de 15 gün sonunda MAP ambalaj içerisindeki numunelerin uçucu N-nitrozamin sonuçları verilmiştir.

Çizelge 3.5. MAP ambalaj içerisinde depolama sürecinin 15. gününe ait uçucu N-nitrozamin miktarları

Nitrozamin	n	MAP ambalaj 15. gün nitrozamin seviyesi (ppb)	
		1.formülasyon	2.formülasyon
NPIP	12	2.6	2.25
NMEA	12	2.21	0.85
NPYR	12	1.98	0.83
NDEA	12	1.5	1.24
NDBA	12	0.87	<LOD
NDPA	12	0.61	0.37
NDMA	12	<LOD	<LOD

Çalışmanın muhafaza sürecinde 30. Gün bulguları değerlendirildiğinde ise MAP ambalaj içerisinde muhafaza edilen sosislerin 30. Günün sonunda uçucu N-nitrozamin seviyelerinde değişkenlik de görülmüştür. NDMA, ilk defa 30. günde meydana gelirken, seviyesi 1.formülasyonla üretimde ortalama 0,92 ppb,

2.formülasyonla üretimde ise ortalama 0,40 ppb olarak ölçülmüştür. 30 gün itibariyle en yüksek oluşum 1.formülasyonla üretilen sosisin NPIP değerinde 3,41 ppb olarak ölçülürken en düşük seviye ise 2.formülasyonla üretilen sosisin NDMA değerinde 0,40 ppb olarak tespit edilmiştir.

Ayrıca muhafazanın 30. gününde askorbik asit ile NDMA, NMEA, NDPA, NPYR, NPIP ve NDBA arasında istatistiki olarak anlamlı bir ilişki bulunmaktadır ($P<0,05$). Çizelge 3.6.'da 30 gün sonunda MAP ambalaj içerisindeki numunelerin uçucu N-nitrozamin sonuçları verilmiştir.

Çizelge 3.6. MAP ambalaj içerisinde depolama sürecinin 30. gününe ait uçucu N-nitrozamin miktarları

Nitrozamin	n	MAP ambalaj 30. gün nitrozamin seviyesi (ppb)	
		1.formülasyon	2.formülasyon
NPIP	12	3.41	2.84
NPYR	12	2.72	2.10
NMEA	12	2.27	0.88
NDEA	12	1.58	1.23
NDBA	12	1.04	0.64
NDMA	12	0.92	0.40
NDPA	12	0.59	1.0

Çalışmanın bulgularına göre MAP ambalaj içerisinde muhafaza edilen sosislerin 60 gün muhafazasında ise tüm uçucu N-nitrozamin türevlerinin oluştuğu görülmektedir. Bu muhafaza gününde en yüksek seviyede 1. formülasyonla üretilen sosislerin NMEA değeri 7,1 ppb olarak ölçülürken en düşük seviyede oluşum ise 0,62 ppb ile NDMA türevinde meydana gelmiştir.

Muhafazanın 60. gününde uçucu N-nitrozamin oluşumunun askorbik asit ile ilişkisi değerlendirildiğinde ise NDMA, NMEA, NDEA, NDPA, NPIP ve NDBA'nın istatistiki olarak anlamlı bir şekilde askorbik asit miktarı arttıkça daha düşük

seviyelerde meydana geldikleri görülmektedir ($P<0,05$). Özellikle NDEA, NMEA ve NPIP oluşumu ve askorbik asit miktarı arasında kuvvetli bir ilişki olduğu ($P<0,05$), miktarlarının büyük ölçüde düştüğü tespit edilmiştir. Çizelge 3.7.'de 60 gün sonunda MAP ambalaj içerisindeki numunelerin sonuçları verilmiştir.

Çizelge 3.7. MAP ambalaj içerisinde depolama sürecinin 60. gününe ait uçucu N-nitrozamin miktarları

Nitrozamin	n	MAP ambalaj 60. gün nitrozamin seviyesi (ppb)	
		1.formülasyon	2.formülasyon
NMEA	12	7.1	1.13
NDEA	12	5.02	1.44
NPIP	12	3.5	4.02
NDBA	12	3.35	2.42
NPYR	12	2.63	1.62
NDMA	12	0.90	0.62
NDPA	12	0.73	0.95

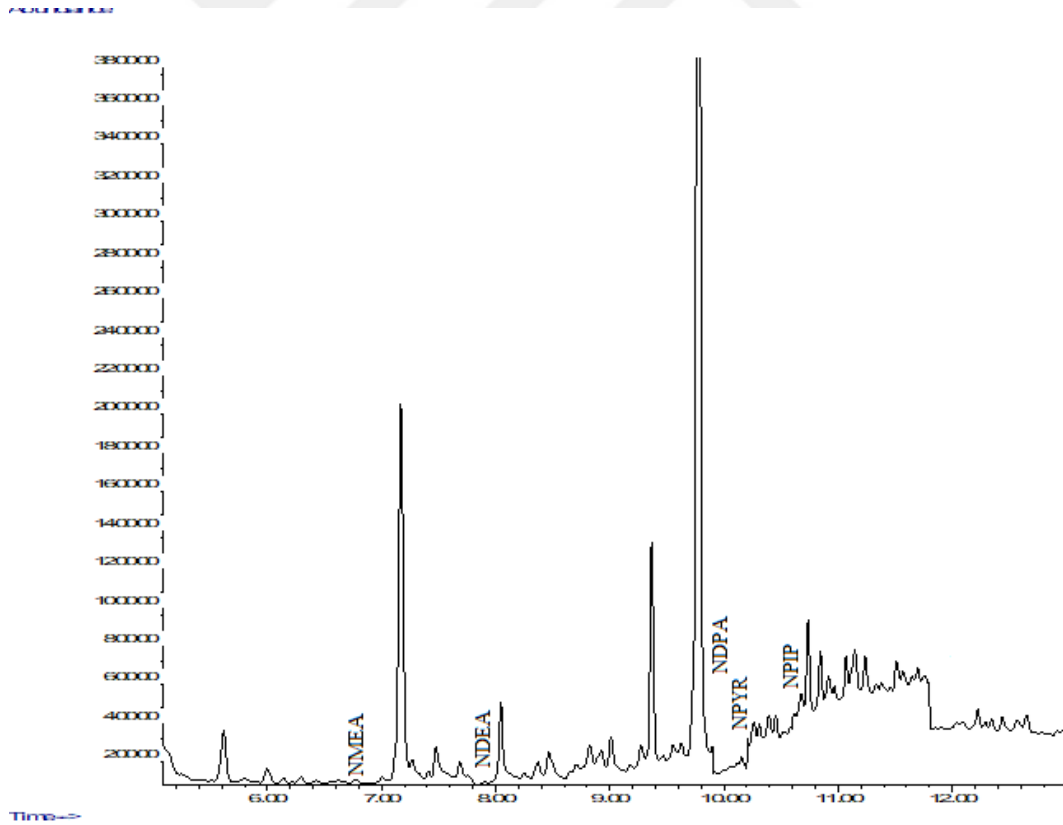
Çalışmanın bulgularına göre MAP ambalaj ile muhafazanın son günü olan 90. günde ise tüm uçucu N-nitrozamin türevlerinin her iki formülasyon içinde de meydana geldiğini söylemek mümkündür. Özellikle NDEA 10,3 ppb ve NPIP 9,87 ppb türevlerinin 60. gün sonrasında hızla arttığını ve yüksek seviyede oluştuğu görülmüştür.

Bunlara ek olarak muhafazanın son gününde ölçülebilen en düşük değer 2. formülasyon ile üretilen numunelerin NDPA değerinde 1,02 ppb olarak tespit edildi. Genel anlamda muhafaza süresi boyunca MAP ambalaj içerisinde uçucu N-nitrozaminlerin oluştuğu ve zaman ilerledikçe seviyelerinin yükseldiği tespit edilmiştir. Çizelge 3.8.'de 90 gün sonunda MAP ambalaj içerisindeki numunelerin uçucu N-nitrozamin sonuçları verilmiştir.

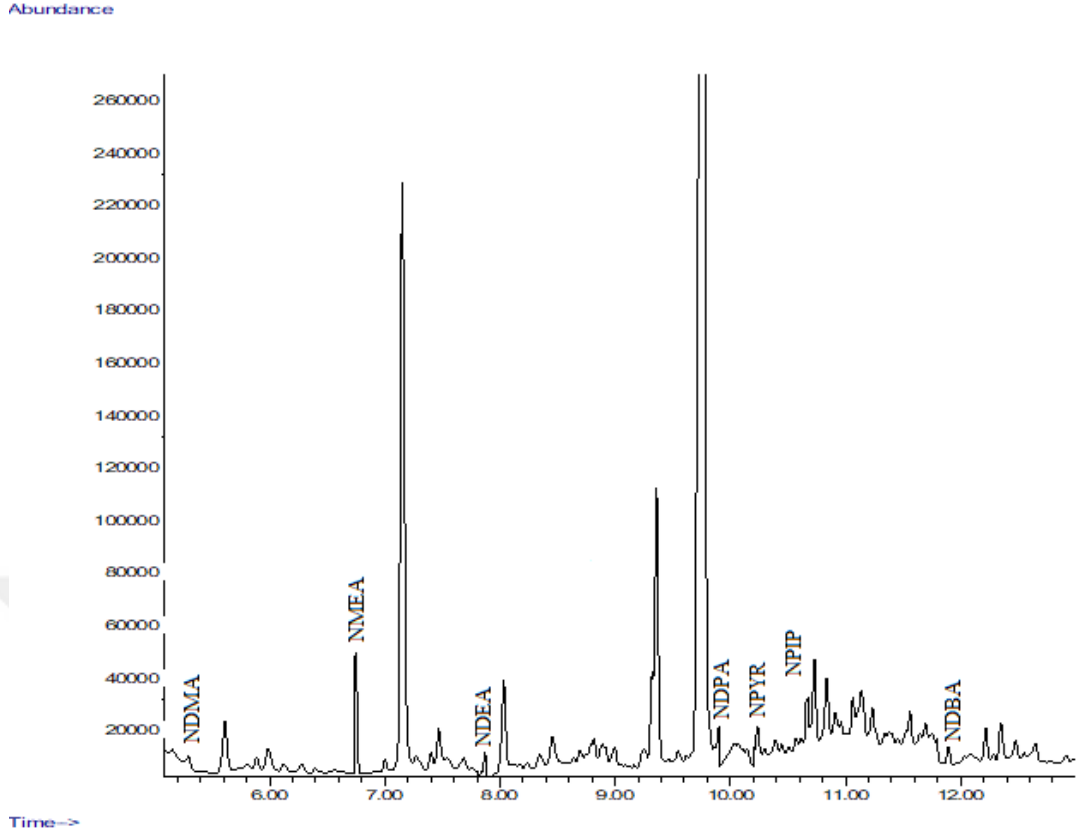
Çizelge 3.8. MAP ambalaj içerisinde depolama sürecinin 90. gününe ait uçucu N-nitrozamin miktarları

Nitrozamin	n	MAP ambalaj 90. gün nitrozamin seviyesi (ppb)	
		1.formülasyon	2.formülasyon
NDEA	12	10.3	9.44
NPIP	12	9.87	5.23
NMEA	12	7.4	3.8
NDBA	12	2.79	2.57
NPYR	12	2.22	1.88
NDMA	12	1.23	1.1
NDPA	12	1.74	1.02

MAP ambalaj içerisindeki numunelerin muhafaza süreci içerisindeki değişimlerini gösteren 7. ve 90. güne ait kromatogramlar da Şekil 3.3. ve Şekil 3.4.'de verilmiştir.

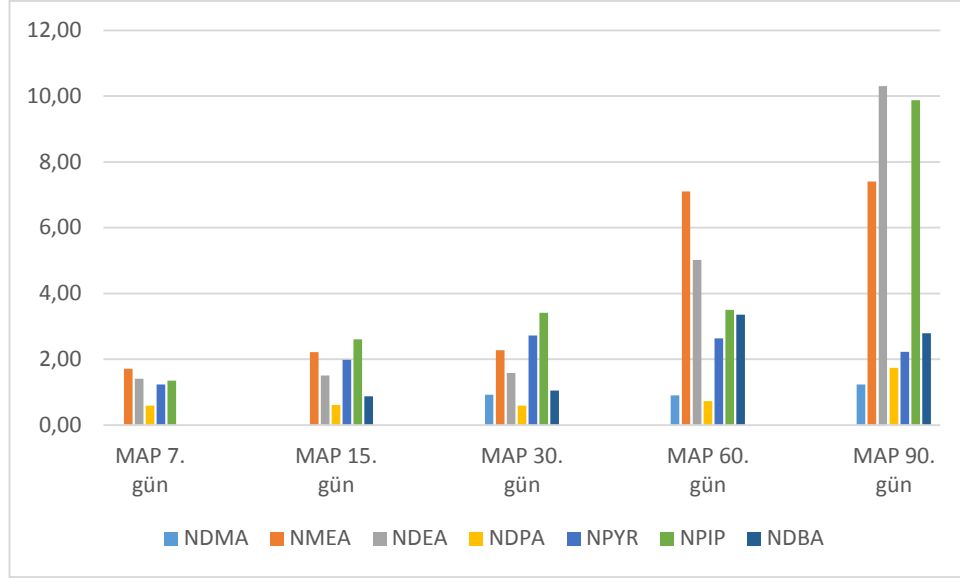


Şekil 3.3. MAP ambalaj içerisindeki 1. formülasyonla üretilen sosislerin depolama sürecinin ilk haftasına (7. Gün) ait kromatogram

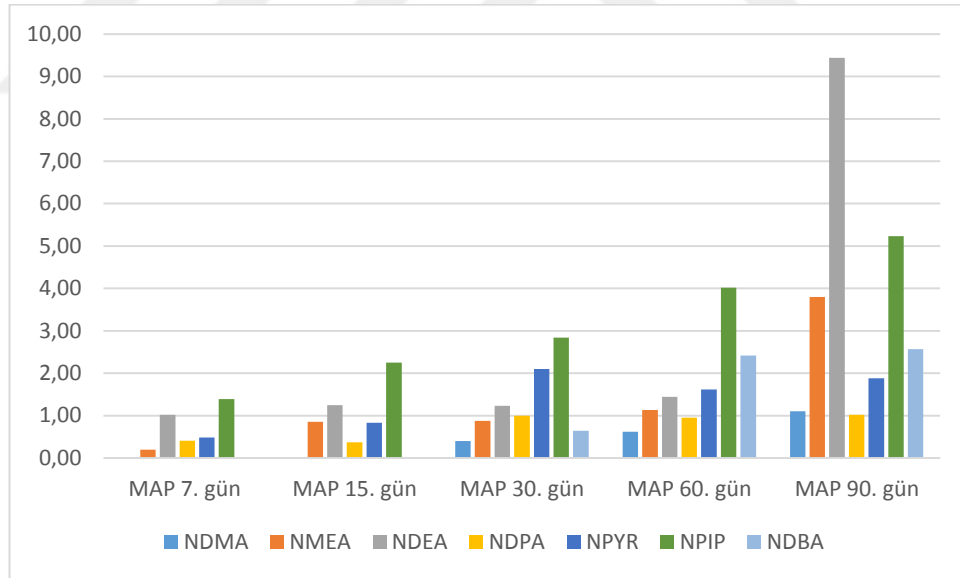


Şekil 3.4. MAP ambalaj içerisindeki 1. formülasyonla üretilen sosislerin depolama sürecinin son gününe (90. Gün) ait kromatogram

Kromatogramlarda da görüldüğü gibi depolamanın başlarında oluşmayan uçucu N-nitrozamin türevlerinin son güne kadar oluştuğu ve oluşan uçucu N-nitrozamin türevlerinin ise miktarında artış olduğu görülmektedir. Şekil 3.5. Ve Şekil 3.6.'da ise MAP ambalaj içerisindeki iki formülasyonla üretilen sosislerin muhafaza süresi boyunca uçucu N-nitrozamin oluşum seviyeleri verilmiştir.



Şekil 3.5. Birinci formülasyonla üretilen MAP ambalajlı sosislerin uçucu N-nitrozamin seviyeleri (ppb)



Şekil 3.6. İkinci formülasyonla üretilen MAP ambalajlı sosislerin uçucu N-nitrozamin seviyeleri (ppb)

Çalışmanın bulgularına göre MAP ambalaj içerisindeki uçucu N-nitrozamin değerleri bu şekilde belirlenirler, sosisin raf ömrünün son gününde askorbik asit ile uçucu N-nitrozamin oluşumu arasında, NMEA, NPYR ve NPIP açısından bir ilişki olduğunu da söylemek mümkündür ($P<0,05$). askorbik asitin muhafaza sürecinde MAP ambalaj içerisindeki etkisinin istatistiki sonuçları Çizelge 3.9.'da verilmiştir.

Çizelge 3.9. MAP ambalaj içerisinde muhafaza süreci boyunca askorbik asitin etkisi

P değeri*	NMEA	NDEA	NPIP	NDBA	NPYR	NDMA	NDPA
MAP/0.gün	,000	,001	,045	-	,004	-	,109
MAP/7.gün	,000	,027	,333	-	,000	-	,049
MAP/15.gün	,000	,009	,028	,000	,001	-	,022
MAP/30.gün	,000	,085	,000	,043	,000	,002	,001
MAP/60.gün	,001	,000	,001	,032	,055	,004	,039
MAP/90.gün	,009	,479	,000	,312	,050	,183	,058

* $P<0,05$ düzeyinde anlamlı

3.2.3. Vakum Ambalajlı Numunelerin Uçucu N-nitrozamin Analizi Sonuçları

Vakum ambalajlı ürünlerde de MAP ambalajlı ürünlere benzer şekilde depolama süresi arttıkça uçucu N-nitrozamin türevlerinin miktarlarında artış meydana geldiği görüldü. Ancak bir kıyaslama yapıldığında vakum ambalajda genel olarak uçucu N-nitrozamin türevlerinin seviyelerinin, muhafazanın her aşamasında daha düşük olduğu da tespit edildi.

Vakum ambalaj içerisinde depolama süreci boyunca en yüksek seviyede ölçüm, depolamanın son gününde 1.formülasyonla üretilen sosislerin 90. gündeki NDPA değerinde 5,4 ppb olarak ölçülmüştür. İkinci formülasyon ile üretilen vakum

ambalaj içerisindeki numunelerde ise genel anlamda daha düşük miktarlarda uçucu N-nitrozamin oluştuğu görülmüştür.

Vakum ambalaj içerisindeki numunelerin muhafazasının ilk haftası sonunda en yüksek seviyede oluşumun 1. formülasyonla üretilen numunelerin NDBA değerinde 3,30 ppb olarak ölçüldü. İlk hafta her iki formülasyonla üretimde de NDMA oluşmadığı da tespit edildi. Çizelge 3.10.'da 7 gün sonunda vakum ambalaj içerisindeki numunelerin sonuçları verilmiştir.

Çizelge 3.10. Vakum ambalaj içerisinde depolama sürecinin 7. gününe ait uçucu N-nitrozamin miktarları

Nitrozamin	n	Vakum ambalaj 7. gün nitrozamin seviyesi (ppb)	
		1.formülasyon	2.formülasyon
NDBA	12	3.30	1.1
NMEA	12	2.34	0.75
NDEA	12	1.78	2.64
NPIP	12	1.21	0.6
NPYR	12	1.12	0.91
NDPA	12	0.48	0.68
NDMA	12	<LOD	<LOD

Vakum ambalajla muhafazanın 15. Gününde ise her iki üretim için de yine NDMA oluşmadığı görüldü. İlk hafta itibariyle en yüksek seviyede oluşan NDBA'nın 15 gün sonunda ilk haftaya yakın seviyede kaldığı (3,41 ppb) görüldü. Bu miktar ile en yüksek seviyede oluşum 1.formülasyondaki NDBA değerinde oldu. Ancak NMEA, NDEA, NPYR ve NDBA oluşumu ile askorbik asit miktarı arasında anlamlı ilişki ($P<0,05$) tespit edildi. Buna göre, askorbik asit miktarının artırılması, bu uçucu N-nitrozamin türevlerinin miktarını düşürerek olumlu etkide bulunmaktadır. Çizelge 3.11.'de 15 gün sonunda vakum ambalaj içerisindeki numunelerin sonuçları verilmiştir.

Çizelge 3.11. Vakum ambalaj içerisinde depolama sürecinin 15. gününe ait uçucu N-nitrozamin miktarları

Nitrozamin	n değeri	Vakum ambalaj 15. gün nitrozamin seviyesi (ppb)	
		1.formülasyon	2.formülasyon
NDBA	12	3.41	1.03
NMEA	12	2.45	1.54
NDEA	12	2.14	3.18
NPIP	12	1.41	1.52
NPYR	12	1.18	0.55
NDPA	12	0.56	0.63
NDMA	12	<LOD	<LOD

Çalışmanın bulgularına göre, muhafazanın 30. gününde vakum ambalaj içerisindeki sosis numunelerinin uçucu N-nitrozamin türevlerinin daha önceki süreçlere oranla artış gösterdiği görülürken, 30. günde en yüksek seviye 5,02 ppb ile 1.formülasyonla üretilen numunelerin NDEA değerinde ölçüldü. 30. günde de NDMA oluşmazken ölçülebilen en düşük seviye ise 2. formülasyonla üretilen sosislerin NDPA değerinde 0,64 ppb olarak ölçüldü. Çizelge 3.12.'de 30 gün sonunda vakum ambalaj içerisindeki numunelerin uçucu N-nitrozamin sonuçları verilmiştir.

Çizelge 3.12. vakum ambalaj içerisinde depolama sürecinin 30. gününe ait uçucu N-nitrozamin miktarları

Nitrozamin	n	Vakum ambalaj 30. gün nitrozamin seviyesi (ppb)	
		1.formülasyon	2.formülasyon
NDEA	12	5.02	3.72
NDBA	12	3.40	1.04
NMEA	12	2.6	1.27
NPYR	12	2.43	0.84
NPIP	12	2.31	2.4
NDPA	12	1.07	0.64
NDMA	12	<LOD	<LOD

Çalışmanın bulgularına göre vakum ambalajla muhafazanın 60. gününde ise her iki üretim için de NDMA'nın yine oluşmadığı görüldü. Ancak diğer tüm uçucu N-nitrozamin türevlerinin meydana geldiği tespit edildi. Bunlar içerisindeki en düşük değer, 2.formülasyonla üretilen sosislerin NDPA değerinde 0,74 ppb olarak tespit edildi. Çizelge 3.13.'de 60 gün sonunda vakum ambalaj içerisindeki numunelerin uçucu N-nitrozamin sonuçları verilmiştir.

Çizelge 3.13. Vakum ambalaj içerisinde depolama sürecinin 60. gününe ait uçucu N-nitrozamin miktarları

Nitrozamin	n	Vakum ambalaj 60. Gün nitrozamin seviyesi (ppb)	
		1.formülasyon	2.formülasyon
NDBA	12	2.97	3.11
NDEA	12	2.82	1.1
NPIP	12	1.98	1.87
NDPA	12	1.71	0.74
NPYR	12	1.43	1.01
NMEA	12	1.2	1.24
NDMA	12	<LOD	<LOD

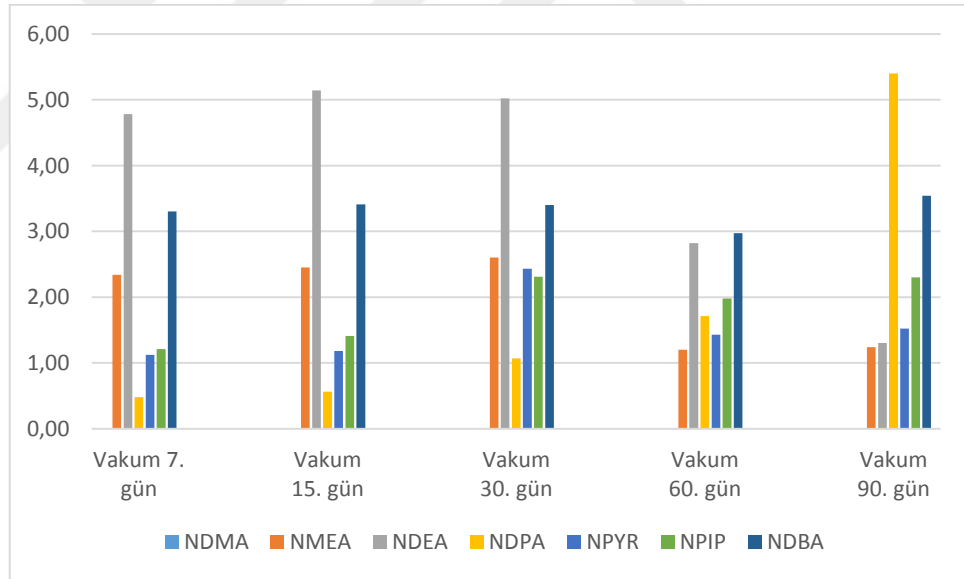
Muhafaza sürecinin son gününde (90. Gün) vakum ambalajlı sosislerin uçucu N-nitrozamin analizlerinde ise 1.formülasyonla üretilen sosislerin NDPA değeri 5,4 ppb ile tüm uçucu N-nitrozamin türevleri içerisinde maksimum seviyede meydana gelirken ölçülebilen en düşük seviyede oluşum ise 0,9 ppb ile 2. formülasyonla üretilen sosislerin NMEA değerinde görüldü.

Çalışmanın bulgularına göre 2.formülasyonla üretimde vakum ambalaj içerisinde raf ömrünün son günündeki sosislerde NDPA 3,72 ppb, NDBA ise 3,36 ppb, NPIP 1,9 ppb, NPYR 1,32 ppb, NDEA 0,96 ppb ve NMEA 0,94 ppb seviyelerinde oluşmuştur. Vakum ambalajda genel anlamda MAP ambalaja göre daha düşük seviyelerde uçucu N-nitrozamin türevlerinin oluştuğunu söylemek mümkündür. Ayrıca vakum ambalajda da MAP ambalaj gibi muhafaza süreci ilerledikçe uçucu N-nitrozamin türevlerinde miktar artışı görülmüştür. Çizelge 3.14.'de 90 gün sonunda vakum ambalaj içerisindeki numunelerin uçucu N-nitrozamin miktarları verilmiştir.

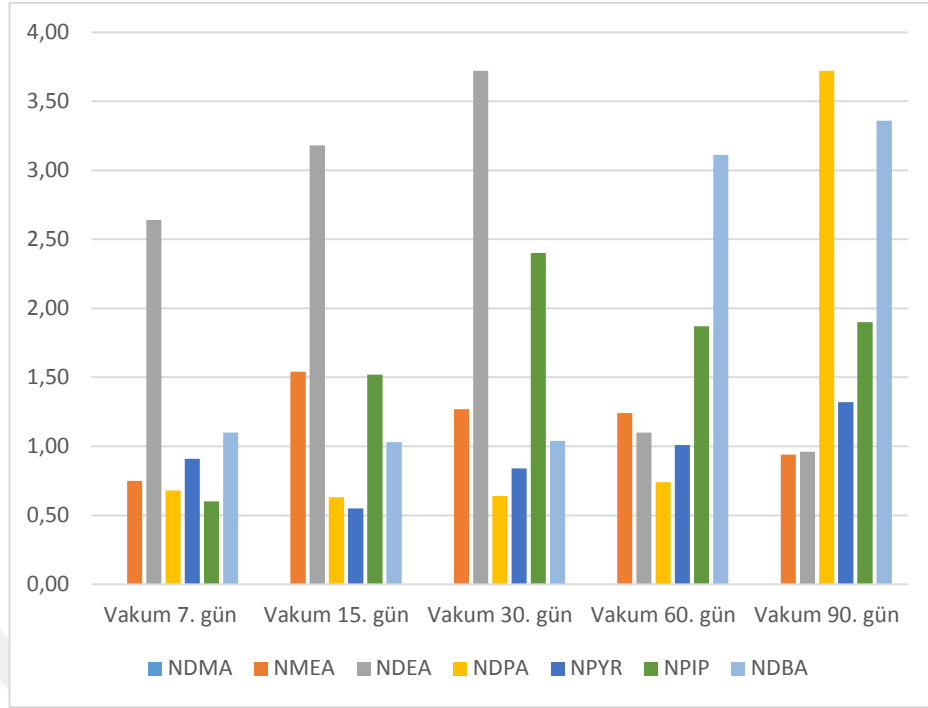
Çizelge 3.14. Vakum ambalaj içerisinde depolama sürecinin 90. gününe ait uçucu N-nitrozamin miktarları

Nitrozamin	n	Vakum ambalaj 90. gün nitrozamin seviyesi (ppb)	
		1.formülasyon	2.formülasyon
NDPA	12	5.4	3.72
NDBA	12	3.54	3.36
NPIP	12	2.3	1.9
NPYR	12	1.52	1.32
NDEA	12	1.3	0.96
NMEA	12	1.24	0.94
NDMA	12	<LOD	<LOD

Vakum ambalajlama ile ilgili sonuçlar bu şekilde değerlendirildi. Şekil 3.7. ve Şekil 3.8’de vakum ambalajla depolanan tüm numunelerin uçucu N-nitrozamin oluşumları gösterilmektedir.



Şekil 3.7. Birinci formülasyonla elde edilen vakum ambalajlı soslerin N-nitrozamin seviyeleri (ppb)



Şekil 3.8. İkinci formülasyonla elde edilen vakum ambalajlı sosislerin N-nitrozamin seviyeleri (ppb)

Çalışmanın bulgularına göre vakum ambalaj içerisindeki uçucu N-nitrozamin değerleri bu şekilde belirlenirken, askorbik asitin muhafaza sürecinde vakum ambalaj içerisindeki etkisinin istatistiki sonuçları Çizelge 3.15.'de verilmiştir.

Çizelge 3.15. Vakum ambalaj içerisinde muhafaza süreci boyunca askorbik asitin etkisi

P değeri*	NMEA	NDEA	NPIP	NDBA	NPYR	NDMA	NDPA
Vakum/0.gün	,000	,002	,037	-	0,04	-	,055
Vakum /7.gün	,018	,002	,001	,000	,168	-	,073
Vakum /15.gün	,020	,001	,101	,000	,004	-	,223
Vakum /30.gün	,001	,035	,117	,000	,335	-	,023
Vakum /60.gün	,040	,087	,116	,809	,005	-	,016
Vakum /90.gün	,029	,005	,102	,862	,017	-	,003

*P<0,05 düzeyinde anlamlı

Bu tez çalışmasının son aşaması olan tüketim amaçlı pişirme tekniklerine bağlı olarak uçucu N-nitrozamin düzeylerinin belirlenmesinde ise iki farklı formülasyonla üretim sürecinde, üç paralelli olarak üretilen ve dört farklı pişirme metodu ile elde edilen işlem sonrası merkez sıcaklığı 75 – 80 °C olan 60 örnek, uçucu N-nitrozamin türevleri yönünden analiz edildi. Bunlar pişirilmemiş sosis (kontrol grubu), haşlanmış sosis, kızartılmış sosis, mikrodalga ve ızgarada pişirilmiş sosis olarak belirlendi.

3.2.4. Sosis Pişirme Yöntemlerinin Uçucu N-nitrozamin Analizi Sonuçları

3.2.4.1. Pişirilmemiş Sosis Numunelerinin Uçucu N-nitrozamin Analizi Sonuçları

Kontrol grubu olarak seçilen pişirilmemiş sosisler içerisinde her iki üretim formülasyonunda da uçucu bazı N-nitrozamin türevlerine rastlanmıştır. 1. formülasyonla üretilen pişirilmemiş sosislerde sırasıyla NMEA 2,67 ppb, NDEA 1,51 ppb, NPIP 1,44 ppb, NPYR 0,84 ppb ve NDPA 0,47 ppb seviyelerinde tespit edildi. Bu numunelerde NDMA ve NDBA ise LOD değerinin altında kaldı.

İkinci formülasyon ile üretilen ve pişirilmemiş sosislerde ise sırasıyla NPIP 1,07 ppb, NMEA 0,60 ppb, NDPA 0,57 ppb, NPYR 0,49 ppb ve NDEA 0,35 ppb olarak saptanmıştır. Bu üretimde de NDMA ve NDBA oluşumları LOD değerinin altında kalmıştır. Araştırmanın sonuçlarına göre NMEA, NDEA, NPYR ve NPIP

oluşumunun askorbik asit ilavesi ile arasında kuvvetli bir ilişki vardır ve askorbik asit miktarının arttırılması, pişirilmemiş sosis numunesinde bu uçucu N-nitrozamin türevlerinin oluşumunu anlamlı bir şekilde düşürmektedir ($P<0,05$). Çizelge 3.16.'da pişirilmemiş sosise ait uçucu N-nitrozamin miktarları verilmiştir.

Çizelge 3.16. Pişirilmemiş sosis numunelerin uçucu N-nitrozamin miktarları

Nitrozamin	n	Pişirilmemiş sosis numuneleri nitrozamin seviyesi (ppb)	
		1.formülasyon	2.formülasyon
NMEA	12	2.67	0.60
NDEA	12	1.51	0.35
NPIP	12	1.44	1.07
NPYR	12	0.84	0.49
NDPA	12	0.47	0.57
NDMA	12	<LOD	<LOD
NDBA	12	<LOD	<LOD

3.2.4.2. Haşlanmış Sosis Numunelerinin Uçucu N-nitrozamin Analizi Sonuçları

Uygulanan 4 pişirme işlemi içerisinde haşlama işleminde 1. formülasyonla üretilen sosisler içinde en yüksek değer NDMA 19,1 ppb olurken en düşük değer NMEA'da 2,90 ppb olarak ölçüldü. 2. formülasyonla üretilip haşlanan sosislerin uçucu N-nitrozamin seviyelerinin ise düştüğü görüldü. Buna göre en yüksek seviyede yine NDMA 18,5 ppb düzeyinde oluşurken, en düşük seviyede NMEA 0,54 ppb olarak tespit edildi.

Üretim şekilleri açısından haşlama işlemi ayrı ayrı değerlendirildiğinde, 1. formülasyonla üretilen numunelerin haşlanmasında sırasıyla NDMA 19,1 ppb, NPYR 10,35 ppb, NDBA 9,18 ppb, NPIP 6,87 ppb, NDPA 6,8 ppb NDEA 3,03 ppb

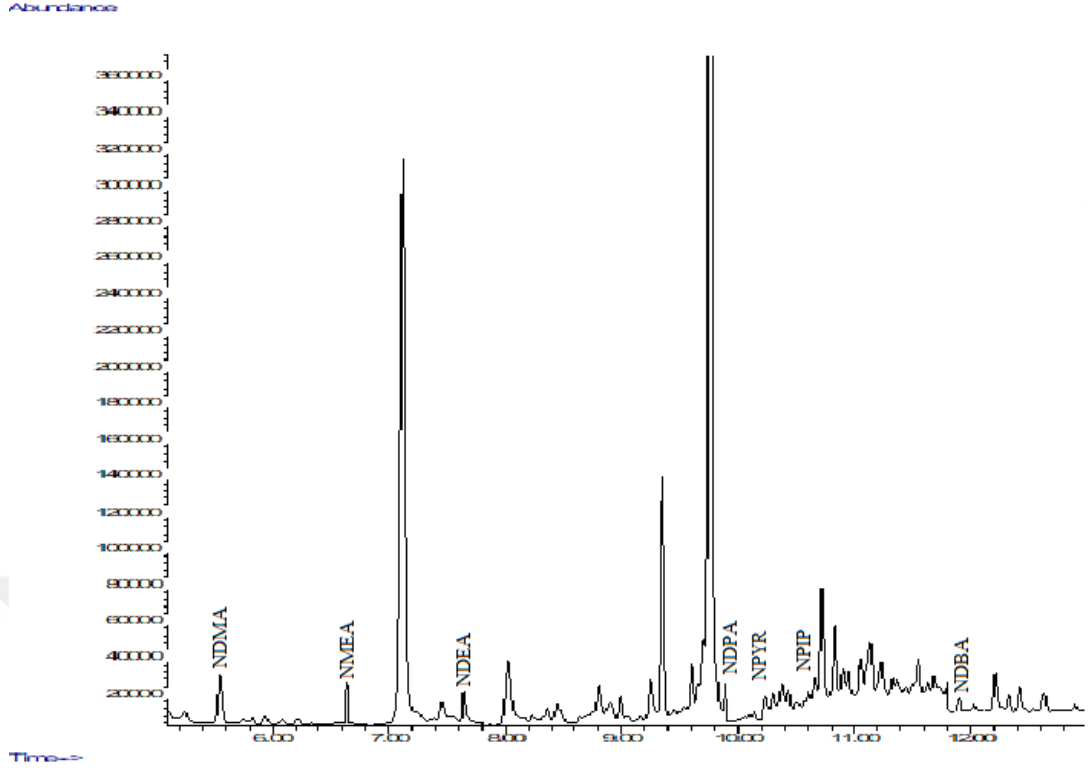
ve NMEA 2,90 ppb seviyelerinde tespit edildi. Haşlama işlemi ile 1. formülasyonda tüm uçucu N-nitrozamin türevlerinin oluştuğu da saptandı.

Askorbik asit miktarının 1000 ppm olduğu 2. formülasyonla üretilen sosislerin haşlanması sonucunda ise genel anlamda uçucu N-nitrozamin türevleri için düşüş tespit edildi. Buna göre ikinci üretimde sırasıyla ortalama NDMA 18,5 ppb, NPIP 8,45 ppb, NPYR 8,24 ppb, NDPA 2,25 ppb, NDEA 1,37 ppb ve NMEA ise 0,54 ppb düzeyinde bulundu. 1. formülasyonla üretilen sosislerin haşlanması ile 9,18 ppb düzeyinde oluşan NDBA ise 2. formülasyonla üretim sonunda LOD değerinin altında kaldığı görüldü. Çizelge 3.17.'de haşlama işlemine ait sonuçlar verilmiştir.

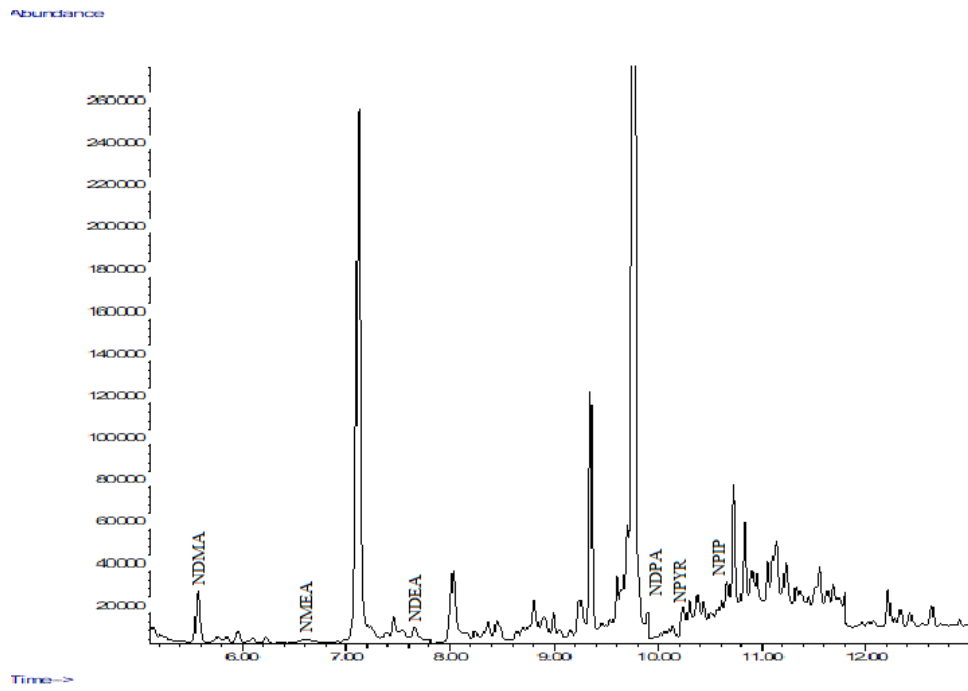
Çizelge 3.17. Haşlanmış sosis numunelerin uçucu N-nitrozamin miktarları

Nitrozamin	n	Haşlanmış sosis nitrozamin seviyesi (ppb)	
		1.Formülasyon	2.Formülasyon
NDMA	12	19.1	18.5
NPYR	12	10.35	8.24
NDBA	12	9.18	<LOD
NPIP	12	6.87	8.45
NDPA	12	6.8	2.25
NDEA	12	3.03	1.37
NMEA	12	2.90	0.54

Askorbik asit miktarındaki artış haşlama prosesi içerisinde bu uçucu N-nitrozamin türevlerini düşürmektedir. Bu farkın oluşumunu gösteren her iki formülasyonla da üretilen sosislerin haşlanması sonrası elde edilen kromatogramlar Şekil 3.9. ve Şekil 3.10.'da verilmiştir.



Şekil 3.9. Birinci formülasyonla üretilen sosislerin haşlanması sonucu elde edilen numuneye ait kromatogram



Şekil 3.10. İkinci formülasyonla üretilen sosislerin haşlanması sonucu elde edilen numuneye ait Kromatogram

3.2.4.3.Kızartılmış Sosis Numunelerinin Uçucu N-nitrozamin Analizi Sonuçları

Bir diğer pişirme işlemi olan kızartma yönteminde ise haşlama işlemine göre daha yüksek uçucu N-nitrozamin düzeyleri tespit edildi. Kızartma işlemi ile 1. formülasyonla üretilen sosislerde en çok NMEA 28,6 ppb oluşurken, NMEA'yi takiben NDMA 19,43 ppb, NDEA 19,38 ppb, NPIP 13,3 ppb, NPYR 13,1 ppb, NDBA 10,11 ppb ve NDPA 8,34 ppb olarak saptandı. 1. formülasyonla tüm uçucu N-nitrozamin türevlerinin oluştuğu görülürken 2. formülasyonla üretilen sosislerin kızartılması sonucunda NDMA, NMEA ve NDBA'nın oluşmadığı belirlendi. 2. formülasyonla üretilen sosislerin kızartılması ile elde edilen N-nitrozamin türevleri ve düzeyleri ise sırasıyla NPIP 13,40, ppb NPYR 12,42 ppb NDBA 8,38 ppb ve NDEA 2,88 ppb olarak ölçüldü. Çizelge 3.18'de kızartılmış sosise ait sonuçlar verilmiştir.

Çizelge 3.18. Kızartılmış sosis numunelerin uçucu N-nitrozamin miktarları

Nitrozamin	n	Kızartılmış sosis nitrozamin seviyesi (ppb)	
		1.Formülasyon	2.Formülasyon
NMEA	12	28.6	<LOD
NDMA	12	19.43	<LOD
NDEA	12	19.38	2,88
NPIP	12	13.3	13,40
NPYR	12	13.1	12,42
NDBA	12	10.11	<LOD
NDPA	12	8.34	8,68

Bu veriler ışığında özellikle NDMA, NMEA ve NDBA oluşumlarının 2. formülasyon ile üretimde LOD seviyesinin altında kaldığı görülmektedir. Kızartma işleminde, bu uçucu N-nitrozamin türevlerinin oluşumunun engellenebildiği görülmüştür. NPIP ise askorbik asit düzeyinden bağımsız olarak her iki formülasyonda da benzer seviyelerde meydana gelmiştir.

3.2.4.4.Mikrodalga İle Pişirilmiş Sosis Numunelerinin Uçucu N-nitrozamin Analizi Sonuçları

Piştirme işlemlerinden bir diğeri olan mikrodalga pişirmede ise uçucu N-nitrozamin türevlerinin diğeri piştirme yöntemleri ile kıyaslandığında daha düşük seviyelerde olduğu görüldü. NDMA, NMEA, NDEA, NPYR her iki formülasyonla üretimde de oluşmazken, 2 formülasyonla üretimde sadece NDPA (3,87 ppb) oluştuğu diğeri uçucu N-nitrozamin türevlerinin düzeylerinin LOD seviyesi altında kaldığı tespit edildi. 1. Formülasyonla üretilen sosislerin mikrodalga fırında pişirilmesi ile sırasıyla NPIP 9,04 ppb, NDPA 7,31 ppb ve NDBA 0,72 ppb seviyelerinde tespit edildi. Mikrodalga pişirmede düşük seviyelerin yanı sıra askorbik asitin de olumlu etkisi görüldü. Çizelge 3.19.'da mikrodalgada pişirmeye ait sonuçlar verilmiştir.

Çizelge 3.19. Mikrodalgada pişirilmiş sosis numunelerin uçucu N-nitrozamin miktarları

Nitrozamin	n	Mikrodalgada pişirilmiş sosis nitrozamin seviyesi (ppb)	
		1.formülasyon	2.formülasyon
NPIP	12	9.04	<LOD
NDPA	12	7.31	3.87
NDBA	12	0.72	<LOD
NDMA	12	<LOD	<LOD
NMEA	12	<LOD	<LOD
NDEA	12	<LOD	<LOD
NPYR	12	<LOD	<LOD

3.2.4.5. Izgarada Pişirilmiş Sosis Numunelerinin Uçucu N-nitrozamin Analizi Sonuçları

Bir diğer pişirme şekli olan ızgarada ise yüksek seviyede NPYR meydana geldiği tespit edildi. Birinci formülasyonla üretilen sosisin ızgara pişirilmesi ile sırasıyla NPYR 56,7 ppb, NDPA 14,41, NMEA 12,9 ppb, NPIP 7,85 ppb, NDEA 1,75 ppb, NDMA 0,99 ppb ve NDBA ise 0,42 ppb olarak ölçüldü. Ayrıca ızgarada 1. formülasyonla üretilen sosislerin NPYR değeri (56,7 ppb) tüm analizler içerisindeki en yüksek değer olarak da kaydedildi.

Bu verilere ek olarak 2. formülasyonla üretilen sosislerin ızgarada pişirilmesi ile 1. formülasyonla üretimde oluşan NDMA ve NDBA uçucu N-nitrozamin türevleri LOD seviyesinin altında kalırken, NPYR 45,71 ppb, NDPA 9,59 ppb, NPIP 4,56 ppb, NMEA 2,8 ppb ve son olarak NDEA 1,87 ppb seviyesinde saptandı. Çizelge 3.20.'de ızgarada pişirmeye ait sonuçlar verilmiştir.

Çizelge 3.20. Izgarada pişirilmiş sosis numunelerin uçucu N-nitrozamin miktarları

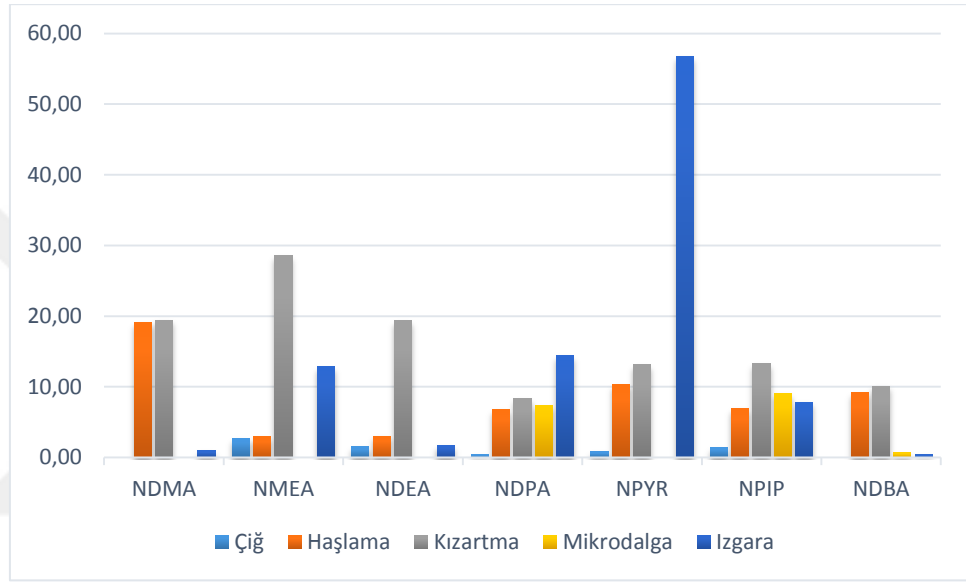
Nitrozamin	n	Izgarada pişirilmiş sosis nitrozamin seviyesi (ppb)	
		1.formülasyon	2.formülasyon
NPYR	12	56,7	45.71
NDPA	12	14,41	9.59
NMEA	12	12,9	2.8
NPIP	12	7,85	4.56
NDEA	12	1,75	1.87
NDMA	12	0,99	<LOD
NDBA	12	0.42	<LOD

Tüm pişirme yöntemleri içerisinde askorbik asitin etkisi ise Çizelge 3.21'de, tüm pişirme süreçlerine ait veriler ise Şekil 3.11. ve Şekil 3.12'de detaylı olarak verilmiştir.

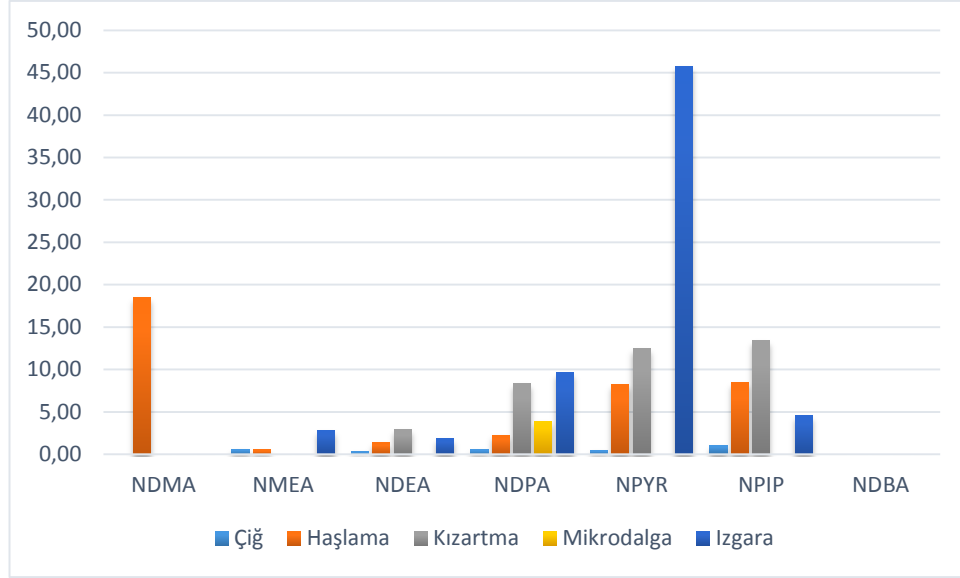
Çizelge 3.21. Pişirme işlemlerinde uçucu N-nitrozamin oluşumuna askorbik asitin etkisi

*P değeri	NDMA	NMEA	NDEA	NDPA	NPYR	NPIP	NDBA
Piştirilmemiş Sosis	-	,000	,001	,109	,004	,045	-
Haşlanmış Sosis	,199	,000	,003	,000	,019	,708	,000
Kızatılmış Sosis	,000	,000	,000	,006	,047	,946	,001
Mikrodalgada Sosis	-	-	-	,009	-	,000	,023
Izgara Sosis	,032	,000	,832	,006	,015	,041	,016

*P<0,05 düzeyinde anlamlı

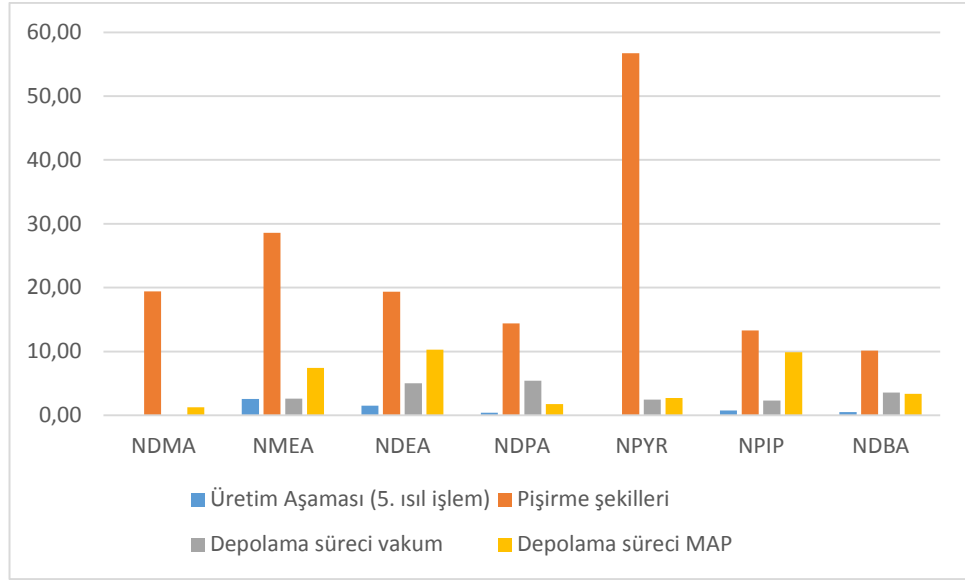


Şekil 3.11. Birinci formülasyonla üretilen sosislerin pişirme işlemlerinde uçucu N-nitrozamin oluşumları ve düzeyleri (ppb)

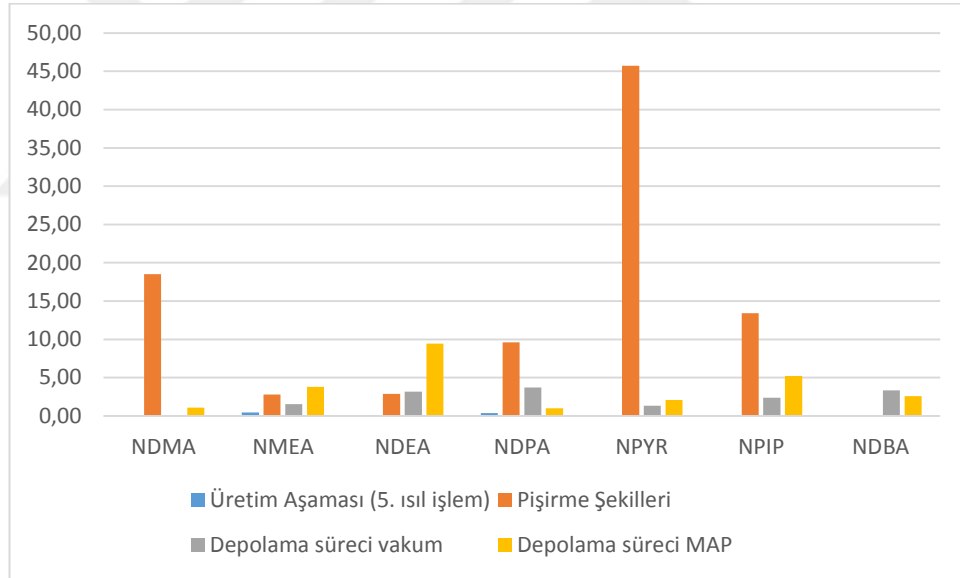


Şekil 3.12. İkinci formülasyonla üretilen sosislerin pişirme işlemlerinde uçucu N-nitrozamin oluşumları ve düzeyleri (ppb)

Tüm uçucu N-nitrozamin türevlerinin belirlenen 4 aşamadaki (üretim, ambalajlama, muhafaza ve pişirme) oluşumları genel anlamda bu şekilde değerlendirildi. Şekil 3.13 ve Şekil 3.14’de her bir uçucu N-nitrozamin türevinin tüm süreçler içerisindeki maksimum oluşum düzeyleri gösterilmektedir.



Şekil 3.13. Birinci formülasyonla üretilen sosislerin maksimum oluşum düzeyleri (ppb)



Şekil 3.14. İkinci formülasyonla üretilen sosislerin maksimum oluşum düzeyleri (ppb)

Bu verilerek ek olarak tüm deneysel üretim sürecinden elde edilen ambalajlama, muhafaza ve pişirme işlemlerinin, uçucu N-nitrozamin oluşumuna etkilerine ait veriler istatistikî açıdan anlamlılık seviyelerine bakılarak 3³ deney tasarımı metodu ile analiz edildi. Belirlenen aşamaların her birinin (pişirme, ambalaj ve muhafaza)

analizlerinin tamamlanması ile tüm süreçlerin genel olarak etkileşiminin değerlendirildiği istatistikî analiz Çizelge 3.22’de verilmiştir.

Çizelge 3.22. Analiz Aşamaları ile Uçucu N-nitrozamin Oluşumu Arasındaki İlişki

	Pişirme Şekli						
	NDMA	NMEA	NDEA	NDPA	NPYR	NPIP	NDBA
n değeri	60	60	60	60	60	60	60
P değeri	,000	,008	,013	,026	,000	,041	,007
	Ambalajlama Şekli						
n değeri	144	144	144	144	144	144	144
P değeri	,000	,138	,000	,041	,012	,010	,000
	Muhafaza Süresi						
n değeri	144	144	144	144	144	144	144
P değeri	,044	,000	,012	,000	,000	,000	,000

*P<0,05 düzeyinde anlamlı

Çizelge 3.22.’de de görüldüğü gibi, tüm uçucu N-nitrozamin türevleri anlamlı bir ilişki ile ($P<0,05$) pişirme biçimlerinden etkilenmektedir. Farklı pişirme yöntemleri uçucu N-nitrozaminlerin oluşumları, pişirilmemiş halleri ve birbirleri ile kıyaslandığı zamanda anlamlı bir fark olduğu görülmektedir. Benzer şekilde ambalaj şekli de uçucu N-nitrozamin türevlerinin oluşum düzeylerini etkilemektedir. Bu bağlamda, NDMA, NDEA, NDPA, NPYR, NPIP ve NDBA anlamlı seviyede ($P<0,05$) ambalaj farklılığına bağlı olarak miktarları değişmektedir. NMEA ise vakum ve MAP ambalajda da benzer düzeylerde oluşmuş ve bir fark meydana gelmemiştir ($P>0,05$). Bu verilere ek olarak muhafaza süreci boyunca da tüm uçucu N-nitrozamin türevlerinin istatistikî olarak anlamlı bir düzeyde ($P<0,05$) muhafaza sürecinden etkilendiği, zaman ilerledikçe oluşumlarının arttığını söylemek mümkündür.

4. TARTIŞMA

Tez çalışması, sosis üretimi, ambalaj (vakum/MAP), muhafaza (4 °C – 90 gün) ve tüketim öncesi pişirme teknikleri (kızartma, haşlama, mikrodalga, ızgara) süreçlerinin tüm aşamalarında muhtemel kanserojen 7 farklı uçucu N-nitrozamin türevinin tespit edilmesine yönelik olarak tamamlandı. Bu amaçla 2 farklı askorbik asit ile (500 ppm / 1000 ppm) elde edilen ticari sosislerin üretim sürecinin ilk aşamasından, tüketimin son gününe kadar uçucu yedi N-nitrozamin türevinin izlenmesi ve düzeylerinin saptanması amaçlandı.

Bu tez çalışmasının ilk aşamasında sosis hammaddelerinden, baharat ve suyun nitrat-nitrit analizleri ile çiğ sosis hamurunun nitrit, nitrat ve uçucu N-nitrozamin miktarları analiz edildi. Çizelge 3.1.'de de görüldüğü gibi işletme içinde kullanılan su içerisindeki nitrat-nitrit miktarı düşük seviyelerde (nitrit – 0,0191 mg/L / nitrat – 6,2787 mg/L) tespit edilmiştir. Sağlık Bakanlığı'nın İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmeliği'ne göre işletme içinde kullanılan suların nitrit – nitrat seviyeleri yasal sınırlar içerisinde (Anon, 2005).

Baharat karışımı içerisinde nitrat seviyesinin ise (648,26 mg/kg) yüksek çıktığı görüldü. Türk Gıda Kodeksi Baharat Tebliği'nde (Anon, 2013b) baharatta nitrat seviyesi ile ilgili bir sınır değeri bulunmamakla birlikte bu durumun baharat karışımı içerisindeki bileşenlerin (otların) sulama suyu ve yetiştirildiği topraktan ileri geldiği düşünülmektedir (Horsch, 2013). Hiçbir işleme maruz kalmamış sosis hamurunda ise başlangıçta nitrat-nitrit tespit edilirken, uçucu N-nitrozamin türevlerinden hiçbirisi saptanmamıştır.

Tez çalışmasında sırasıyla üretim, muhafaza – ambalaj ve tüketim öncesi pişirme aşamalarındaki uçucu N-nitrozamin türevleri ve seviyelerinin araştırılması aşaması gerçekleştirilmiştir. Bulgular bölümünde üretim süreçlerinde oluşan uçucu N-nitrozamin türevlerinin ortalama seviyeleri ve bu duruma askorbik asitin etkisi detaylı olarak verilmiştir.

Elde edilen bulgulara göre, çiğ sosis hamurunda ve üretimin ilk dört ısıtma işlem sürecinde sosislerde uçucu N-nitrozamin oluşumu LOD değerinin altında kalırken, beşinci (son) ısıtma işlemle birlikte NMEA, NDEA, NDPA, NPIP ve NDBA türevlerinin oluştuğu görüldü. Ayrıca bu aşamada oluşan NDPA hariç tüm uçucu N-nitrozaminler, istatistiki olarak anlamlı bir seviye ile ($P < 0,05$) askorbik asit miktarı arttığında daha düşük seviyede meydana geldi.

Üretim sürecinin son basamağını takiben oluşan uçucu N-nitrozamin türevleri içerisinde 2,53 ppb ile en yüksek seviyede NMEA'nın oluştuğu tespit edilirken ikinci formülasyon ile üretilen sosislerde bu aşamada 0,47 ppb seviyesinde NMEA oluştuğu görüldü.

Ayrıca üretim süreci içerisinde askorbik asit miktarının arttırılmasının, uçucu N-nitrozamin türevlerinin oluşumunu düşürmesi büyük önem taşımaktadır. Özellikle NPIP ve NDBA türevlerinin askorbik asit miktarının artması ile LOD seviyesi altında kalmaları önemli bir sonuç olarak görülmektedir.

Çalışmanın verileri ışığında üretim sürecinde ve son üründe uçucu N-nitrozamin türevlerinin oluşabildiği görülmektedir. Bu durumun önemli bir kısmı sosis formülasyonu içerisine başlangıçta ilave edilen nitritli tuzun, üretim sürecindeki ısıtma

işlemler sebebiyle protein değeri yüksek et içerisindeki amin yapıları ile reaksiyona girmesi ve uçucu N-nitrozamin türevlerini meydana getirmesinden ileri gelmektedir (Filho ve ark., 2003). Çalışmanın üretim sürecine ait bulguları daha önce yapılan çalışmaları desteklemektedir. Campillo ve ark. (2011), sosis, jambon, kürlenmiş et, konserve et gibi farklı 21 adet işlenmiş et ürünü üzerine yaptıkları çalışmalarında sadece kürlenmiş ürünlerin değil, burgerler, köfteler ya da ısıtılmış işlem görmemiş çiğ ürünlerin de uçucu N-nitrozamin içerebildiğini vurgulamışlardır.

Üretimin tamamlanması sonunda elde edilen ambalajlı sosis numunesinde 1.formülasyonla yapılan standart sosis üretiminde ortalama toplam uçucu N-nitrozamin miktarı 5,62 ppb seviyesinde tespit edilmiştir. Çalışmanın bulgularında ambalajlı üründe uçucu N-nitrozamin türevlerinin tespit edilmesi, farklı ülkelerde üretilen sosislere ait uçucu N-nitrozamin çalışmalarının verilerini de desteklemektedir. Byun ve ark., (2004) çalışmalarında Amerika Birleşik Devletleri'ndeki ticari et ürünlerinin toplam uçucu N-nitrozamin seviyesinin 10 ppb civarında olduğunu belirtirken Jo ve ark., (2003) bu miktarı sosisler için özelleştirerek 10 – 40 ppb seviyelerinde uçucu N-nitrozamin tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Güney Kore'de işlenmiş et ürünlerinin uçucu N-nitrozamin düzeylerinin analiz edilmesi sonucunda ise 36,8 ppb seviyelerinde uçucu N-nitrozamin varlığına işaret edilmiştir (Byun ve ark., 2004). Ozel ve ark. (2010), Türkiye'de yapılan çalışmalarında sosis, salam, sucuk ve döner içeren 22 örneğin toplam uçucu N-nitrozamin konsantrasyonlarını 0,45-16,63 ppb düzeylerinde tespit etmişlerdir. Araştırmacılar en yüksek seviyede oluşumun dönerde gerçekleştiğini ve et ürünlerinde genel olarak NDMA ve NDEA türevlerine rastlandığını vurgulamışlardır. Ozel ve ark (2010) ait bu çalışma sadece nitrit eklenen etlerin değil, eklenmeyen ürünlerin de uçucu N-nitrozamin türevlerini barındırabildiğini göstermektedir. Rywotycki ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada, hayvan türünün, hayvan beslenme biçiminin ve hatta mevsimsel etkilerin de çiğ ette uçucu N-nitrozamin oluşumunu doğrudan etkilediğini vurgulamışlardır.

Lee ve ark. (2019) da uluslararası makaleleri inceleyerek yaptıkları derleme çalışmalarında sosiste toplam uçucu N-nitrozamin miktarının 2 – 11 ppb arasında değiştiğini ve sosislerde en çok NDMA, NPIP ve NPYR oluştuğunu bildirmektedir. Campillo ve ark. (2011) da yapılan çalışmalara benzer şekilde işlenmiş et ürünlerinde en sık rastlanan uçucu N-nitrozamin türevlerinin NDMA ve NPIP olduğunu bildirmişlerdir. Değişken bu verilerde çoğunlukla, survey çalışmaları sırasında toplanan numunelerin muhafaza şekli ve süresi hakkında bir bilgiye sahip olunamaması en büyük etken olmakla beraber, nitrozamin oluşumuna etki edecek ambalajlama, üretim şekli ve içerik gibi numune toplamanın rastgele olması ve değerlendirmenin eksik yapılması olarak düşünülmektedir.

Cintya ve ark., (2019) ise marketten satın aldıkları tüketime hazır 5'er farklı marka içeren, sosis, dumanlanmış et, burger ve konserve et içeren 20 farklı numunede uçucu olmayan N-nitroso-thiazolidine-4-carboxylic acid (NTCA) ve N-nitroso-2-methyl-thiazolidine-4-carboxylic acid (NMTCA) gibi N-nitrozamin türevlerine yüksek seviyelerde rastlamışlardır. Numunelerde NTCA miktarı 500-4227 ppb arasında değişkenlik gösterirken NMTCA ise 20-990 ppb arasında değişmektedir. Ancak araştırmacılar ürünlerinin hiçbirinde uçucu NDEA türevi tespit edememişlerdir. Uçucu olmayan N-nitrozamin türevlerinin matriks içerisinde daha stabil kalması ve miktarının azalmaması bu durumun sebebi olarak yorumlanmaktadır.

Bu tez bulgularında ise deneysel olarak üretilip elde edilen sosiste, üretimden hemen sonra NDMA ve NDBA tespit edilmezken, diğer uçucu N-nitrozamin türevleri seviyelerinin, 0,4 – 2,5 ppb arasında değiştiği görüldü. Araştırmanın bir diğer sonucu olarak üretim süreci içerisinde askorbik asit miktarının artırılması ile çiğ sosisin uçucu N-nitrozamin seviyesinin büyük oranda düşürülmesi de sağlandı ($P<0,05$). Bu şekilde üretilen ürünlerde uçucu N-nitrozamin seviyeleri neredeyse 4-5 kat azalarak, 0,1 – 0,5 ppb arasında seyretmektedir.

Üretim aşamalarının uçucu N-nitrozamin türevleri açısından risklerinin analizinden sonra muhafaza ve ambalaj şeklinin etkileri de çalışmada değerlendirildi. Aynı zamanda bu aşamada askorbik asidin de muhafaza sürecindeki rolü araştırıldı.

Bu tez bulgularına göre vakum ambalaj altında depolama sürecinin sonuna kadar NDMA oluşmamaktadır ancak MAP ambalaj ile ambalajlanan numunelerin 30. günü takiben içerisindeki NDMA'nın artış (0,92 ppb) gösterdiği ve tüketimin son gününde en yüksek seviyede (1,20 ppb) meydana geldiği görülmektedir. İlk haftadan itibaren diğer uçucu N-nitrozamin türevlerinin her iki ambalaj içerisinde genelde artarak meydana geldiği de tespit edilmiştir.

NMEA'nın ise her iki ambalajlama türünde de depolamanın ilk gününden itibaren oluştuğu görüldü. Özellikle MAP ambalajlama tekniği ile depolamanın son gününde, miktarın maksimum seviyeye ulaştığı tespit edildi. NDBA'nın ise depolama sürecinde her ambalajlama türünde de artış gösterdiği görüldü ve MAP ambalaj içerisinde oluşumunun daha yüksek olduğu bellirlendi. MAP ambalajlamanın özellikle 60. ve 90. gününde NDBA seviyesi açısından hızlı bir artış olduğunu söylemek de mümkündür.

Her iki ambalajlama türü için de NPYR'nin oluşum eğrisi neredeyse benzer olarak seyrederken, NPIP, depolama sürecinin başlangıcından itibaren iki ambalaj türünde de oluşmaktadır. NPYR, MAP ambalaj içerisinde ilk hafta sonunda 1. formülasyonla 1,23 ppb seviyesinde oluşurken depolamanın son gününde miktarının 2,22 ppb düzeyine ulaştığı belirlenmiştir. Bu oluşum askorbik asit miktarı arttığında, başlangıçta 0,48 ppb iken muhafazasının 90. gününde 1,88 ppb düzeyine ulaşmıştır. De Mey ve ark., (2014) çalışmalarında tüketime hazır kuru fermente 101 sosis

numunesi üzerinde analizlerini gerçekleştirmiştir. Bu çalışmanın verilerine göre, Belçika marketlerinde satılan sosislerin raf ömrü sonunda kanserojen uçucu N-nitrozamin türevleri tespit ettiklerini bildirilmiştir.

Analizi gerçekleştirilen bir diğer uçucu N-nitrozamin NPIP'in oluşumu ise her iki ambalaj türünde de yakın seviyelerde seyretmekle birlikte görece olarak vakum ambalajda daha düşük miktarlarda oluştuğu belirlendi. NPIP muhafazanın son gününde 9,87 ppb ile MAP ambalaj içerisinde 1. formülasyonla maksimum seviyesine ulaşırken aynı şartlarda MAP ambalaj içerisinde muhafazanın son gününde 2.formülasyonla üretilen sosislerin ise 5,23 ppb NPIP içerdiği görülmüştür. Çalışmanın bulguları De Mey ve ark. (2014) çalışma sonuçlarını desteklemektedir. Araştırmacılar özellikle "Pepper Salami" adı verilen ürünün, raf ömrü sonunda 12,3 ppb seviyesinde NPIP içerdiğini araştırmanın bir sonucu olarak bildirilmiştir. Karabiber ve kırmızıbiberin NPYR ve NPIP oluşumu için prekürsör olması özellikle biberli ürünlerde oluşum miktarlarını arttırmaktadır (Lee, 2019).

Çalışmanın bulgularına göre askorbik asit, muhafaza süreci boyunca da uçucu N-nitrozamin oluşumu açısından avantaj sağlamıştır. Elde edilen bu veriler, yapılan çalışmaları desteklemektedir. Li ve ark. (2012) ise kuru kürlenmiş sosisin olgunlaştırma işleminde askorbik asit kullanımının incelendiği çalışmalarında, benzer sonuçlar elde etmişler ve olgunlaştırma sürecine askorbik asit ilavesinin, uçucu N-nitrozamin seviyesini düşürdüğünü bildirmişlerdir. Olgunlaştırma süreci boyunca NDMA, NDEA ve NPYR'nin oluştuğunu da vurgulamışlardır.

Olgunlaştırma sürecinde kuru fermente sosise inoküle edilen *Lactobacillus pentosus* ile uçucu N-nitrozamin oluşum miktarının değerlendirildiği bir başka çalışmada ise araştırmacı, süreç boyunca incelediği üç uçucu N-nitrozamin türevinin (NDMA, NDEA ve NPYR) süreç içerisinde oluştuğunu bildirmektedir. Bu durumun

sebebi ise olgunlaştırma prosesi esnasında meydana gelen kimyasal ve mikrobiyolojik reaksiyonlar olarak ifade edilmiştir (Xiao ve ark., 2018). Özellikle mikroorganizmalar, nitrati, nitrite indirgeyerek ve proteinleri amin ve aminoasitlere parçayarak N-nitrozamin oluşumuna sebep olmaktadır (Tricker ve Preussmann, 1991).

Araştırmanın bir diğer uçucu N-nitrozamin türevi olan NDBA açısından sonuçlarında ise her iki ambalaj türü içerisinde de zamanla artış görülmüştür. MAP ambalaj içerisinde ilk hafta sonunda her iki üretimde de NDBA oluşmazken, depolamanın son gününde 1.formülasyonla 2,79 ppb, 2.formülasyonla ise 2,57 ppb seviyesinde NDBA oluştuğu belirlenmiştir. Vakum ambalajda ise ilk haftadan NDBA oluşmaya başlarken muhafaza süresince miktarı yakın seviyelerde seyrederek muhafazanın son gününde 1.formülasyonla 3,54 ppb, 2.formülasyonla ise 3,36 ppb seviyesinde ölçülmüştür.

Tüm ambalajlama süreci verileri birarada değerlendirildiğinde, görece olarak muhafaza süresi ilerledikçe hem vakum hem de MAP ambalajlama sisteminde uçucu N-nitrozamin seviyelerinin yükseldiğini söylemek mümkündür. Çevresel şartlara bağlı olarak prekürsör birikmesi, kimyasal ve/veya mikrobiyolojik reaksiyonlar bu oluşumun temel sebebi olarak görülebilir (Xiao ve ark., 2018). Çalışmada MAP ambalaj atmosfer içeriği üretim sürecinin bir parçası olarak %30 CO₂ ve %70 N₂ olarak belirlenmiştir. Bu şekilde MAP ambalaj altında anaerob şartlar sağlanmış olsa dahi, aerob bakterilerin çoğalması önlenmesine rağmen, çabuk bir öldürülme söz konusu değildir (Tayar ve Hecer, 2013). Bu açıdan MAP ambalaj içerisinde devam eden sınırlı da olsa mikrobiyolojik aktivite, özellikle proteinlerin parçalanması ve amin yapılarının oluşup süreç içerisinde uçucu N-nitrozamin oluşumunu arttırdığı düşünülmektedir.

Bu çalışmadan farklı olarak daha kısa süre depolama yapılan başka bir araştırmada ise Domanska-Blicharz ve ark. (2004), 72 saat buzdolabında depolanan 8 farklı işlenmiş et ürününde NDMA, NDEA, NDPA, NDBA, NPIP, NPYR ve NMOR analizleri gerçekleştirmiş ve 2,6-2,8 ppb seviyelerinde NDMA tespit etmişlerdir. Bu çalışmada ise yedi gün depolanan sosislerimizde hem vakum hem MAP ambalaj altında NDMA ve MAP ambalajda NDBA tespit edilemezken, araştırılan diğer tüm uçucu N-nitrozamin türevleri meydana gelmiştir.

Yapılan çalışmanın bir diğer sonucu olarak uçucu N-nitrozamin düzeylerinin depolama süreci içerisinde vakum ambalaj içerisinde düşük seviyelerde olduğu görülmektedir. Bu sonucun vakum ambalajın nitrit seviyesini düşürmesi ve dolaylı olarak uçucu N-nitrozamin oluşumunu azaltmasından ileri geldiği bildirilmektedir (Ahn ve ark., 2002).

Çalışmanın üretim, muhafaza ve depolama süreçlerini takiben son analiz aşaması, tüketime yönelik pişirme aşamasıdır. Bu süreç içerisinde üretilen sosisler, kızartma, haşlama, mikrodalga pişirme ve ızgarada pişirme işlemlerine tabi tutulmuş ve pişirme süreçlerinin uçucu N-nitrozamin oluşumuna etkileri de bulgular bölümünde detaylı olarak (Çizelge 3.17-Çizelge 3.20) gösterilmiştir.

Elde edilen bulgulara göre haşlama işleminde NMEA, NDPA ve NDBA askorbik asit miktarının artması ile haşlama prosesinde daha düşük seviyelerde meydana gelmişlerdir. Haşlama işleminde 19,1 ppb ile en çok meydana gelen uçucu N-nitrozamin türevi NDMA olurken, en düşük seviyede oluşum ise ikinci formülasyon ile üretilen sosislerin NMEA değerinde 0,54 ppb olarak tespit edildi. Li ve ark. (2012) sosisleri 90 °C su içerisinde 30 dakika haşladıktan sonra NDMA, NDEA, NPYR uçucu N-nitrozamin türevlerini analiz etmiş ve sırasıyla 1,41 ppb, 0,20 ppb, 3,97 ppb düzeyinde sonuçlar elde etmişlerdir. Çalışmamız ile kıyaslandığında daha

düşük seviyelerde uçucu N-nitrozamin oluşumunun sebebi ise su sıcaklığının daha düşük olması ve uzun süren haşlama işleminde uçucu N-nitrozamin türevlerinin sosis matriksinden ayrılması olarak yorumlanmıştır. Aynı zamanda haşlama prosesi ile uçucu N-nitrozamin oluşumu arasındaki ilişki açısından literatür çalışmalarının kısıtlı oluşunun, sosis tüketiminde farklı ülkelerde haşlama işleminin pek tercih edilmeyişinden ileri geldiği düşünülmektedir.

Kızartma işlemi ise uçucu N-nitrozamin oluşumu açısından büyük önem taşımaktadır. Ancak kızartma prosesinde askorbik asit varlığı haşlama işlemine göre daha etken bir rol oynamış ve NDMA, NMEA, NDEA, NDPA ve NDBA türevleri askorbik asit miktarı arttığında anlamlı bir seviyede düşmüştür ($P < 0,05$). NPIP ve NPYR uçucu N-nitrozamin türevleri ise askorbik asit düzeyinden etkilenmeksizin benzer seviyelerde oluşum göstermiştir ($P > 0,05$). Kızartma prosesi ile en yüksek seviye 1.formülasyonla NMEA oluşumunda (28,6 ppb) görülürken en düşük seviye ise LOD seviyesi altında kalan NDMA, NMEA ve NDBA'da görülmüştür.

Benzer şekilde Gloria ve ark. (1997), marketten satın aldıkları domuz pastırması ve pastırma benzeri 37 işlenmiş et ürününü 177 °C'de 3 dk. kızartarak yaptıkları çalışmada inceledikleri numunelerde NDMA, NDEA, NDBA, NDEA, NPIP ve NPYR tespit etmişlerdir. Ayrıca analiz ettikleri tüm ürünlerde 7-25 ppb seviyeleri arasında NPYR varlığını da bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada da kuru kürlenmiş sosislerin kızartılması sonucunda pişirilmemiş sosisten (3,97 ppb) daha yüksek seviyede (5,02 ppb) NPYR tespit edilmiştir (Li ve ark., 2012). Paralel şekilde Yürchenko ve Mölder (2007) yaptıkları çalışmada 2001-2005 yılları arasında topladıkları 386 (çiğ, kızarmış, tutsülenmiş, konserve) işlenmiş et ürününün %90'ında NPYR tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

İncelenen bir diğer pişirme şekli mikrodalga ile pişirmedir. Pişirme işlemleri içerisinde görece olarak en düşük sonuçlar mikrodalga pişirme işleminden elde edildi. NDMA, NMEA, NDEA ve NPYR mikrodalga pişirme işleminde hiç meydana gelmezken, NDPA, NPIP ve NDBA sırasıyla 7,31 ppb, 9,03 ppb, 0,72 ppb seviyelerinde ölçüldü. Bu verilere ek olarak bu üç uçucu N-nitrozamin türevi de askorbik asit miktarından anlamlı şekilde etkilenmiştir ($P<0,05$).

Li ve ark. (2012) 700 W enerji ile 2 dakika mikrodalgada pişirilen sosis numunelerinde 1,02 ppb NDMA, 0,18 ppb NDEA ve 3,76 ppb NPYR bulmuşlardır. Aynı çalışmada diğer ısıtma işlemlere (haşlama, kızartma) kıyasla mikrodalga pişirmede daha düşük seviyelerde uçucu N-nitrozamin oluşumu çalışmamız ile de paralellik göstermektedir.

Mikrodalga pişirme ile en yüksek seviye 9,04 ppb ile NPIP’de meydana gelirken en düşük seviyede oluşum 0,72 ppb ile NDBA oluşumundan elde edildi. Li ve ark. (2012) da sosislerde NDMA, NDEA ve NPYR oluşumlarını inceledikleri araştırmanın sonuçlarına göre kuru kürlenmiş sosislerin çiğ halinde NDMA 1,15 ppb, NDEA 0,19 ppb ve NPYR 3,97 olarak ölçülürken, mikrodalgada pişirme işlemi sonrasında değerler sırasıyla, 1,02 ppb, 0,18 ppb ve 3,76 ppb seviyelerinde ölçülmüştür.

Son pişirme şekli ise ızgarada pişirmedir. Bu pişirme işleminde de yüksek seviyelerde uçucu N-nitrozamin oluştuğunu söylemek mümkündür. Izgarada pişirme ile tüm uçucu N-nitrozamin türevleri meydana gelirken, NDMA, NMEA, NDPA, NPYR ve NDBA, askorbik asit miktarının artışıyla anlamlı bir seviyede ($P<0,05$) düşüş göstermiştir. Ancak NDEA ve NPIP, ızgarada pişirme işleminde askorbik asit miktarından etkilenmemişlerdir ($P>0,05$). askorbik asitin, özellikle et ürünlerindeki varlığı ile nitritin, nitrik okside indirgenmesini sağlayarak nitrit miktarının aşamalı

olarak düşmesini sağladığı bilinmektedir (Li ve ark., 2013). Nitrit miktarının düşmesi ile de uçucu N-nitrozamin miktarı düşmektedir. Ancak bu durum, askorbik asit miktarına bağlı olarak değişmekle birlikte sosis numunesi içerisindeki kalıntı nitrit varlığı, tuz konsantrasyonu, reaktant, inhibitör ve prekürsörler ile biyogen aminlerin varlığından etkilenmektedir. (Drabik-Markiewicz ve ark., 2011; Domanka-Blicharz ve ark., 2004; Mariot ve ark., 1981; Sun ve ark., 2016 ve Yurchenko ve Mölder, 2007). Herrmann ve ark. (2015) da işlenmiş et ürünlerinde askorbik asit kullanıldığı durumlarda %75'e varan oranlarda uçucu N-nitrozamin miktarını düşürdüğünü vurgulamışlardır. Ancak oluşabilecek tüm uçucu N-nitrozamin türevlerini elimine etmek söz konusu olmamaktadır.

Izgara pişirme prosesinde ise en yüksek seviyede oluşum, 1. formülasyonla elde edilen sosislerin NPYR (56,7 ppb) değerinde tespit edilirken en düşük seviyede oluşum ise 0,42 ppb ile aynı üretim şartlarındaki NDBA değerinde olmuştur. Izgara pişirmede, işlemin direkt ve yüksek sıcaklıkla yapılmasından (210 – 230 °C) ve daha uzun sürelerde (5 dk) pişirme işleminin tamamlanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Benzer şekilde Yuan ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada sosislerin ızgara edilmesi ile yüksek NPYR oluşumlarına dikkat çekmişlerdir. Izgara sosiste araştırmacılar 40,16 ppb düzeyinde NPYR tespit etmişlerdir.

Genel anlamda pişirme sonuçları incelendiğinde ise, pişirme işlemleri içerisinde en yüksek sonuç ızgara ile pişirilen sosislerdeki NPYR değerinde gözlemlendi. NPYR seviyesi, ızgarada pişirmede 56,7 ppb olarak ölçüldü. Tüm üretim, tüketim ve depolama süreçleri içindeki en yüksek uçucu N-nitrozamin seviyesi olarak da bu değer kaydedildi. Bu seviyeyi takiben kızartma prosesi ile NMEA oluşumu gelmektedir. Yağda kızartma sonrasında sosislerde 28,6 ppb seviyesinde NMEA oluşmuştur. Benzer şekilde Yuan ve ark. (2015) yaptıkları çalışma ile çin sosisi, pişmiş sosis ve emülsifiye sosis örnekleri içeren 28 farklı et ürününün, pişirme yöntemlerine göre uçucu N-nitrozamin seviyelerini incelemişler ve en yüksek uçucu

N-nitrozamin seviyesinin ızgara sosiste oluştuğunu ve et ürünleri içerisindeki uçucu N-nitrozamin miktarlarının 0,42-51,01 ppb arasında değişkenlik gösterdiğini de bildirmişlerdir. Bu çalışmada araştırmacılar emülsiyon sosislerin ızgarada ortalama toplam uçucu N-nitrozamin seviyelerini 19,993 ppb, Çin sosislerinin ortalama toplam uçucu N-nitrozamin seviyelerini 12,590 ppb olarak tespit etmişlerdir.

Lee (2019) de yaptığı derleme çalışmasında, en yüksek uçucu N-nitrozamin miktarının kızarmış domuz eti ile tuzlanmış ve ızgarada pişirilmiş tavuk etinde oluştuğunu bildirmiştir. Pişirme işlemlerinin uçucu N-nitrozamin oluşumuna etkisini inceleyen bir diğer araştırmada da en yüksek uçucu N-nitrozamin seviyesi kızartılmış ete, sonrasında ızgara et ve son olarak kürlenmiş ete ait olmuştur (Yurchenko ve Mölder, 2007). Genel olarak çalışmalarda ızgara ve kızartma proseslerinin yüksek seviyede uçucu N-nitrozamin içermesi tez çalışması ile paralellik göstermektedir.

Haşlama işleminin ise sıralamada kızartma ve ızgara proseslerinden sonra geldiği görülmektedir. Ancak NDMA'nın 19,09 ppb ile kızartma ile yakın seviyelerde haşlamada da oluştuğu görüldü. Tüm pişirme süreçleri içinde en düşük değer, 0,42 ppb ile ızgarada pişirilen sosisin NDMA değeri olarak ölçüldü. Çalışmamızla benzer sonuçlar Yurchenko ve Mölder (2007) tarafından da tespit edilmiştir. Araştırmalarında doğrudan marketten temin edilmiş, kızartılmış, ızgara edilmiş, dumanlanmış vb. sosislerin uçucu N-nitrozamin seviyelerine bakılmış ve tüm numunelerin yaklaşık %90'ında NDMA ve NPYR tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada araştırmacılar farklı konsantrasyonlarda sodyum nitrit ile kürlenmiş koyun etinin çiğ ve kızartılmış halini de incelemiş ve 200 ppm sodyum nitritle muamele edilen ette kızartma sonrası 36,81 ppb seviyesinde NPYR tespit etmişlerdir. Paralel şekilde, bu araştırmada standart üretim yapılan (1. formülasyon) sosislerin, kızartma sonrası NPYR seviyesi ise ortalama 13,1 ppb olarak ölçüldü. Li ve ark. (2012) da NDMA ve NPYR'nin işlenmiş et ürünlerinde en sık oluşan uçucu N-nitrozamin türevleri olduğunu vurgulamışlardır.

Piştirme işlemlerinde birbirinden farklı seviyelerde uçucu N-nitrozamin oluşumları, önemli bir veri olarak kaydedilmiştir. Özellikle ısıl işlem süresi, sıcaklığı ve yöntemi, ortam sıcaklığı, nitrozamin prekürsörlerinin konsantrasyonu, tuz konsantrasyonu ve pH gibi birçok faktörün bu süreç içerisinde uçucu N-nitrozamin oluşumunu değiştiren kompleks reaksiyonlara etki ettiği bilinmektedir. (Gençcelep, 2010; Herrmann ve ark., 2015; Honikel, 2008; Özçelik, 1982 ve Yurchenko ve Mölder, 2007). Uçucu N-nitrozamin oluşumunun kimyasal ve fiziksel etmenlerden büyük oranda etkilenmesi miktarın her işlem ve uygulamada değişmesinin temel sebebi olarak düşünülmektedir. Farklı çalışmalarda araştırmacılar da çok geniş skalalarda değişen uçucu N-nitrozamin sonuçları aldıklarını bildirmektedir (Gushgari ve Halde, 2018; Lee, 2019 ve Pirinçci, 1986).

Isıl işlemle doğrudan temas eden ızgara ile piştirme işleminde, uçucu N-nitrozamin oluşumu, reaksiyona büyük etkisi olan sıcaklığın yüksek olması sebebiyle artış göstermiştir. Mikrodalga işleminde tez çalışmasında ve diğer çalışmalarda da görüldüğü gibi daha düşük seviyelerde uçucu N-nitrozamin oluştuğu bilinmektedir. Hızlı bir piştirme tekniği olan mikrodalga ile piştirmede, ısıl etkinin kısa sürmesi ve düşük seviyede olmasının uçucu N-nitrozamin miktarının artmasının önüne geçtiği düşünülmektedir (Lee, 2019).

Özellikle haşlama yönteminde sosis matriksi içerisindeki uçucu N-nitrozamin seviyesinin diğer doğrudan piştirme yöntemleri olan kızartma ve ızgaraya göre düşük olmasının ise, sosis matriksi içindeki uçucu N-nitrozamin türevlerinin haşlama suyuna geçmesinden ileri geldiği düşünülmektedir.

Askorbik asitin tüm süreçlere etkisi de, araştırmanın sonuçları açısından büyük önem taşımaktadır. Çalışma ile askorbik asit ilavesinin, üretim sürecine benzer şekilde piştirme sürecinde de kanserojen etmenlerin miktarını düşürebildiği görüldü.

Örneğin mikrodalga pişirme esnasında NPIP, 1. formülasyonla üretilen numunelerde 9,04 ppb seviyesinde oluşurken, 2. üretimde LOD değerinin altında kalmıştır. Çalışmamızda askorbik asitin en önemli etkilerinden biri kızartılmış sosislerin NDMA oluşumunda gözlemlenmiştir. 1.formülasyonla üretilip kızartılan sosislerin NDMA değeri 19,4 ppb olurken, 2.formülasyonun askorbik asit içeriği ile bu değer LOD değerinin altında kalmıştır. Askorbik asitin uçucu N-nitrozamin oluşumuna etkilerinin incelendiği bir çok çalışmada araştırmacılar, askorbik asitin uçucu N-nitrozamin seviyesinin düşmesine yardımcı olduğunu ve özellikle NDMA oluşumuna büyük oranda olumlu etkide bulunduğunu vurgulamışlardır (Li ve ark., 2012; Marriott ve ark., 1981; Mejbörn ve ark., 2019; Pirinççi ve ark., 1986 ve Rywotycki, 2002). Bu durum, askorbik asitin, özellikle et ürünlerindeki varlığı ile nitritin, nitrik okside indirgenmesini sağlayarak nitrit miktarının aşamalı olarak düşmesinden kaynaklanmaktadır (Li ve ark., 2013). Tez çalışması, tüm süreçlerde askorbik asitin olumlu etkisini tespit ederek geçmiş çalışmaları desteklemektedir. Benzer şekilde Rywotycki (2001) yaptığı çalışmasında, NaCl ve sodyum askorbatın, 21 domuz eti örneğinde NDMA ve NDEA miktarını anlamlı bir seviyede düşürdüğünü vurgulamışlardır.

Çalışmanın bulguları içerisinde genel olarak uygulanan işlemler ve uçucu N-nitrozamin oluşumu arasındaki ilişkiler de istatistiki olarak incelendi (Çizelge 3.22.). Bu amaçla ilk sırada pişirme şekillerinin uçucu N-nitrozamin seviyesine etkileri incelendi. Bu çizelgeye göre tüm uçucu N-nitrozamin türevlerinin seviyeleri, pişirme proseslerinin tamamından çiğ haldeki tüketimlerine oranla anlamlı ($P<0,05$) bir farkla değişmektedir. Yani kanserojen bu yedi uçucu N-nitrozamin türevinin ısıtılıp işleme uğradığını söylemek mümkündür. Çalışmanın bu verisi de daha önce yapılan çalışmaları desteklemektedir (Yürchenko ve Mölder, 2007 ve Yuan ve ark., 2015)

Aynı çizelgede ambajlama şekli ve uçucu N-nitrozamin oluşum ilişkisi de incelenmektedir. Buna göre NMEA haricindeki tüm uçucu N-nitrozamin türevlerinin

paketleme şekli ile düzeyleri arasında kuvvetli bir ilişki bulunmaktadır ($P<0,05$). Ancak NMEA oluşumu paketleme türünden etkilenmeden her iki paketleme türünde de benzer seviyelerde meydana gelmiştir ($P>0,05$). Ancak vakum ambalajın aerob ambalaja göre mikrobiyal aktiviteyi düşürerek uçucu N-nitrozamin oluşumunu azaltması önemli bir avantaj sağlamaktadır (Byun ve ark., 2004).

Elde edilen tüm veriler ışığında, üretimden tüketimin son gününe kadar sosin içerisinde muhtemel kanserojen uçucu N-nitrozamin türevinin meydana geldiğini söylemek mümkündür. Askorbik asit seviyesi yüksek yeni sosin formülasyonunun bu miktarı her aşama için önemli ölçüde düşürdüğü de görülmektedir ($P<0,05$). Muhafaza sürecinde işlenmiş et ürünü içerisinde oluşan uçucu N-nitrozamin miktarının artması, çalışmamızın diğer çalışmalarla paralel sonuçlarından birisidir (Domanska ve Kowalski, 2002; Domanska-Blicharz ve ark., 2004 ve Xiao ve ark., 2018).

Yapılan çalışmayla, uçucu N-nitrozamin oluşumunun çevresel şartlardan çok fazla etkilenebileceği de görülmektedir. Muhafaza şekli, ambalajlama yöntemi, muhafaza süresi, üretim hattı değişkenleri, pişirme metodu farklılıkları, uçucu N-nitrozamin seviyelerini belirgin oranda etkilemektedir. Yapılan farklı çalışmalar da uçucu N-nitrozamin seviyelerinin değişkenliğine işaret etmektedir.

Pirinçi ve ark. (1986), Türkiye’de sıklıkla tüketilen sucuk üzerine yaptıkları araştırmada, farklı uçucu N-nitrozamin türevleri için 1,4 – 600 ppb arasında büyük bir skalada değişen toplam uçucu N-nitrozamin değerleri elde etmişlerdir. Araştırmacılar bu çalışmada 21 sucuk numunesi incelemişler ve tüm numunelerde NPYR tespit ederken, NDMA, NDEA ve NPİP ise numunelerin %95’inde belirlenmiştir. Gushgari ve Halden (2018) ise derleme çalışmalarında 118 farklı

işlenmiş et ürününün 0,1 – 121 ppb arasında değişken bir oranda toplam uçucu N-nitrozamin içerdiğini bildirmişlerdir.

Günümüz şartlarında üretim koşulları iyileştirilmiş, katkı maddeleri miktarları daha sıkı denetim altına alınmış ve uçucu N-nitrozamin seviyeleri olabildiğince düşürülmüştür. Ancak uçucu N-nitrozamin oluşum mekanizmasının karmaşık yapısının, farklı üretim ve tüketim koşullarında çok değişken uçucu N-nitrozamin türevleri ve miktarları meydana getirebilmesi ihtimali unutulmamalıdır.

Sonuç olarak sosis ürünü, üretiminden, tüketiminin son gününe kadar uçucu N-nitrozamin oluşumu açısından risk taşımaktadır. Üretim esnasında askorbik asit miktarının artırılması toplam uçucu N-nitrozamin seviyesini her aşamada düşürmeye yardımcı olmuştur. Tüketim süreçlerinde yapılan tercihler de uçucu N-nitrozamin alım miktarını büyük oranda değiştirmektedir. Ayrıca ambalajlı sosisin üretim tarihi takip edilerek tüketilmesi, raf ömrü süresince oluşabilecek nitrozaminlerin alımını da engelleyebilmektedir. Gıda tüketiminde yapılacak sağlıklı seçimlerin uçucu N-nitrozamin alımında büyük oranda düşüş sağlayacağı da bilinmektedir (Gushgari ve Halden, 2018).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak bu tez çalışması ile Sincan Et ve Süt Kurumu'nda deneysel olarak üretilen sosislerin, uyarlanıp valide edilen GC-MS metoduyla uçucu N-nitrozamin türevlerinin analizleri, üretimden tüketiminin son gününe kadar her aşamada gerçekleştirildi.

Çalışmanın bulguları doğrultusunda, tüketim biçimi ve raf ömrü süreci boyunca, uçucu N-nitrozamin türevlerinin sosis matriksinde meydana geldiği görüldü. Bu bağlamda çalışmanın bir sonucu olarak, üretimden, tüketimin son gününe kadar uçucu N-nitrozaminlerin oluştuğunu, ancak üretim, depolama ve tüketim biçimlerinin değiştirilmesi ile seviyesinin büyük oranda düşeceğini söylemek yanlış olmayacaktır.

Ayrıca sosis matriksinde oluşabilen yedi uçucu N-nitrozamin türevinin, üretimin, tüketimin ya da depolamanın hangi aşamalarında oluştuğu ya da miktarlarının hangi aşamalarda arttığının tespit edilebilmesi de sağlandı. Bunlara ek olarak değişen askorbik asit seviyesi, muhafaza süresi ve ambalajlama biçiminin de uçucu N-nitrozamin oluşumuna, oluşan türevlerin çeşidine ve seviyesine etkileri de üretim ve tüketim süreci boyunca değerlendirildi. Çalışma ile aynı zamanda üretimden tüketime çeşitli tercih değişiklikleri ile uçucu N-nitrozamin seviyesinin düşürülebileceği de gösterildi.

Tez çalışmasının bulgularına göre, üretim süreci içerisinde uçucu N-nitrozamin türevlerinin oluştuğu görüldü. Buna göre, tüketimden önce pişirilmese de düşük düzeylerde de olsa sosisler uçucu N-nitrozamin türevlerini barındırmaktadır.

Çalışmanın bir diğer sonucu ise, muhafaza süreci boyunca üründe, hangi ambalajda olursa olsun artarak uçucu N-nitrozamin oluşumunun gerçekleşmesidir. Bu açıdan ürünlerin son kullanma tarihine dikkat edilmesi ve taze iken tüketilmesi de uçucu N-nitrozamin alımını büyük oranda düşürebilecektir. Ayrıca vakum ambalajlı ürünlerin MAP ambalajlı ürünlere göre muhafaza sürecinde daha avantajlı olduğunu söylemek de mümkündür.

Tamamlanan bu çalışmanın verileri ışığında, pişirme türleri açısından en zararsız olanının mikrodalga pişirme olduğu da görüldü. Özellikle ızgara ve kızartma olarak sosis tüketiminin muhtemel kanserojen uçucu N-nitrozamin türevleri açısından risk taşıdığı da belirlendi.

Bu sonuçlara ek olarak sosis formülasyonunda askorbik asit seviyesinin artırılmasıyla neredeyse tüm aşamalarda uçucu N-nitrozamin seviyeleri düşürülebildi. Ayrıca daha önce denenmemiş bir uçucu N-nitrozamin ölçüm metodu da GC-MS cihazına uyarlandı ve metodun validasyonu da bu çalışma ile tamamlandı.

Gelecek çalışmalar için, risk grubu olarak kabul edilen diğer gıdalar için (olgunlaştırılmış peynirler, turşu, alkollü içecekler vb.) de benzer araştırmalar yapılarak üretimden tüketime hangi aşamalarda uçucu N-nitrozamin türevlerinin oluştuğunun tespiti önem taşımaktadır. Ayrıca bu gıdaların üretim süreçlerini alternatif formülasyonlarla iyileştirmek de halk sağlığı açısından olumlu sonuçlar doğurabilecektir.

Nitrat ve nitritin işlenmiş et ürünlerinde hem aroma hem de mikrobiyal koruma anlamında olumlu sonuçlar verdiği ve önemli bir katkı maddesi olduğu

bilinmektedir. Ancak kullanımın yasal sınırlar içinde kalması, üretim sistemlerinin sürekli iyileştirilmesi ve alternatif, doğal koruyucu maddelerin geliştirilmesi ile kanserojen uçucu N-nitrozamin miktarı büyük ölçüde düşürülebilir. Çalışmaların bu doğrultuda geliştirilmesinin önem taşıdığı düşünülmektedir. Bu duruma ek olarak, sosis hamuru ana bileşenlerinden baharat karışımının nitrat seviyesinin çok yüksek olması ve bu durumun muhtemel uçucu N-nitrozamin oluşumunu arttırıcı etki de bulunması riski bulunmaktadır. Bu açıdan işlenmiş et ürünlerinin ana bileşenlerinden baharat için nitrit / nitrat limit değerlerinin belirlenmesi ve yasal düzenlemelerle kontrolünün sağlanmasının fayda sağlayacağı öngörülmektedir.

Tüketicilerin ürünleri tüketirken ısıt işlemlerde dikkatli olmasının, özellikle çalışmanın bir sonucu olarak ızgara ve kızartma işlemlerinin daha az tercih edilmesinin muhtemel kanserojen uçucu N-nitrozamin türevlerine daha az maruz kalınması açısından önemli olduğu görülmektedir. Ayrıca sosis tüketiminin sınırlandırılması ve özellikle çocuklarda kısıtlanması da halk sağlığı açısından önem taşımaktadır.

Üreticilerin uçucu N-nitrozamin oluşumu konusunda, Ar-Ge süreçlerine yatırım yapması ve üretilen bu gibi alternatif formülasyonlarla ürünleri piyasaya arz etmesi etken miktarının azaltılması hususunda önem taşımaktadır. Ayrıca işletmede kullanılan su, et ve baharatın başlangıç nitrat-nitrit seviyesinin düşürülmesi ve buna bağlı olarak uçucu N-nitrozamin değerlerinin de aşağı çekilmesi hususunda çalışmalar arttırılmalıdır. Bunlara ek olarak muhtemel kanserojen uçucu N-nitrozaminlerin hızlı analizini sağlayacak sistemlerin geliştirilmesi de analizlerin kolaylaşmasını sağlayacaktır.

Sosis lezzetli ve besleyici, tüketicilerin sevdiği bir gıda ürünüdür. İçeriğinde oluşan kanserojen etmenlerin seviyesinin düşürülmesi ve/veya ortadan kaldırılmasına

yönelik, hem üreticilerin hem de tüketicilerin dikkatli davranışları ile daha sağlıklı bir ürün tüketmek mümkündür.



ÖZET

Bu tez çalışması, muhtemel kanserojen olan yedi uçucu N-nitrozamin türevinin (NDMA, NDEA, NDBA, NPYR, NPIP, NDPA, NMEA) riskli bir gıda olan sosis üretimin başlangıcından tüketimin son gününe kadar miktarlarını belirlemek amacıyla planlanmıştır. Ayrıca katkı olarak ilave edilen askorbik asit miktarının tüm bu süreçlerdeki uçucu N-Nitrozamin düzeyine etkilerinin incelenmesi de hedeflenmiştir.

Bu amaç doğrultusunda iki farklı askorbik asit içeriği olan sosis hamuru hazırlanmıştır. Bu sosis hamurları üretim sürecine alınmış ve iki farklı ambalaj ile ambalajlanmıştır. Böylelikle üretim aşamaları (ısıt işlemler), ambalajlama yöntemi (vakum, MAP), muhafaza süreci (1. Gün, 7. Gün, 15. Gün, 30. Gün, 60. Gün, 90. Gün) ve tüketim tercihlerine göre (kızartma, haşlama, mikrodalga pişirme, ızgara), sosis içerisinde meydana gelen uçucu N-nitrozamin türevleri ve miktarları belirlenebilmiştir. Bu amaçlar doğrultusunda 276 numunenin uçucu N-nitrozamin analizleri GC-MS cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Cihaz için uygun metot modifiye ve valide edilmiştir.

Çalışmanın bulgularına göre, üretim sürecinin ilk dört aşamasında uçucu N-nitrozamin türevleri saptanmazken, son ısıt işlemi takiben en yüksek seviyede NMEA (2,53 ppb) oluşmakla birlikte bu aşama ile NDEA, NPIP, NDBA ve NDPA uçucu N-nitrozamin türevleri oluşmuştur. Çalışmanın ikinci aşaması olan muhafaza ve ambalaj sürecinde ise, genel olarak vakum ambalajlı ürünlerin uçucu N-nitrozamin oluşumu açısından MAP ambalajlı ürünlere göre daha avantajlı olduğu görülmüştür. Ancak her iki muhafaza süreci içerisinde de zaman ilerledikçe uçucu N-nitrozamin türevlerinin miktarı yükselmektedir. Araştırmanın son basamağında ise pişirme işlemleri değerlendirilmiş, üretim ve muhafaza verilerine kıyasla yüksek değerler elde edilmiştir. Isıt işlemin çeşidi ile uçucu N-nitrozamin oluşumları arasında da farklılıklar tespit edilmiştir. Mikrodalga ile sosis pişirme görece olarak düşük seviyelerde uçucu N-nitrozamin oluşumunu sağlarken, özellikle kızartma ve ızgara işlemlerinde yüksek seviyelerde uçucu N-nitrozamin türevleri tespit edilmiştir. Askorbik asit miktarının arttırılması ise hem üretim hem muhafaza-ambalaj hem de tüketim öncesi pişirme süreçlerinde anlamlı seviyelerde ($P<0,05$) uçucu N-nitrozamin miktarlarını düşürmüştür. Tüm araştırma verileri içinde ölçülebilen en düşük değer, 0,14 ppb olarak üretimin son aşamasında NDEA uçucu N-nitrozamin türevinde olurken en yüksek değer ise ızgara yapılan sosislerin NPYR değerinde 56,7 ppb olarak belirlenmiştir.

Sonuç olarak sosis ürünü, üretiminden, tüketiminin son gününe kadar uçucu N-nitrozamin oluşumu açısından risk taşımaktadır. Üretim esnasında askorbik asit miktarının arttırılması toplam uçucu N-nitrozamin seviyesini her aşamada düşürmeye yardımcı olmuştur. Tüketim süreçlerinde yapılan tercihler de uçucu N-nitrozamin alım miktarını büyük oranda değiştirmektedir. Ayrıca ambalajlı sosisin taze olarak tüketilmesi, raf ömrü süresince oluşabilecek uçucu N-nitrozaminlerin alımını da engelleyebilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Sosis, Nitrozamin, Et ürünleri, GC-MS (gaz kromatografisi-kütle spektrometresi)

SUMMARY

This thesis study aims to determine the amounts of these volatile seven N-nitrosamine derivatives in the sausage, which is a risk group for seven volatile N-nitrosamine derivatives (NDMA, NDEA, NDBA, NPYR, NPIP, NDPA, NMEA). It is also aimed to investigate the effects of the amount of ascorbic acid added as additive on the volatile N-Nitrosamine level in all these processes.

For this purpose, sausage dough content two different types of ascorbic acid was prepared. These sausage doughs were taken into the production process and packaged in two different packages. Thus, volatile N-nitrosamine derivatives and their amounts can be determined according to production stages (heat treatments), packaging method (vacuum, MAP), preservation process (Day 1, Day 7, Day 15, Day 30, Day 60, Day 90) and consumption preferences (frying, boiling, microwave cooking, grilling). For these purposes, total 276 samples were analyzed with the GC-MS device for volatile N-nitrosamine derivatives. Appropriate method has been adapted and validated for the device.

According to the findings of the study, volatile N-nitrosamine derivatives were not detected in the first four stages of the production process. However, NMEA, NDEA, NPIP, NDBA and NDPA volatile N-nitrosamine derivatives were formed following the final heat treatment. Among them, NMEA was measured at the highest level (2.53 ppb). In the second phase of the study, in the process of preservation and packaging, it has been observed that vacuum packaged products are generally more advantageous than MAP packaged products in terms of volatile N-nitrosamine formation. However, the amount of volatile N-nitrosamine derivatives increases as time progresses in both preservation processes. In the last step of the research, cooking processes were evaluated and high values were obtained compared to production and preservation data. Differences were also found in terms of volatile N-nitrosamine formations. Sausages cooked with microwave oven produced relatively low levels of volatile N-nitrosamine. However, high levels of volatile N-nitrosamine derivatives have been identified, especially in frying and grilling processes. Increasing the amount of ascorbic acid reduced volatile N-nitrosamine levels at significant levels ($P < 0.05$) in both production, preservation and pre-consumption cooking processes. The lowest measurable value in all research data was 0.14 ppb, while NDEA at the final stage of production, while the highest value was 56.7 ppb in the grilled sausages NPYR value.

As a result, the sausage product carries risk of volatile N-nitrosamine formation from its production until the last day of its consumption. Increasing the amount of ascorbic acid during production has helped to reduce the total volatile N-nitrosamine level at each stage. Choices made in consumption also greatly change the intake of volatile N-nitrosamine. In addition, consuming the packaged sausage fresh may prevent the intake of volatile N-nitrosamines, which may occur during its shelf life.

Keywords: Sausage, Nitrosamine, Meat products, GC-MS (Gas chromatography–mass spectrometry)

KAYNAKLAR

- AHN HJ, JO C, KİM JH, CHUNG YJ, LEE CH, BYUN MW (2002). Monitoring of nitrite and N-nitrosamine levels in irradiated pork sausage. *Journal of food protection*, **65(9)**: 1493-1497.
- ANAR Ş, (2015). Et ve et ürünleri teknolojisi (3.baskı). Dora Basım-Yayın Dağıtım Ltd. Şti., Bursa.
- ANDRADE R, REYES FG, RATH S (2005). A method for the determination of volatile N-nitrosamines in food by HS-SPME-GC-TEA. *Food Chemistry*, **91(1)**: 173- 179.
- ANON. (1997). Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. Resmi Gazete. Sayı: 23172.
- ANON. (2013). Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği. Resmi Gazete. Sayı: 28693.
- ANON. (2005). İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik. Resmi Gazete. Tarih: 17. 02. 2005 Sayı: 25730.
- ANON. (2015). Q&A on the carcinogenicity of the consumption of red meat and processed meat. Erişim Adresi: [<https://www.who.int/features/qa/cancer-red-meat/en/>]. Erişim tarihi: 31/07/2018.
- ANON. (2006). Directive 2006/52/EC of the European Parliament and of the Council of 5 July 2006 amending Directive 95/2/EC on food additives other than colours and sweeteners and Directive 95/35/EC on sweeteners for use in foodstuffs, O.J. L204 of 26.7.2006.
- ANON. (2011). Environmental Guidelines and Regulations for Nitrosamines: A Policy Summary Final Report [Revision 2]. 10 July 2011.
- ANON. (2013b). Türk Gıda Kodeksi Baharat Tebliği (Tebliğ No: 2013/12). Resmî Gazete Tarihi: 10.04.2013. Resmî Gazete Sayısı: 28614.
- ANON. (2016). National Toxicology Program. U.S. Department of Health and Human Services. Report on Carcinogens, Fourteenth Edition. Erişim adresi: [<https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/content/profiles/nitrosamines.pdf>]. Erişim tarihi: 2/11/2017

- ANON. (2019). WHO Information Note Update On Nitrosamine Impurities. Erişim adresi: [https://www.who.int/medicines/publications/drugalerts/InformationNote_Nitrosamine-impurities/en/]. Erişim tarihi: 27/12/2019.
- ANON. (2019b). Discussion Paper On The Use Of Nitrates (Ins 251, 252) And Nitrites. Erişim Adresi: [https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/codex_ccfa_51_agenda_item-5c.pdf]. Erişim tarihi: 31/12/2019.
- ARCHER DL (2002). Evidence that ingested nitrate and nitrite are beneficial to health. *Journal of Food Protection*, **65(5)**: 872-875.
- BANSAL AK, TRIVEDI R, SONI GL, BHATNAGAR D (2000). Hepatic and renal oxidative stress in acute toxicity of N-nitrosodiethylamine in rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, **38(9)**: 916-920.
- BLOT WJ, HENDERSON BE, BOİCE JR JD (1999). Childhood cancer in relation to cured meat intake: review of the epidemiological evidence. *Nutrition and cancer*, **34(1)**: 111- 118.
- BRYAN NS (2006). Nitrite in nitric oxide biology: Cause or consequence? : A systems-based review. *Free Radical Biology and Medicine*, **41(5)**: 691-701.
- BYUN MW, AHN HJ, KİM JH, LEE JW, YOOK HS, HAN SB (2004). Determination of volatile N-nitrosamines in irradiated fermented sausage by gas chromatography coupled to a thermal energy analyzer. *Journal of Chromatography A*, **1054(1)**: 403-407.
- BULUSHI IA, POOLE S, DEETH HC, DYKES GA (2009). Biogenic amines in fish: roles in intoxication, spoilage, and nitrosamine formation—a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, **49(4)**: 369-377.
- BUTTERWORTH J, BUGANG W (2006). China, U. S. D. A. Peoples Republic of FAIRS Product Specific Maximum Levels of Contaminants in Foods. GAIN Report Number: CH6064.
- CAMPILLO N, VİNAS P, MARTÍNEZ-CASTİLLO N, HERNÁNDEZ-CÓRDOBA M (2011). Determination of volatile nitrosamines in meat products by microwave-assisted extraction and dispersive liquid-liquid microextraction coupled to gas chromatographymass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, **1218(14)**: 1815– 1821.
- CHALLIS BC (1985). Nutrition and nitrosamine formation. *Proceedings of the Nutrition Society*, **44(1)**: 95-100.
- CINTYA H, SİLALAHİ J, PUTRA EDL, SİBURİAN, R (2019). Analysis of Nitrosamines in Processed Meat Products in Medan City by Liquid

- DE MEY E, DE KLERCK K, DE MAERE H, DEWULF L, DERDELINCKX G, PEETERS MC., ... PAELINCK H (2014). The occurrence of N-nitrosamines, residual nitrite and biogenic amines in commercial dry fermented sausages and evaluation of their occasional relation. *Meat science*, **96(2)**: 821-828.
- DE MEY E, DE MAERE H, PAELINCK H, FRAEYE I (2017). Volatile N-nitrosamines in meat products: Potential precursors, influence of processing, and mitigation strategies. *Critical reviews in food science and nutrition*, **57(13)**: 2909- 2923.
- DEMEYER D, HONIKEL K, DE SMET S (2008). The World Cancer Research Fund report 2007: A challenge for the meat processing industry. *Meat science*, **80(4)**: 953- 959.
- DOMANSKA-BLICHARZ K, MICHALSKI M, KOWALSKI, B (2004). Effect of different storage conditions on nitrates and nitrites in Polish edible offals processed meat products. Influence on N-nitrosamine content. *Bulletin-Veterinary Institute In Pulawy*, **48(1)**: 63-68.
- DOMANSKA K, KOWALSKI B (2002). Effect of different storage conditions on N-nitrosamine content in Polish edible offals processed meat products. *Bulletin-Veterinary Institute In Pulawy*, **46(2)**: 317-324.
- DONOVAN PJ, SMITH GT (2008). Urethane and N-nitrosodiethylamine are mutagenic for the Syrian hamster fetus. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, **657(2)**: 160-163.
- DOUGLASS ML, KABACOFF BL, ANDERSON GA, CHENG MC (1978). The chemistry of nitrosamine formation, inhibition and destruction. *J. Soc. Cosmet. Chem*, **29(9)**: 581- 606.
- DOWNES MJ, EDWARDS MW, ELSEY TS, WALTERS CL (1976). Determination of a non-volatile nitrosamine by using denitrosation and a chemiluminescence analyser. *Analyst*, **101(1206)**: 742-748.
- DRABIĆ-MARKIEWICZ G, DEJAEGHER B, MEY ED, IMPENS S, KOWALSKA T, PAELINCK H, HEYDEN YV (2010). Evaluation of the influence of proline, hydroxyproline, or pyrrolidine in the presence of sodium nitrite on N-nitrosamines formation when heating cured meat. *Analytica Chimica Acta*, **657 (2)**: 123-130.
- DRABIĆ-MARKIEWICZ G, DEJAEGHER B, DE MEY E, KOWALSKA T, PAELINCK H, VANDER HEYDEN Y (2011). Influence of putrescine, cadaverine, spermidine or spermine on the formation of N-nitrosamine in heated cured pork meat. *Food chemistry*, **126(4)**: 1539-1545.

- DRABIK-MARKIEWICZ G, VAN DEN MAAGDENBERG K, DE ME E., DEPREZ S, KOWALSKA T, PAELINCK H (2009). Role of proline and hydroxyproline in N-nitrosamine formation during heating in cured meat. *Meat science*, **81(3)**: 479- 486.
- EPA. (2016). Six-Year Review 3 Technical Support Document for Nitrosamines. Erişim adresi: [<https://www.epa.gov/sites/production/files/2016-12/documents/810r16009.pdf>]. Erişim tarihi: 27/12/2019.
- FIDDLER W, PENSABENE JW, PIOTROWSKI EG, PHILLIPS JG, KEATING J, MERGENS WJ, NEWMARK HL (1978). Inhibition of formation of volatile nitrosamines in fried bacon by the use of cure-solubilized. alpha.-tocopherol. *Journal of agricultural and food chemistry*, **26(3)**: 653-656.
- FILHO SPJ, RÍOS A, VALCÁRCE M, ZANÍN KD, CARAMAO EB (2003). Determination of nitrosamines in preserved sausages by solid-phase extraction– micellar electrokinetic chromatography. *Journal of chromatography A*, **985(1)**: 503-512.
- GENÇCELEP H (2010). Sucuklarda kalıntı nitrit miktarı ve N-nitrozamin oluşumu ile ilişkisi. Traditional Foods From Adriatic to Caucasus, April 15-17 2010, Tekirdağ, Turkey.
- GLORIA MBA, BARBOUR JF, SCANLA, RA (1997). Volatile nitrosamines in fried bacon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **45(5)**: 1816-1818.
- GOFF EU, FINE DH (1979). Analysis of volatile N-nitrosamines in alcoholic beverages. *Food and cosmetics toxicology*, **17(6)**: 569-573.
- GRAY JI, RANDAL CJ (1979). The nitrite N-nitrosamine Problem in Meats: an Update. *J Food Prot*, **42(2)**: 168-179.
- GUSHGARI AJ, HALDEN RU (2018). Critical review of major sources of human exposure to N-nitrosamines. *Chemosphere*, **210**: 1124-1136.
- GUSHGARI AJ, HALDEN RU, VENKATESAN AK (2017). Occurrence of N-nitrosamines in US freshwater sediments near wastewater treatment plants. *Journal of hazardous materials*, **323**: 109-115.
- HEALTH CANADA (2011). Guidelines for Canadian Drinking Water Quality: Guideline Technical Document: N-Nitrosodimethylamine (NDMA). Document for public comment. Erişim adres: [<https://www.canada.ca/content/dam/canada/health-canada/migration/healthy-canadians/publications/healthy-living-vie-saine/water-nitrosodimethylamine-eau/alt/water-nitrosodimethylamine-eau-eng.pdf>]. Erişim tarihi: 31/12/2019
- HEINZ G, HAUTZINGER P (2007). Meat processing technology for small to medium scale producers. Erişim adresi: [<http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=XF2016077667>]. Erişim tarihi: 29/09/2016.

- HERRMANN SS, GRANBY K, DUEDAHL-OLESEN L (2015). Formation and mitigation of N-nitrosamines in nitrite preserved cooked sausages. *Food chemistry*, **174**: 516-526.
- HILL MJ (1996). Nitrates and nitrites in food and water (Vol. 7). CRC Press.
- HONIKEL K (2008). The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Science*, **78(1-2)**: 68-76.
- HORSCH AM (2013). The effect of pH and nitrite concentration on the antimicrobial impact of celery juice compared with sodium nitrite on *Listeria monocytogenes* (Doctoral dissertation, Iowa State University).
- HOTCHKISS JH (1987). A review of current literature on N-nitroso compounds in foods. *Advances in food research*, **31**: 53-115
- IARC. (1987). Overall evaluation of carcinogenicity: an updating of IARC monographs. Vols. 1–42, Suppl. 7, Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. International Agency for Research on Cancer, Lyon.
- IARC. (2010). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Vol. 94, Ingested Nitrate and Nitrite, and Cyanobacterial Peptide Toxins. International Agency for Research on Cancer, Lyon.
- JO C, AHN HJ, SON JH, LEE JW, BYUN MW (2003). Packaging and irradiation effect on lipid oxidation, color, residual nitrite content, and nitrosamine formation in cooked pork sausage. *Food Control*, **14(1)**: 7-12.
- KADMI Y, FAVIER L, WOLBERT D (2015). N-nitrosamines, emerging disinfection by-products of health concern: an overview of occurrence, mechanisms of formation, control and analysis in water. *Water Science and Technology: Water Supply*, **15(1)**: 11-25.
- KETKAR MB, SCHNEIDER P, PREUSSMANN R, PLASS C, MOHR U (1982). Carcinogenic effect of low doses of nitrosopyrrolidine administered in drinking water to Syrian golden hamsters. *Journal of cancer research and clinical oncology*, **104(1-2)**: 75-79.
- LAG M (2011). Health effects of amines and derivatives associated with CO₂ capture. The Norwegian Institute of Public Health, **45**.
- LARSSON SC, BERGKVIST L, WOLK A (2006). Processed meat consumption, dietary nitrosamines and stomach cancer risk in a cohort of Swedish women. *International Journal of Cancer*, **119(4)**: 915-919.

- LEE HS (2019). Literature compilation of volatile N-nitrosamines in processed meat and poultry products-an update. *Food Additives & Contaminants: Part A*, **36(10)**: 1491-1500.
- LI L, SHAO, J., ZHU, X., ZHOU, G., & XU, X. (2013). Effect of plant polyphenols and ascorbic acid on lipid oxidation, residual nitrite and N-nitrosamines formation in dry- cured sausage. *International Journal of Food Science & Technology*, **48(6)**: 1157- 1164.
- LI, L., WANG P, XU X, ZHOU G (2012). Influence of various cooking methods on the concentrations of volatile N- nitrosamines and biogenic amines in dry- cured sausages. *Journal of Food Science*, **77(5)**: C560-C565.
- LUNDBERG JO, LARSEN FJ, WEITZBERG E (2011). Supplementation with nitrate and nitrite salts in exercise: a word of caution. *Journal of Applied Physiology*, **111(2)**: 616-617.
- MAGEE PN, BARNES JM (1956). The production of malignant primary hepatic tumours in the rat by feeding dimethylnitrosamine. *British journal of cancer*, **10(1)**: 114-122.
- MAGNUSSON B, ÖRNEMARK U (2014) Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, (2nd ed. 2014). ISBN 978-91-87461-59-0. Available from www.eurachem.org.
- MARRIOTT NG, LECHOWICH RV, PIERSON MD (1981). Use of nitrite and nitrite-sparing agents in meats: A review. *Journal of Food Protection*, **44(11)**: 881-885.
- MEJBORN H, HANSEN M, BILTOFT-JENSEN A, CHRISTENSEN T, YGİL KH. OLESEN PT (2019). Suggestion for a subdivision of processed meat products on the Danish market based on their content of carcinogenic compounds. *Meat science*, **147**: 91-99.
- MIKUŠKA P, VEČEŘA Z (2003). Simultaneous determination of nitrite and nitrate in water by chemiluminescent flow-injection analysis. *Analytica chimica acta*, **495(1)**: 225-232.
- MIRVISH SS (1975). Formation of N-nitroso compounds: chemistry, kinetics, and in vivo occurrence. *Toxicology and applied pharmacology*, **31(3)**: 325-351.
- MIRVISH SS (1986). Effects of vitamins C and E on N- nitroso compound formation, carcinogenesis, and cancer. *Cancer*, **58(S8)**: 1842-1850.

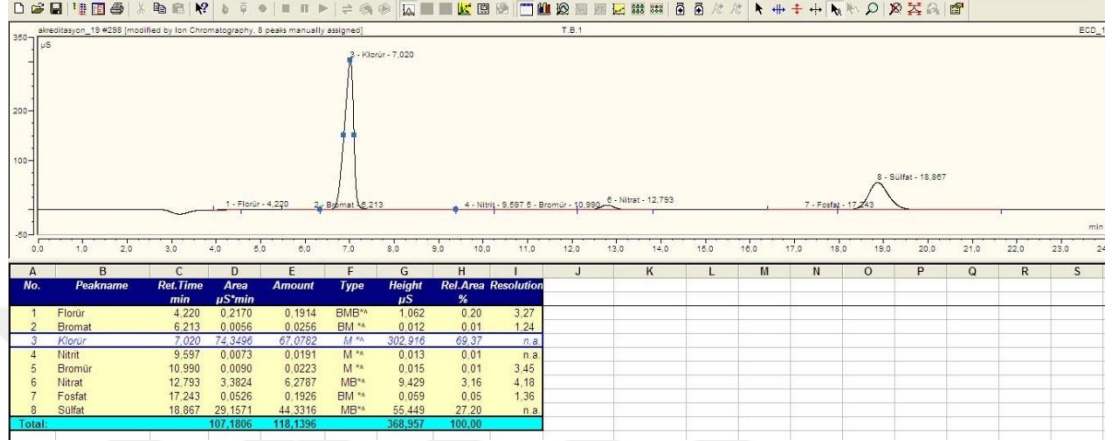
- OZBAY S, SİRELİ, UT, FİLAZİ A (2019). Nitrozaminler, Kimyaları ve Sağlığa Etkileri. *International Journal of Scientific and Technological Research*, **5(4)**: 124-133.
- OLIVEIRA CP, GLORIA, MBA, BARBOUR JF, SCANLAN, RA (1995). Nitrate, nitrite, and volatile nitrosamines in whey-containing food products. *Journal of agricultural and food chemistry*, **43(4)**: 967-969.
- OZEL MZ, GOGUS F, YAGCI S, HAMILTON JF, LEWIS AC (2010). Determination of volatile nitrosamines in various meat products using comprehensive gas chromatography– nitrogen chemiluminescence detection. *Food and Chemical Toxicology*, **48(11)**: 3268- 3273.
- ÖSTERDAHL BG (1988). Volatile nitrosamines in foods on the Swedish market and estimation of their daily intake. *Food Additives & Contaminants*, **5(4)**: 587-595.
- ÖZÇELİK S (1982). Bazı gıdalarda nitrit ve nitrozaminlerin oluşumu ve sağlığa zararlı etkileri. *Gıda*, **7(4)**: 183-188.
- ÖZDESTAN Ö, ÜREN A (2010). Gıdalarda nitrat ve nitrit. *Akademik Gıda*, **8(6)**: 35-43.
- ÖZTÜRK B, SERDAROĞLU M, ERGEZER H (2015). Et ve Et Ürünlerinde Nitrit-Nitrat; Kullanım Avantajları, Yasal Sınırlamalar ve Güncel Alternatif Yaklaşımlar. *Akademik Gıda*, **13(3)**: 257-264.
- PARK JE, SEO JE, LEE JY, KWON H (2015). Distribution of seven N-nitrosamines in food. *Toxicological research*, **31(3)**: 279.
- PIRİNÇCI I, ACET HA, BATI B (1986). Sucuklarda n-Nitrozamin bileşiklerinin gaz kromatografik yöntemle tayin edilmesi. *Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **2(1)**: 75-89.
- QIU Y, CHEN JH, YU W, WANG P, RONG M, DENG H (2017). Contamination of Chinese salted fish with volatile N-nitrosamines as determined by QuEChERS and gas chromatography– tandem mass spectrometry. *Food chemistry*, **232**: 763-769.
- RABIE MA, SİLİHA H, EL-SAİDY S, EL-BADAWY AA, MALCATA FX (2010). Effects of γ - irradiation upon biogenic amine formation in Egyptian ripened sausages during storage. *Innovative food science & emerging technologies*, **11(4)**: 661-665.
- RATTRAY C, COCHRAN J (2014). Combined Determination of 1, 4-Dioxane and Nitrosamine Contaminants in Drinking Water. Erişim adresi: [https://m.restek.com/pdfs/EVAN1922A- UNV.pdf]. Erişim tarihi: 29/04/2016
- REINIK M. (2007). Nitrates, nitrites, N-nitrosamines and polycyclic aromatic hydrocarbons in food: analytical methods, occurrence and dietary intake. TARTU University Doktora Tezi.

- RYWOTYCKI R (2003). Meat nitrosamine contamination level depending on animal breeding factors. *Meat science*, **65(1)**: 669-676.
- RYWOTYCKI R (2002). The effect of selected functional additives and heat treatment on nitrosamine content in pasteurized pork ham. *Meat science*, **60(4)**: 335-339.
- SANNINO A, BOLZONI L (2013). GC/CI-MS/MS method for the identification and quantification of volatile N-nitrosamines in meat products. *Food chemistry*, **141(4)**: 3925-3930.
- SANZ Y, VILA R, TOLDRÁ F, NIETO P, FLORES J (1997). Effect of nitrate and nitrite curing salts on microbial changes and sensory quality of rapid ripened sausages. *International journal of food microbiology*, **37(2)**: 225-229.
- SCHORMULLER, J. (2013). *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*. Springer-Verlag.
- SEBRANEK JG, BACUS JN (2007). Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues?. *Meat science*, **77(1)**: 136-147.
- SONG PJ, HU JF (1988). N-Nitrosamines in Chinese foods. *Food and chemical toxicology*, **26(3)**: 205- 208.
- SONG IH, KIM WJ, JO C, AHN HJ, KIM JH, BYUN MW (2003). Effect of modified atmosphere packaging and irradiation in combination on content of nitrosamines in cooked pork sausage. *Journal of food protection*, **66(6)**: 1090-1094.
- STANDARD METHODS (1992). Standard Methods For the Examination Water and Wastewater 18th Edition. American Public Health Assosation. 4-1 – 4-5.
- STEPHANY RW, ELGERSMA RHC, SCHULLER PL (1978). Nitrate, Nitrite and N-Nitrosamine Contents of Various Types of Dutch Cheese. *Neth. Milk Dairy J*, **32**: 143-148..
- SUN Q, CHEN Q, LI F, ZHENG D, KONG B (2016). Biogenic amine inhibition and quality protection of Harbin dry sausages by inoculation with *Staphylococcus xylosus* and *Lactobacillus plantarum*. *Food Control*, **68**: 358-366.
- TANG H, CHOY PC, CHEN H (1992). Changes in lipid content and composition during the development of N-nitrosodiethylamine induced hepatocarcinoma. *Molecular and cellular biochemistry*, **109(1)**: 83-87.
- TAYAR M, HECER CD (2013). Gıda mikrobiyolojisi. Dora Yayınları. Bursa.

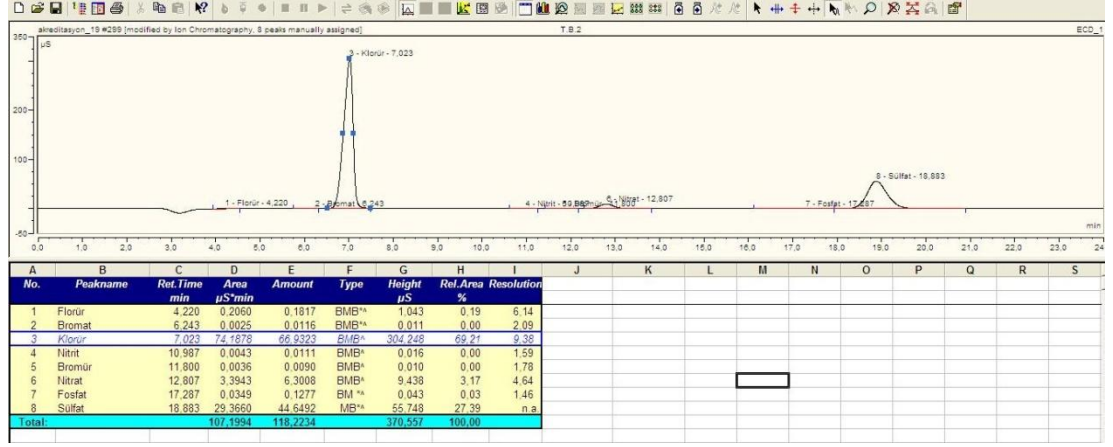
- TRICKER AR, PREUSSMANN R (1991). Carcinogenic N-nitrosamines in the diet: occurrence, formation, mechanisms and carcinogenic potential. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, **259(3-4)**: 277-289.
- VENKATESAN AK, PYCKE BF, HALDEN RU (2014). Detection and occurrence of N-nitrosamines in archived biosolids from the targeted national sewage sludge survey of the US Environmental Protection Agency. *Environmental science & technology*, **48(9)**: 5085-5092.
- WALKER R (1996). The metabolism of dietary nitrites and nitrates. *Biochemical Society Transactions*, **24**: 780-785.
- WHO (2002). N-nitrosodimethylamine, WHO Concise International Chemical Assessment Document 38, World Health Organization, Geneva.
- WILKENS LR, KADİR MM, KOLONEL LN, NOMURA AM, HANKIN JH (1996). Risk factors for lower urinary tract cancer: the role of total fluid consumption, nitrites and nitrosamines, and selected foods. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, **5(3)**: 161-166.
- XIAO Y, LI, ZHOU Y, MA F, CHEN C (2018). Effect of inoculating *Lactobacillus pentosus* R3 on N-nitrosamines and bacterial communities in dry fermented sausages. *Food control*, **87**: 126-134.
- YUAN Y, MENG W, YUTIAN M, FANG C, XIAOSONG H (2015). Determination of Eight Volatile Nitrosamines in Meat Products by Ultrasonic Solvent Extraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry Method. *International Journal of Food Properties*, **18(6)**: 1181-1190.
- YURCHENKO S, MÖLDER U (2007). The occurrence of volatile N-nitrosamines in Estonian meat products. *Food Chemistry*, **100(4)**: 1713-1721.
- YURCHENKO, S, MÖLDER U (2006). Volatile N-nitrosamines in various fish products. *Food Chemistry*, **96(2)**: 325-333.

EKLER

Ek 1. Suda Nitrat – Nitrit Analizi Ölçüm Sonucu



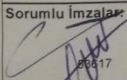
Ek 2. Suda Nitrit- Nitrat Analizi İkinci Tekrar Sonucu



Ek 3. Dolum Öncesi Sosis Hamuru (Normal Askorbik Asit Seviyesi) Nitrat-Nitrit analizi Sonucu

TUBİTAK MAM		
Rapor No : 49362558-125.05-	1251 , 2968	
Talep Eden : SENA ÖZBAY		
Adres : AKSARAY ÜNİVERSİTESİ MERKEZİ LAB BAHÇESARAY MAH. ADANA YOLU ÜZERİ 10.KM AKSARAY		
Örnek: TK1 37,5 AA DOLUM ÖNCESİ-ET		
Parti / Lot No :	Son kullanım Trh :	
Örnek Sayısı : 1	Üretim Tarihi :	
Örneğin getiriliş şekli : Elden	Enstitü örnek kayıt no : 19-1157/002	
Kabul anındaki durumu : Naylon poşet	Kabul tarihi ve saati : 30/04/2019 15:00:00	
	Analiz Tarihi : 02/05/2019 - 13/05/2019	
Şahit numune bilgileri : () Müşteriye geri iade () Şahit numune mevcut (x) Şahit numune alınmamıştır		
Analiz	Sonuç	Yöntem
Nitrit ve nitrat (et ürünlerinde, taze sebzelerde, baharatlarda, süt tozunda)	Sodyum nitrit : 11.35 mg/kg Sodyum nitrat : 32.95 mg/kg	Schormüller, J. Handbuch der Lebensmittelchemie
Açıklamalar:		
Sorumlu imzalar:		

Ek 4. Dolum Öncesi Sosis Hamuru (İki Kat Askorbik Asit Seviyesi) Nitrat-Nitrit analizi Sonucu

JUSITAK MAM	
Rapor No : 49362558-125.05-	1251 / 2968
Talep Eden : SENA ÖZBAY	
Adres : AKSARAY ÜNİVERSİTESİ MERKEZİ LAB BAĞÇESARAY MAH. ADANA YOLU ÜZERİ 10.KM AKSARAY	
Örnek: TK2 75 AA DOLUM ÖNCESİ-ET	
Parti / Lot No :	Son kullanım Trh :
Örnek Sayısı : 1	Üretim Tarihi :
Örneğin getiriliş şekli : Elden	Enstitü örnek kayıt no : 19-1157/001
Kabul anındaki durumu : Naylon poşet	Kabul tarihi ve saati : 30/04/2019 15:00:00
	Analiz Tarihi : 02/05/2019 - 13/05/2019
Şahit numune bilgileri : () Müşteriye geri iade ()	Şahit numune mevcut (x) Şahit numune alınmamıştır
Analiz	Sonuç
Nitrit ve nitrat (et ürünlerinde, taze sebzelerde, baharatlarda, süt tozunda)	Sodyum nitrit : 5.68 mg/kg Sodyum nitrat : 53.14 mg/kg
Yöntem Schormüller, J. Handbuch der Lebensmittelchemie	
Açıklamalar:	
Sorumlu imzalar 	

Ek 5. Baharat Karışımı Nitrit – Nitrat Seviyesi

TUBİTAK MAM		
Rapor No : 49362558-125.05-	1251 , 2968	
Talep Eden : SENA ÖZBAY		
Adres : AKSARAY ÜNİVERSİTESİ MERKEZİ LAB BAĞÇESARAY MAH. ADANA YOLU ÜZERİ 10.KM AKSARAY		
Örnek: BAHARAT		
Parti / Lot No :	Son kullanım Trh :	
Örnek Sayısı : 1	Üretim Tarihi :	
Örneğin getiriliş şekli : Elden	Enstitü örnek kayıt no : 19-1157/003	
Kabul anındaki durumu : Naylon poşet	Kabul tarihi ve saati : 30/04/2019 15:00:00	
	Analiz Tarihi : 02/05/2019 - 13/05/2019	
Şahit numune bilgileri : () Müşteriye geri iade () Şahit numune mevcut (x) Şahit numune alınmamıştır		
Analiz	Sonuç	Yöntem
Nitrit ve nitrat (et ürünlerinde, taze sebzelerde, baharatlarda, süt tozunda)	Sodyum nitrit : Sodyum nitrat : mg/kg	Tespit Schormüller, J. Handbuch der Lebensmittelchemie 648.26
Açıklamalar:		
Sorumlu İmzalar:		

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Sena ÖZBAY
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Ankara / 29.09.1986
Telefon : 0506 515 2377
Faks : -
e-mail : sena_ozbay@hotmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Üniversite	İnönü Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Malatya	2007
Yüksek Lisans	Aksaray Üniv., Sosyal Bil. Enst., İşletme Anabilim Dalı, Aksaray	2013
Yüksek Lisans	Selçuk Üniv. Fen Bil. Enst., Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Konya	2016
Doktora	Ankara Üniversitesi Sağlık Bil. Enst., Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Ankara	2020

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2007-devam	Aksaray Üniversitesi	Öğretim Görevlisi

YABANCI DİLLER

İngilizce, YDS: 72.5 (2014 – Sonbahar)

YAYINLAR

ÖZBAY S., Hazır Gıdalar, Hazırlanma Süreçleri ve Tehlikeleri, Fen Bilgisi Öğretmenliği İçin Biyolojide Özel Konular, 2018, Paradigma Akademi, Ankara

ÖZBAY S., SARIÇOBAN C. Et Kurutma Teknolojisi ve Dünyada Tüketilen Kurutulmuş Et Ürünleri, 2017, LAP LAMBERT Academic Publishing.

ÖZBAY S., ŞİRELİ U. T. Gıdalarda Bulunabilen Toksik Elementler, 2016, LAP LAMBERT Academic Publishing.

ÖZBAY S., ŞİRELİ U. T. Gıdalarda İzlenebilirlik, 2016, LAP LAMBERT Academic Publishing.

ÖZBAY S., ŞİRELİ U. T., FİLAZİ A., Nitrosamines, Their Chemistries and Effects on Health, *International Journal of Scientific and Technological Research*, (5)4: 124-133, 2019.

ÖZBAY S., SARIÇOBAN C., Using Some Fruits as Natural Antioxidant Sources in Meat and Meat Products: A Review, *Journal of Agroalimentary Precosses and Technologies*, (24)1: 34-38, 2018.

ÖZBAY S., ŞİRELİ U. T., Determination Tools of Origin in The Food Traceability, *Journal of Food and Health Science*, 2(3): 140-146, 2016.

ÖZBAY S., SARIÇOBAN C., Balık ve Balık Ürünlerinde Biyojen Aminler ve Önemi, *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi*, 18(3): 19-28, 2015.

Ulusal – Uluslararası Hakemli Dergide Makaleler:

ÖZBAY S., ŞİRELİ U. T., FİLAZİ A., Nitrosamines, Their Chemistries and Effects on Health, *International Journal of Scientific and Technological Research*, (5)4: 124-133, 2019.

ÖZBAY S., SARIÇOBAN C., Using Some Fruits as Natural Antioxidant Sources in Meat and Meat Products: A Review, *Journal of Agroalimentary Precosses and Technologies*, (24)1: 34-38, 2018.

ÖZBAY S., ŞİRELİ U. T., Determination Tools of Origin in The Food

Traceability, *Journal of Food and Health Science*, 2(3): 140-146, 2016.

ÖZBAY S., SARIÇOBAN C., Balık ve Balık Ürünlerinde Biyojen Aminler ve Önemi, *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi*, 18(3): 19-28, 2015.

ÖZBAY S., SARIÇOBAN C., Et Kurutmada Mikrodalga Kullanımına İlişkin Yaklaşımlar ve Uygulamalar, *Journal of New Results in Engineering and Natural Sciences*, 4: 24-35, 2015.

ÖZBAY S., ÖZBAY A., Et Dekontaminasyonunda Elektron Demeti Işınlaması (EDI) Kullanımı, *Journal of Food and Health Science*, 1(4): 178-184, 2015.

ÖZBAY S., ŞİRELİ U. T., Gıdalarda İzlenebilirlik, *GIDA*, 40(5): 295-302, 2015.

ÖZBAY S., AKOLAŞ A., Gıda Depolarında Gıda Kalite Sistemlerine Uygun Stok Yönetimi Sürecinin Geliştirilmesi, *Selçuk Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi*, 33: 229-238, 2015.

ÖZBAY S., SARIÇOBAN C., Et Kurutma Teknolojisi ve Dünyada Tüketilen Kurutulmuş Bazı Et Ürünleri, *Journal of Food and Health Science*, 1(3): 109-123, 2015

ÖZBAY S., SARIÇOBAN C., Probiyotik Et Ürünleri ve Beslenme, *Türk Tarım - Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 3(4): 183-189, 2015.

ÖZBAY S., SARIÇOBAN C., Et ve Et Ürünlerine Uygulanan Bazı Dekontaminasyon Yöntemleri, *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, Cilt 1, Sayı 3(2): 92-99, Aralık 2014.

Ulusal ve Uluslararası Dergide Makaleler

ÖZBAY S., ŞİRELİ U. T., İzlenebilirlik ve Gıda Güvenliği Açısından Önemi, Ordu'da Gıda Güvenliği, 27, 14-17, 2016.

ÖZBAY S., Kanatlı Etlerinde Bazı Fiziksel Karkas Dekontaminasyonu Uygulamaları, Gıda Teknolojisi, 19(10): 62-64, 2015.

ÖZBAY S., Gıda Depolarında Ön Koşulların Oluşturulması ve Önemi, Gıda Teknolojisi, 19(6): 40-41, 2015.

Ulusal ve Uluslararası Konferanslarda Sunulan Bildiriler:

ÖZBAY S., SARIÇOBAN C., Using Some Fruits as Natural Antioxidant Sources in Meat and Meat Products, 1st International Congress On Medicinal And Aromatic Plants, Konya, May, 09-12 2017 (Poster sunum).

ÖZBAY S., Gıda Güvenliğini Etkileyen Etmenler, III. Uluslararası KOP Bölgesel Kalkınma Sempozyumu, Aksaray, 2015. (Sözlü sunum)

ÖZBAY S., AKOLAŞ D., Gıda Ürünlerinde Stok Yönetimi Politikaları, III. Uluslararası KOP Bölgesel Kalkınma Sempozyumu Bildiri Özet Kitapçığı, Aksaray, syf: 57, 2015. (Özet)

ÖZBAY S., ŞİRELİ U. T., Gıda İzlenebilirliğinde Orijin Belirleme Araçları, 5. Gıda Güvenliği Kongresi Bildiri Özeti Kitabı, İstanbul, syf: 75, 2015 (Özet)

ÖZBAY S., Enzime Dirençli Nişasta ve Özellikleri, II. KOP Bölgesel Kalkınma Sempozyum Kitabı, Niğde, syf: 124-127, 2014 (Tam metin)

ÖZBAY S., SARIÇOBAN C., Elektromanyetik Dalgalar Kullanılarak Et ve Ürünlerinde Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi, 3. Uluslararası Gıda Kongresi Bildiri Kitabı, Bursa, syf: 20-21, 2014 (Özet)

ÖZBAY S., ORHAN O., TOPALOĞLU H., Geleneksel Gıdalarda İzlenebilirlik Aracı Olarak CBS Kullanımı, 4. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu Bildiri Kitabı, Gökçe Ofset Matbaacılık Yayıncılık, Adana, syf: 35-38, 2014 (Tam Metin)

ÖZBAY S., AKOLAŞ D., Gıda Depolarında Ön Koşulların Oluşturulması ve Önemi, TGDF Gıda Kongresi Poster Bildiri Özetleri Kitabı, Açık Deniz Matbaacılık Kağıtçılık Ltd. Şti., Ankara, syf: 1, 2013 (Özet)

ÖZBAY S., TOPALOĞLU H., ORHAN O., Gıda Zinciri İzlenebilirliğinde CBS Kullanımı, 8. Gıda Mühendisliği Kongresi Bildiri Kitapçığı, Filiz Matbaacılık Sanayi ve Tic. Ltd. Şti., Ankara, syf: 13, 2013 (Özet)

ÖZBAY S., AKOLAŞ D., Gıda Ekonomisinde Depolamanın Önemi, İç Anadolu Bölgesi 1. Tarım ve Gıda Kongresi Bildiriler Cilt II Gıda Mühendisliği, Niğde, syf: 276-281, 2013 (Tam Metin)

