

SUCUKLARDA N-NİTROZAMİN BİLEŞİKLERİNİN
GAZ KROMATOĞRAFİK YÖNTEMLE TAYİN EDİLMESİ

*Detection of N-nitrosamine compounds by gas
chromatography in sausages*

İbrahim PİRİNÇCİ¹
H. Ahmet ACET²
Bekir BATI³

Summary : In this study, the levels of nitrosamines which can occur in 21 sausage samples provided from Elazığ, Konya, Kayseri and Ankara regions were investigated. NPyr was found in all that samples in the result of the analysis made by using gas chromatography with flame-ionization-detector. Whereas, NDMA, NDEA and NPip were determined in about 95% of samples analysed.

The levels of nitrosamines determined in the sausage samples analysed were 5.1 - 370.0 ppb, 2.5 - 600.0 ppb, 6.5 - 200.0 ppb, and 1.4 - 125.0 ppb for NDMA, NDEA, NPyr and NPip respectively. According to the density groups, fourty - one %41, 17.95%, 10.26%, 6.41%, 6.41%, 6.41%, 7.69%, 2.56% 1.28% of the levels found for four nitrosamine derivatives were determined to be between 1.1 - 20.0 ppb, 20.1 - 40.0 ppb, 40.1 - 60.0 ppb, 60.1 - 80.0 ppb, 80.1 - 100.0 ppb, 100.0 - 150.0 ppb, 150.0 - 200.0 ppb, 200.1 - 400.0 ppb, 400.1 - 600.0 ppb respectively.

In conclusion, it can be said that the occurrence of nitrosamine derivatives in the levels, which can produce canserogenic effect in some samples, is due to the adding of the compounds with nitrate nitrite to these samples.

Özet : Bu çalışmada, Elazığ, Konya, Kayseri ve Ankara bölgelerinden temin edilen 21 çeşit sucuk numunesinde oluşabilen nitrozamin dü-

-
- (1) Yrd. Doç. Dr., F. Ü. Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Bilim Dalı, Elazığ.
 - (2) Yrd. Doç. Dr., S. Ü. Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Bilim Dalı, Konya.
 - (3) Öğ. Üy., O. M. Ü. Eğitim Yüksek Okulu, Samsun.

zeyleri araştırıldı. Gaz - kromatografik yöntemle flame ionization dedektör (F.İ.D.) kullanılarak gerçekleştirilen analizler sonucunda NPyr tüm numunelerde belirlendi. Buna karşılık NDMA, NDEA ve NPip ise analizi yapılan numunelerin yaklaşık %95 inde bulundu.

Analizi yapılan sucuk örneklerinde belirlenen N-nitrozamin düzeyleri, NDMA için 5.1 - 370.0 ppb, NDEA için 2.5 - 60.00 ppb, NPyr için 6.5 - 200.0 ppb ve NPip için ise 1.4 - 125.0 ppb arasında tesbit edildi. Dört çeşit nitrozamin için belirlenen değerlerin yoğunluk değer gruplarına göre dağılımının %41'nin 1.1 - 20.00 ppb, %17.95'nin 20.1 - 40.0 ppb, %10.26'nın 40.1 - 60.0 ppb, %6.41'nin 60.1 - 80.0 ppb, %41'nin 80.1 - 100.0 ppb, %6.41'nin 100.1 - 150.0 ppb, %7.69'nun 150.1 - 200.00 ppb, %2.56'nın 200.1 - 400.0 ppb ve %1.28'nin 400.1 - 600.0 ppb arasında olduğu belirlendi.

Sonuç olarak, bazı numunelerde kanserojen etki oluşturabilecek nitrozamin türevlerinin meydana gelmesinin, bu numunelere nitrat ve nitritli bileşiklerin katılmasından ileri geldiği söylenebilir.

Giriş

1956 yılında, ilk defa N-nitrozaminlerin kanserojenik etkileri tesbit edilmiş (8, 11, 24), daha sonraki çalışmalarla bu bileşiklerin insan ve hayvan sağlığı açısından çok zararlı maddeler olduğu belirtilmiştir (4, 6, 13, 14, 15). Son yıllarda kanser olaylarında görülen artış nedeniyle çevresel kanserojenik olarak, nitrozaminler üzerinde durulmasına neden olmuştur (19).

Tabiatta her yerde mevcut olabilen nitrozaminler (8), özellikle biyolojik materyal, tütün ve gıda maddelerinde daha yüksek düzeylerde bulunmaktadır (14, 19). İnsan ve hayvan sağlığı yönünden çok zararlı olan N-nitrozaminlerin, ya gıdaların özel işleme tabi tutulmasıyla ya da vücutta nitratın, nitrit ve hidroksilaminlere dönüşümü sonucu olduğu ileri sürülmüştür (2, 5).

Nitrat ve nitrit et ve balık ürünlerinde koruyucu bir madde olarak yaygın bir şekilde kullanılır. Son yıllarda bu katkı maddelerin sağlık için tehlikeli olduğu belirtilmiştir. Çünkü vücutta mevcut sekonder aminlerle reaksiyona girerek kanserojenik nitrozaminleri oluştururlar (2, 5, 19, 24).

Ülkemizde gerek devlet ve gerekse özel sektörde üretilen hayvan yemlerinde nitrat ve nitrit düzeyleri yüksek olduğundan bu gıdaları yiyen hayvanlarda N-nitrozo türevlerinin oluşması kaçınılmaz bir gerçektir (17). Rat, tavşan ve diğer hayvanlarda nitrat 50 mg/kg dozunda verildiğinde, karaciğerde akut hemorajik nekroza neden olduğu belirtilmiştir (10). Otopsi bulguları olarak koyunlarda endokardium ve perikart al-

tında kanamalar, vücut boşluklarında sıvı, abomasum ve barsaklarda kanamalar, omentum ve abomasumda ödemler tesbit edilmiştir. Ayrıca, karaciğerin büyüdüğü, çizgili ve benekli lekelerle koyu bir renk aldığı belirlenmiştir (20). Aynı hayvanların histolojik muayenelerinde karaciğer nekrozu, santral ve sublobuler venlerde lumen daralması ve duvar kalınlaşması ile fibroblastların sub-endotelial proliferasyonu görülmüştür (9, 20, 26).

Bazı araştırmacılara (1, 6, 7, 13, 15) göre, nitrozo pirrolidinin çığ domuz eti pastirmalarında bulunmadığını, buna karşın kızartma sırasında uygulanan yüksek sıcaklıkların bu maddenin oluşmasında önemli rol oynadığı ileri sürülmüştür. Yapılan araştırmalara (12) göre sucuk ve pastirmaların yağlı et kısımlarında N-nitrozaminlerin daha yüksek düzeylerde oluşması ya yağsız etin içerdiği suyun buhar distilasyonu esnasında yüksek düzeylerde nitrozamin kaybına neden olması ya da yağsız etin içerdiği fazla miktardaki suyun yeterli yüksek ısının gelişmesine engel olmasına bağlıdır.

Nakamura ve ark. (13), nitrozopirrolidinin N-nitrozoprolin (Nopro), pirrolidin (Pyr), spermidin, prolin (pro) ve putresin gibi prekürsör maddelerden oluştuğunu belirtmişler ve bu durumu şu şekilde açıklamışlardır; nitrozopirrolidin putresinin siklizasyonu veya prolinin dekarboksilasyonu sonucu oluşan pirrolidinin nitrozasyonu ile oluşabileceği gibi, N-nitrozoprolinin dekarboksilasyonu sonucu da meydana gelebilir.

Bazı araştırmacılar (21, 22) tarafından çevre ve gıdalarda yaygın olarak bulunabilen N-nitrozo bileşiklerin insan ve hayvanlarda bakteriyel etkinlikleri ile düşük pH'lı midede oluşabileceği belirtilmiş ve vücutta nitrozaminlerin şekillenmesi için optimal pH'nın 3 olması gerektiği ileri sürülmüştür. Aynı araştırmacılar tarafından daha yüksek veya daha düşük pH değerlerinin nitrozamin oluşumunun azalmasına neden olduğu açıklanmıştır.

Bitkilerde yüksek oranda bulunan nitrat enzimatik, mikrobiyolojik ve kimyasal redüksiyonla nitrite indirgenir. Nitritler de vücutta mevcut sekonder aminlerle reaksiyona girerek kanserojenik nitrozaminleri oluşturur (17, 22). Bazı araştırmacılar (21) tarafından N-nitrozo bileşiklerinin ya ağız boşluğu ve midede ya da bağırsak ve idrar yollarında oluştuğu ileri sürülmüştür.

Askorbik asid ve bazı indirgeyici maddelerin nitratın nitrite çevrilmesine mani olarak nitrozamin oluşumuna engel oldukları belirtilmiştir (7, 22).

Nitrat ve nitritin insan ve hayvan gıdalarında ya doğal ya da ilave

katkı maddesi olarak bulunduğu bilinen bir gerçektir. Son yıllarda gıdalara ilave edilmiş bu katkı maddelerin, sağlık için tehlikeli olduğu belirtilmiştir. Bu noktadan hareketle Elazığ, Konya, Kayseri ve Ankara bölgelerinden temin edilen sucuk örneklerinde nitrat ve nitritli bileşiklerin kullanılmasına bağlı olarak şekillenen N-nitrozamin düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal olarak Elazığ, Konya, Kayseri ve Ankara bölgelerinden temin edilen 21 çeşit sucuk numunesi kullanıldı.

Aygıtlar ve Reaktifler

1. Kromatografik kolon
2. Distilasyon cihazı
3. Ayırma hunisi (1 litrelik)
4. Rotary vakum evoparatör cihazı (Heildolph)
5. Etüv (Hareus)
6. Gaz kromatografi cihazı (Pye - Unicam, Model 104)
7. Gaz kromatografi kolonu: 100 - 200 mesh Diatomite C-AW DMCS de %10 E 30 dolgu maddesiyle hazırlanmış 1,5x6 mm ebadında kolon.
8. Temperatür :
 - a. Enjeksiyon yeri sıcaklığı: 200°C
 - b. Kolon fırın sıcaklığı: 100°C'de 3 dakika bekletildikten sonra 5°C/dakika artırılmak suretiyle 100 - 150°C ye programlandı.
 - c. Dedektör sıcaklığı: 230°C
9. Dedektör (F.I.D.)
10. Taşıyıcı gaz: Azot
11. Gaz akımı: 40 ml/dakika
12. Duyarlık (Attention): 5×10^2 ve 10×10^2
13. Pik hızı (chart speed): 2 cm/dakika
14. N-nitrozamin standartları:
 - a. Nitrozodimetilamin (NDMA, siğma, No: N-7756)
 - b. Nitrozodietilamin (NDEA, siğma, No: N-0756)
 - c. Nitrozopirrolidin (NPip, siğma, No: N-6007)
 - d. Nitrozopiperidin (NPyr, siğma, No: N-6257)
15. Sodyum klorur (Merck)
16. 5M sülfirik asid (Merck)
17. Diklormetan (Merck)

18. 51,5M sodyum hidroksit (Merck)
19. n-pentan (Merck)
20. n-hekzan (Merck)
21. Bazik alumina (Merck, 100 - 200 mesh)
22. Anhidroz sodyum sülfat (Merck)
23. Diatom toprağı (Merck)

Numunelerin analizi ile temizleme işleminde Cox (3)'un ve Telling (25)'in metotları esas olarak alındı.

Nitrozamin standartları için kalibrasyon eğrisinin hazırlanması: Dört ayrı nitrozamin standartlarının diklormetanda 1 mg/ml'lik stok solusyonları hazırlandı. Hazırlanan stok solusyonların herbirinden 1 µl gaz kromatografa verilerek retensiyon zamanları tesbit edildi. Bu stok solusyonlardan mikrolitresinde 5, 10, 20, 40, 80 ve 160 ng. düzeylerinde olacak şekilde dilusyonlar hazırlanarak her birinden 1 µl gaz kromatografa uygulandı. İkinci aşamada dört çeşit nitrozamin türevini içeren 5, 10, 20, 40, 80 ve 160 ng/µl yoğunluklarda karışık standart çözeltileri hazırlandı. Ayrıca her türev için standart kromatogramları tespit edildi. Verilen farklı dilisyonlara göre pik yükseklikleri hesap edilerek kalibrasyon eğrileri çizildi. (Şekil 1 ve 2.)

Ekstraksiyon

250 g. homojenize edilen sucuk numunesi alındı. 100 g. Nacl ve 350 ml saf su ilave edilerek karıştırıldı. 400 ml distilat elde edilinceye kadar buhar distilasyona (140 - 160 C) tabii tutuldu. Elde edilen distilata 80 g. Nacl ve 4 ml 5M sulfirik asit ilave edildi. Whatman 41 süzgeç kağıdından süzüldü. 1000 ml'lik ayırma hunisine aktarıldı. Dört defa 40 ml diklormetan ile ekstrakte edildi. 1.5 M NaOH solusyonundan 70 ml ilave edilerek, iyice karıştırıldıktan sonra sodyum hidroksit tabakası atıldı. Diklormetan tabakası rotary vakum evoparatörde 50°C de 5 - 10 ml'ye kadar yoğunlaştırıldı. Daha sonra kuderna daniş evoparatöre aktarıldı ve 1 ml'ye kadar yoğunlaştırıldı. Alumina kolonundan geçirilerek temizlendikten sonra tekrar kuderna daniş evoparatörde 60°C de 0,25 ml'ye kadar yoğunlaştırıldı ve aynı gün gaz kromatografik analizleri yapıldı.

Temizleme sistemi

5 g. bazik alumina tartıldı. 200°C de etüvde ısıtıldıktan sonra desikatörde soğutuldu. %3 oranında su ilave edilerek yarıya kadar n-pentan ile doldurulmuş temizleme kolonuna aktarıldı. Bir cam çubuk ile yavaş yavaş vurularak yerleşmesi sağlandı. Alumina tabakası üzerine n-pentan ile aynı seviyede olacak şekilde 1 - 2 cm kalınlığında susuz sodyum sülfat ilave edildi.

Kuderna danışta 1 ml'ye kadar yoğunlaştırılmış numune ekstraktına 4 ml n-pentan ilave edilerek temizleme kolonuna aktarıldı ve 1 ml diklorometan ilave edildi. Temizleme kolonunu altına 50 ml'lik mezür yerleştirildi. 50 ml filtrat elde edilinceye kadar n-pentan ilave edildi. Toplanan filtrat atıldı. Tekrar 50 ml'lik filtrat elde edilinceye kadar diklorometan ilave edildi. Biriktirilen 50 ml'lik diklorometanlı filtrat kuderna danış evaporatöre aktarıldı. 60°C de 0,25 ml'ye kadar yoğunlaştırıldı.

Bulgular

Şekil 1 ve 2 de gösterildiği gibi 4 ayrı nitrozamin için kalibrasyon eğrisi hazırlandı. Dört değişik bölgeye ait 21 sucuk numunesinde N-nitrozamin düzeyleri tayin edildi. Belirlenen N-nitrozamin düzeyleri tablo haline getirildi (Tablo 1).

Sucuk örneklerinde elde edilen N-nitrozamin düzeylerinin NDMA için 5.1 - 370.0 ppb, NDEA için 2.5 - 600.0 ppb, NPyr için 6.5- 200.0 ppb ve NPip için 1.4 - 125.0 ppb arasında olduğu tesbit edildi ve yoğunluk düzeyleri bakımından birbirine en yakın olan değer gruplarında toplanarak tablo 2'de gösterildi. Tablo 2 incelendiğinde 4 çeşit N-nitrozamin için belirlenen değerlerin yoğunluk değer gruplarına göre dağılımının %41'nin 1.1 - 20.0 ppb, %17.95'nin 20.1 - 40.0 ppb, %10.26'nın 40.1 - 60.0 ppb, %6.41'nin 60.1 - 80.0 ppb, %6.41'nin 80.1 - 100.0 ppb, %6.4'nin 100.1 - 150.0 ppb, %7.69'nin 150.1 - 200.0 ppb, %2.56'nın 200.1 - 400.0 ppb, %1.28'nin 400.1 - 600.0 ppb arasında olduğu görülmektedir.

Analizleri yapılan sucuk numuneleri sonuçları bireysel olarak incelendiğinde, 21 numunenin yaklaşık %95'ninde NDMA, NDEA ve NPip varlığı tesbit edilmiştir. Buna karşın NPyr tüm numunelerde görülmüştür.

Tablo 1'de görüldüğü gibi nitrat ve nitrit katılmış 2, 3, 4, 5, 6 nolu sucuk örneklerinde nitrozamin düzeyleri yüksek oranda bulunmuştur.

Tablo 2 incelendiğinde sucuk numunelerinde nitrozamin türevlerinin yoğun olarak 1.1 - 20 ppb düzeyleri arasında olduğu belirlenmiştir.

Tartışma ve Sonuç

İnsan ve hayvanlar için kanserojenik etkili nitrozaminler ya gıdaların özel işleme tabii tutulmasıyla ya da vucutta nitratın nitrit ve hidrosilaminlere dönüşmesiyle oluşurlar (5, 18, 23, 24).

Nitrat ve nitrit katkı maddesi olarak et ürünlerinde yaygın bir şekilde kullanılırlar. Son yıllarda gıdalara ilave edilmiş bu katkı maddelerinin, sağlık için tehlikeli olduğu belirtilmiştir. Çünkü nitritler vucutta

mevcut sekonder aminlerle reaksiyona girerek kanserojenik nitrozaminleri oluşturur (5, 17).

Ülkemizde gerek devlet ve gerekse özel sektörde üretilen et ürünlerindeki nitrozamin düzeylerinin tayini ile ilgili yok denecek kadar az araştırma yapılmıştır. Oysa N-nitrozo türevlerinin insan ve hayvanlar için çok tehlikeli maddeler olduğu bilinen bir gerçektir. Bu maddeler insan ve hayvanların karaciğer, akciğer, özafagus, idrar kesesi ve böbreklerinde kötü huylu tümörler oluştururlar (4, 14).

Sağlık yönünden çok zararlı olan nitrozaminlerden korunmak için çevre ve gıdalardaki düzeylerinin tesbit edilmesi gerekir. Nitrozaminler gıdalarda ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$) düzeylerinde bulduklarından düşük konsantrasyonlardaki bu bileşiklerin tesbit edilmesi ancak duyarlı ve muntazam yöntemlerin kullanılmasıyla gerçekleştirilebilir (4, 19).

Bu çalışmada, uçucu nitrozaminlerin tayini için Cox (3) tarafından uygulanan bir yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemle nitrozaminleri direkt olarak belirleyen flame - ionization dedektörünün kullanılması uygun görülmüştür. Tercih edilen bu dedektörün (FID) elektron capture dedektöre (ECD) göre bazı üstünlükleri vardır. FID'de nitrozaminleri tayin etmek için herhangi bir türev oluşturması işlemine gerek yoktur. Ancak nitrozupiperidin ve fenil nitrozaminler peroksitri-fluoroasetik asit ile oksidasyona girdiğinde E.C.D.'ye duyarsız bileşiklere parçalanırlar. Ayrıca F.I.D.'de türevlerin hazırlanmasında oluşan ve kromatogramı bozan parazitler söz konusu değildir.

Bu nedenlerle Cox'un kullanmış olduğu yöntem son yıllarda en fazla itibar edilen yöntemlerden biridir (3, 19).

Nitrozaminlerin güçlü kanserojenik etkili maddeler oldukları belirlendikten sonra (11, 13, 16), oluşma yolları ile ilgili araştırmalar giderek artmıştır (5, 7, 18, 23).

Sen (24) tarafından yapılan bir çalışmada gıdalara ilave edilen nitrat ve nitritin et ve balık ürünlerinde nitrozaminlerin şekillenmesine neden oldukları gösterilmiştir. Aynı şekilde bazı araştırmacılar (5, 8) tarafından yapılan çalışmalarda da benzeri görüşler ileri sürülmüştür.

Et ve balık ürünlerinde bulunan nitrozamin türevlerinin çeşidi ortamdaki ön maddelere bağlı olmakla beraber, en yüksek düzeylerde NDMA ile NDEA'a rastlanabileceği bildirilmektedir (10, 20, 23, 25). Buna karşın NPyr ve NPip'nin kesin kaynağı bilinmemekle beraber, dokular da mevcut olan nitrozoprolinin farklı ısılarda (maksimum 185°C) dekarboksilasyonu ile oluşabileceği ileri sürülmüştür (12, 15). Bazı araştı-

ricılar (6, 13) nitrozopirrolidin N-nitrozoprolin (No-Pro), pirrolidin (Pyr), spermidin, prolin (Pro) ve puressinden şekillendiğini ileri sürmüşlerdir. Nitrozopirrolidin bu maddelerden en çok N-nitrozoprolinin dekarboksilasyonu ile daha az oranda da putressinin siklizasyonu veya prolinin dekarboksilasyonu ile oluşan prolidinin nitrozasyonu ile meydana gelir (6, 13).

Bazı araştırmacılar (7, 15) çığ domuz eti pastırmasında nitrozopirrolidin bulunmadığını ancak kızartma sırasında uygulanan sıcaklığa bağlı olarak (maksimum 185°C) N-nitrozoprolinden oluştuğunu belirtmişlerdir. Mottram ve ark. (12) tarafından yapılan bir çalışmada, nitrozopirrolidin oluşmasında yağ dokunun varlığının şart olduğunu ileri sürmüşlerdir. Aynı araştırmacı tarafından yağ doku ile ilgili olan bu durum şu şekilde açıklanmıştır; ya yağsız etin içerdiği fazla miktardaki su, buhar distilasyonu sırasında nitrozamin kaybına neden olabilir, ya da fazla miktardaki su yeterli yüksek ısının gelişmesine mani olabilir.

Bu çalışmada Elazığ, Konya, Kayseri ve Ankara bölgelerinden temin edilen 21 çeşit sucuk numunelerinde belirlenen nitrozamin düzeyleri yukarıda açıklanan araştırmacıların görüşleriyle paralellik göstermektedir. Tablo 1 incelendiğinde 2, 3, 4, 5, 6, 14, 15, 18, 19, 20, 21 nolu numunelerde NDMA, NDEA, NPyr ve NPip en fazla düzeylerde olduğu görülür. Bu numunelerin tümü buhar distilasyonu sırasında 140 - 160°C ye kadar ısıtıldı. Ayrıca 2, 3, 4, 5 ve 6 nolu numunelere nitrat ve nitrit katkı maddesi olarak ilave edilmişti. Böylece bu çalışmada elde edilen yüksek değerler yukarıda açıklanan araştırmacıların görüşlerini doğrulamaktadır. Analizi yapılan sucuk örneklerinde nitrozaminlerin yüksek düzeylerde belirlenmesi ya bu örneklerde nitrat ve nitritin katılmasıyla ya da buhar distilasyonu esnasında 140 - 160°C arasında ısıtılmasından ileri geldiği sanılmaktadır.

Tablo 1 de görüldüğü gibi analizi yapılan sucuk numunelerinde genel olarak nitrozaminlerin yüksek düzeylerde olduğu, bu gibi gıdaların insanlar tarafından uzun süre ve fazla miktarda tüketildiğinde kanserojenik etki oluşturabileceği görüşündeyiz. Bu nedenle ülkemizde devlet ve özel sektör tarafından üretilen et ve balık ürünlerinin nitrozamin yönünden analizleri yapıldıktan sonra tüketicilere verilmesinin daha uygun olacağı kanaatindeyiz.

Kaynaklar

- 1 — Bills, D. D., Hildrum, K. I., Scanlan, R. A. and Libbey, L. M. (1973). Potential precursors of N-nitrosopyrrolidine in bacon and other fried foods. J. Agr. Food. Chem., 21 (5): 876 - 877.

- 2 — *Coppola, E. D., Wickrozki, A. F. and Hanna, J. G.* (1975). Fluorometric determination of nitrite in cured meats. *J. A. O. A. C.*, 58 (3): 469 - 473.
- 3 — *Cox, G. B.* (1973). Estimation of volatile N-nitrosamines by high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, 83: 471 - 481.
- 4 — *Dooley, C. J., Wasserman, A. E. and Osman, S.* (1973). A contaminant in N-nitrosodimethylamine confirmation by high resolution mass spectrometry. *J. Food. Sci.*, 35: 1096.
- 5 — *Fiddler, W., Pensabene, J. W., Doerr, R. C. and Wasserman, A. E.* (1972). Formation of N-nitrosodimethylamine from naturally occurring quaternary ammonium compounds and tertiary amines. *Nature*, 236: 307.
- 6 — *Fiddler, W., Pensabene, J. W., Thorne, E. J., Piotrowski, E. G. and Wasserman, A. E.* (1974). The role of lean and adipose tissue on the formation nitrosopyrrolidine in fried bacon. *J. Food. Sci.*, 39: 170 - 1071.
- 7 — *Hwang, L. S. and Rosen, J. D.* (1976). Nitrosopyrrolidine formation in fried bacon. *J. Agr. Food Chem.*, 24 (6): 1152 - 1154.
- 8 — *Karasek, F. W. and Denny, D. W.* (1974). Detection of aliphatic N-nitrosamine compounds by plasma chromatography. *Anal. Chem.*, 46 (8): 1312 - 1314.
- 9 — *Magee, P. N. and Barnes, J. M.* (1956). The production of malignant primary hepatic tumours in the rat by feeding dimethylnitrosamine. *Brit. J. Cancer.*, 10: 114 - 122.
- 10 — *Magee, P. N. and Vandekar, M.* (1958). The metabolism of dimethylnitrosamine in vitro. *Biochem. J.*, 70: 600 - 605.
- 11 — *McGlashan, N. D., Walters, C. L. and McLean, A. E. M.* (1968). Nitrosamines in African alcoholic spirits and oesophageal cancer. *The Lancet*: 1017.
- 12 — *Mottram, D. S., Patterson, R. L. S., Edwards, R. A. and Gough, T. A.* (1977). The preferential formation of volatile N-nitrosamines in the fat of fried bacon. *J. Sci. Fd. Agric.*, 28: 1025 - 1029.
- 13 — *Nakamura, M., Baba, N., Nakaoka, T. and Wada, Y.* (1976). Pathways of formation of N-nitrosopyrrolidine in fried bacon. *J. Food. Sci.*, 41: 874 - 878.
- 14 — *Panalaks, T., Iyengar, J. R., Donaldson, B. A., Miles W. F. and sen, N. P.* (1974). Further survey of cured meat products for volatile N-nitrosamines. *J. A. O. A. C.*, 57 (4): 806 - 812.

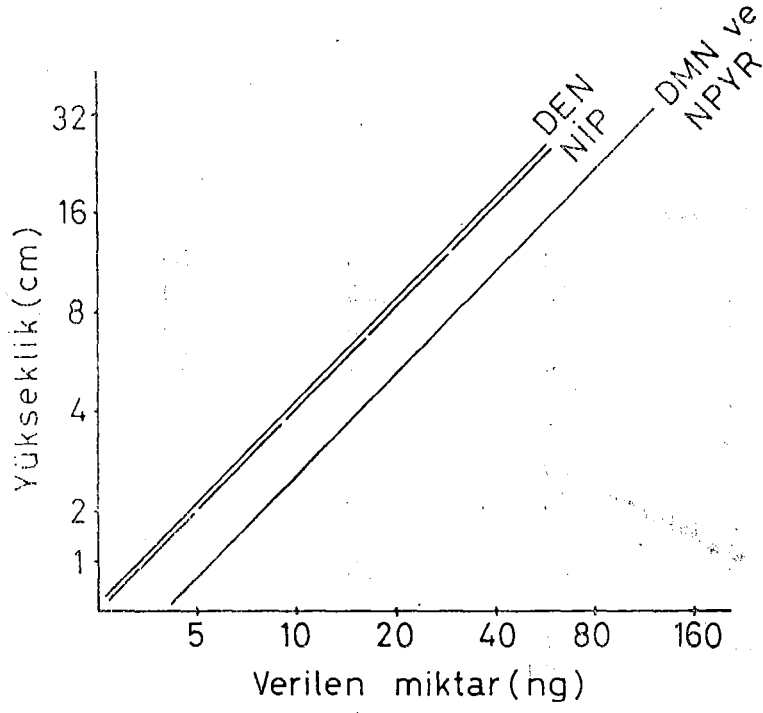
- 15 — Pensabene, J. W., Fiddler, W., Gates, R. A., Fagan, J. C. and Wasserman, A. E. (1974). Effect of frying and other cooking conditions on nitrosopyrrolidine formation in bacon. *J. Fd. Sci.*, 39: 314-315.
- 16 — Pirinçci, İ. ve Acet, A. (1984). Yemlerde nitrat ve nitrit düzeyleri ile ilgili çalışmalar. *A. Ü. Vet. Fak. Dergisi.*, 31 (1): 41 - 42.
- 17 — Preussman, R., Daiber, D. and Hengy, H. (1964). A sensitive colour reaction for nitrosamines on thin-layer chromatograms. *Nature*. 201: 502.
- 18 — Rao, G. S. and Bejnärowicz, E. A. (1976). Thin-layer chromatography of sarcosine and its N-lauroly and N-nitroso derivatives. *J. Chromatogr.*, 123: 486 - 489.
- 19 — Reidmann, M. (1974). Gaschromatographisches screening von nitrosaminen in lebensmitteln mit dem stickstoff-flammenionisations-detektor. *J. Chromatogr.*, 88: 376 - 380.
- 20 — Sakshaug, J., Sögnen, E., Hansen, M. Aas. and Koppange, N. (1968). Dimethylnitrosamine; its hepato-toxic effect in sheep and its occurrence in toxic batches of herring meal. *Nature*, 206: 1261-1262.
- 21 — Sander, J. and Schweinsberg, F. (1972). Wechselbeziehungen zwischen nitrat, nitrit und kanzerogenen N-nitrosoverbindungen. *Z. Mitteilung: Untersuchungen über die entstehung von nitrosaminen und nitrosamiden im menchen, im tier und in nahrungsmitteln.* *Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt: Orig.* B156: 321 - 340.
- 22 — Schwerdtfeger, E. (1977). Das nitrat - nitrosamin - problem bei pflanzlichen nahrungsmitteln. (The problem of nitrate and nitrosamines in food of plant origin). *Qual. Plant.*, (3 - 4): 339 - 348.
- 23 — Sen, N. P. (1970). Gas-liquid chromatographic determination of dimethylnitrosamine as dimethylnitramine at picogram levels. *J. Chromatogr.*, 51: 301 - 304.
- 24 — Sen, N. P. (1972). The evidence for the presence of dimethylnitrosamine in meat products. *Fd. Cosmet. Toxicol.*, 10: 219 - 223.
- 25 — Telling, G. M. (1972). A gas-liquid chromatographic procedure for the detection of volatile N-nitrosamines at the ten parts per billion level in foodstuffs after conversion to their corresponding nitramines. *J. Chromatogr.*, 73: 79 - 87.
- 26 — Terracine, B., Magee, P. N. and Barnes, J. M. (1967). Hepatic pathology in rats on low dietary levels of dimethylnitrosamine. *Brit. J. Cancer.*, 21: 559 - 565.

Tablo: 1 — Sucuk Örneklerinde N-Nitrosamin Düzeyleri
(ppb= μ /kg)

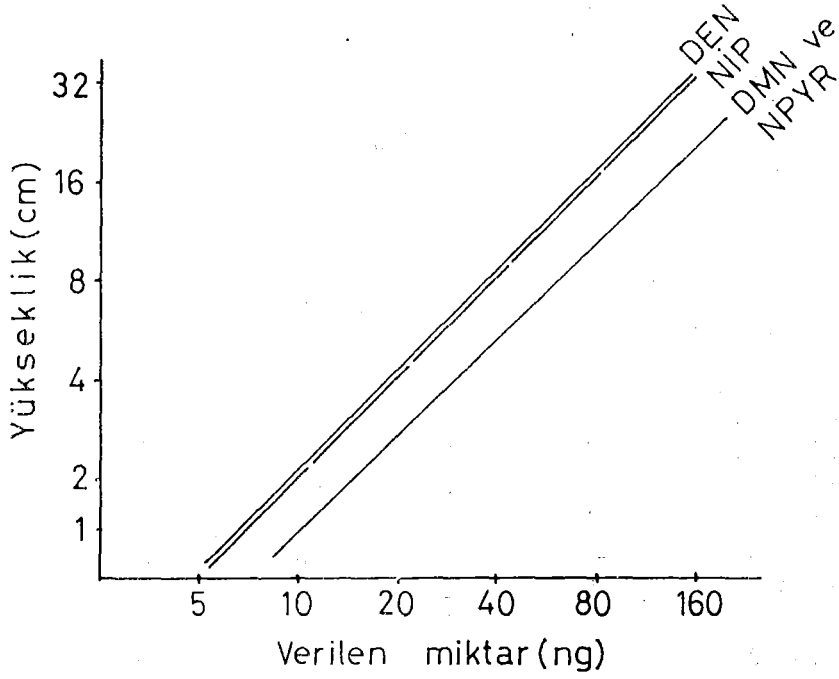
N-Nitrosamin Numune No:	NDMA	NDEA	NPYR	NPİP
1	18	180	25	—
2	30	280	80	—
3	370	600	200	50
4	130	25	25	25
5	160	18	30	50
6	46	164	20	18
7	20	40	12.5	4
8	12	—	14	1.4
9	8	—	7.5	20
10	—	12	32	2.6
11	6.5	15	30	20
12	17	100	18	12
13	5.1	3	12	2.5
14	70	56	88	100
15	60	150	100	125
16	—	60	6.5	125
17	32	40	40	15
18	130	12	40	60
19	15	12.5	105	85
20	35	160	160	70
21	25	60	66	70

Tablo: 2 — Analiz Edilmiş Sucuk Örneklerine Ait Bireysel
Analiz Sonuçlarının Yoğunluk Gruplarına Göre Dağılımı

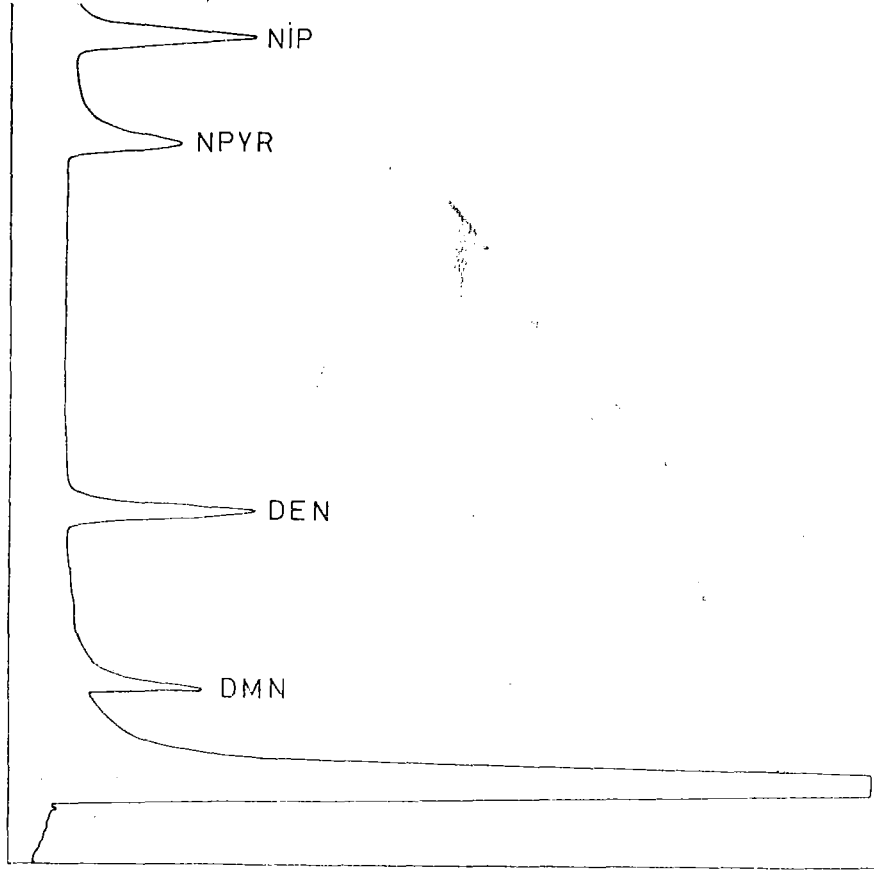
Yoğunluk Grubu (ppb)	NDMA	NDEA	NPYR	NPİP	Değerler %
1.1 - 20.0	8	7	7	10	41
20.1 - 40.0	4	2	7	1	17.95
40.1 - 60.0	2	3	—	3	10.26
60.1 - 80.0	1	—	2	3	6.41
80.1 - 100.0	—	1	2	2	6.41
100.1 - 150.0	2	1	1	1	6.41
150.1 - 200.0	1	3	2	—	7.69
200.1 - 400.0	1	1	—	—	2.56
400.1 - 600.0	—	1	—	—	1.28



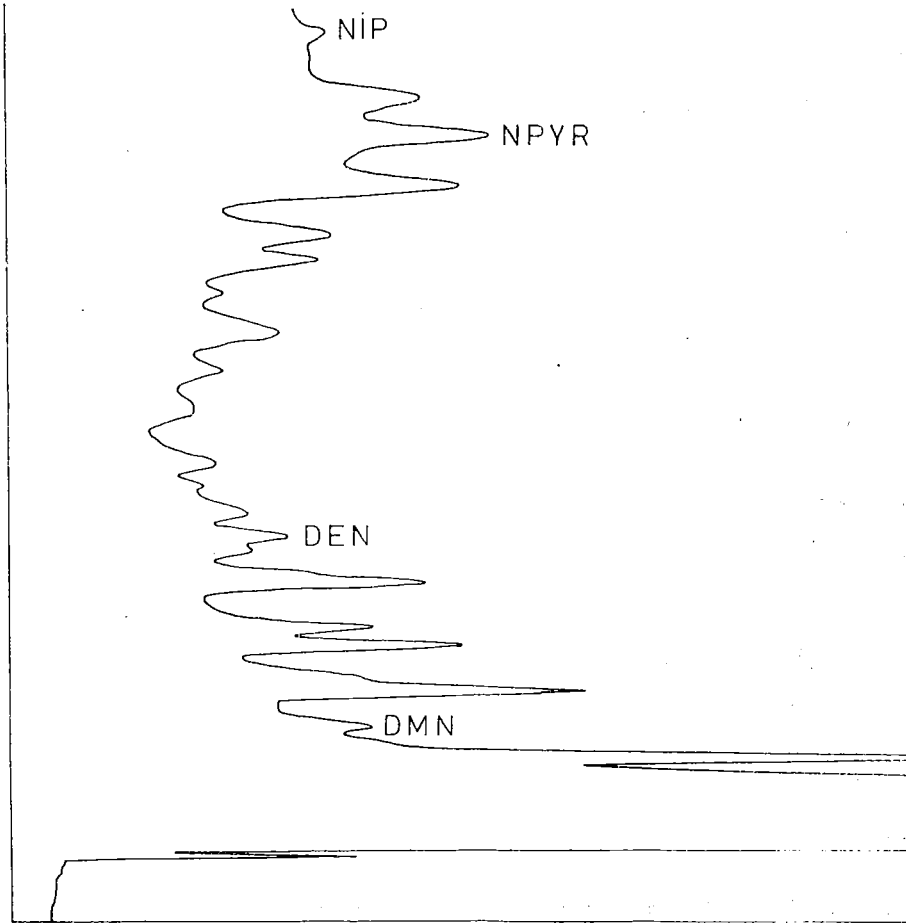
Şekil — 1) Nitrozamin türevleri için elde edilen kalibrasyon eğrisi (At: 5×10^2)
(Calibration curves of nitrosamine derives)



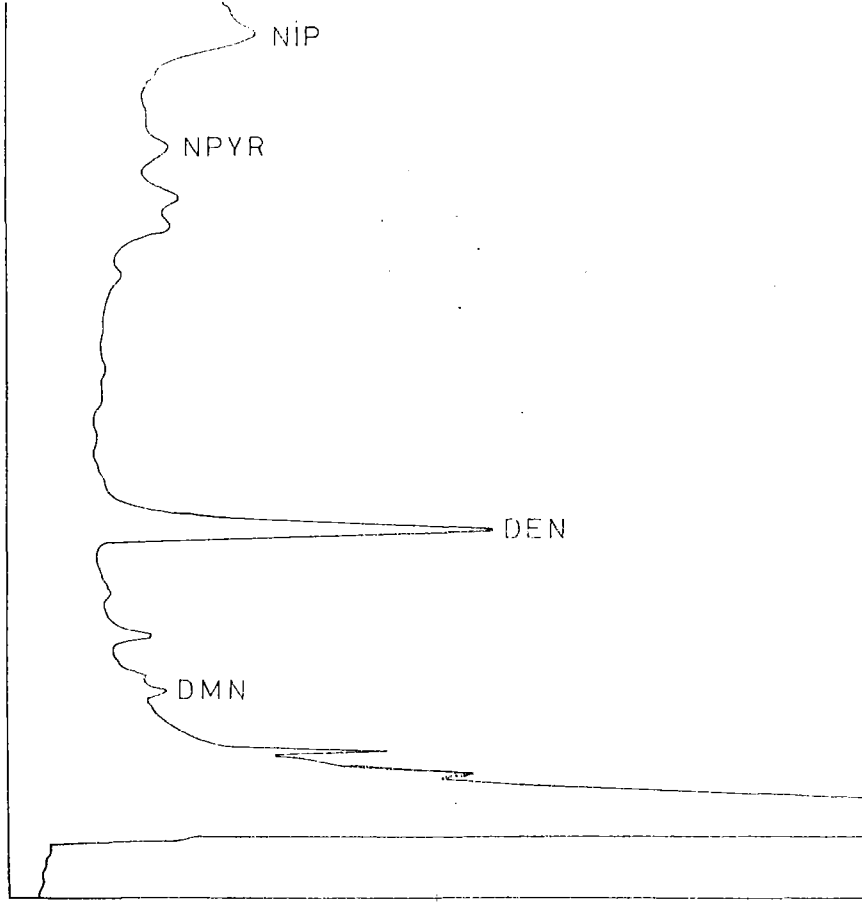
Şekil — 2) Nitrozamin türevleri için elde edilen kalibrasyon eğrisi (At: 10×10^2)
(Calibration curves of nitrosamine derives)



Şekil — 3) Elde edilen standart nitrozamin kromatogramı (At: 50×10^2)
(Chromatogram of standart nitrosamin mixture)



Şekil — 4) Sucuk ekstraktı örneklerinden elde edilen kromatogram (1 μ l)
(At: 5×10^2)
(Chromatogram of sausage taken through the process)



Şekil — 5) Sucuk ekstratı örneklerinden elde edilen kromatogram (1 μ l)
(At: 10×10^2)
(Chromatogram of sausage taken through the process)

