

ISPANAKTA BUZDOLABINDA BEKLETME, PIŞİRME VE DONDURMANIN NİTRAT VE NİTRİT İÇERİĞİNE ETKİSİ¹

Aylin Ayaz^{1**}, Mine Yurttagül²

¹Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Ankara

²Yakın Doğu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, KKTC

Geliş tarihi / Received: 04.06.2012

Düzeltilerek Geliş tarihi / Received in revised form: 13.08.2012

Kabul tarihi / Accepted: 21.08.2012

Özet

Bu araştırma, Ankara toptancı halinde satışa sunulan ıspanaklara (n: 24) uygulanan farklı işlemlerin; yıkama, buzdolabında bekletme (açık ve kapalı ortamda), pişirme (susuz, suda ve ön haşlama) ve dondurarak depolamanın (-18 °C'de 6 ay depolama) nitrat ve nitrit içeriklerine etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Ispanakların nitrat ve nitrit değerleri spektrofotometrik yöntemle analiz edilmiştir. Araştırma sonucunda; nitrat suda çözünen bir bileşik olduğu için yıkama ile miktarının bir miktar azaldığı tespit edilmiştir ($P>0.05$). Susuz pişirme ile nitrat miktarı artmış ($P>0.05$), suda pişirme ile azalmıştır ($P<0.05$). Nitrit miktarları ise, susuz pişirme ($P>0.05$) ve suda pişirme ile azalmıştır ($P<0.05$). Buzdolabında açık ve kapalı ortamlarda bekletme ile kuru ağırlıktaki nitrat miktarları arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır ($P>0.05$). Açık ortamda bekletilen ıspanakların nitrit içeriği azalmış ($P<0.05$), kapalı ortamda bekletilenlerde ise artmıştır ($P>0.05$). Dondurarak depolama süresince, sebzelerin nitrat ve nitrit içeriğinin değişmediği belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Ispanak, nitrat, nitrit, bekletme, pişirme, dondurma

THE EFFECT OF FRIDGE STORING, COOKING AND FREEZING ON THE NITRATE AND NITRITE CONTENTS OF SPINACH

Abstract

The aim of this study was to determine the nitrite and nitrate content of spinach samples (n=24). Spinach samples were washed, either stored in refrigerator (aerobic and anaerobic condition), cooked (without water, with water or pre-boiling) or stored in freezer (18 °C, 6 months). The nitrite and nitrate content of spinach was measured by spectrophotometer. Results showed that a low amount of nitrate reduced after washing since nitrate is water soluble ($P>0.05$). Cooked without water increased the nitrate levels ($P>0.05$) whereas cooking in water reduced ($P<0.05$). Storing in refrigerator did not alter the nitrate levels significantly in both aerobic and anaerobic conditions ($P>0.05$). Both cooked without water ($P>0.05$) and cooking in water ($P<0.05$) reduced the nitrite levels. Nitrite levels decreased when spinach was stored in aerobic condition ($P<0.05$) and increased in anaerobic condition ($P>0.05$). There was no change in the amounts of nitrate and nitrite in vegetables during freeze storing.

Keywords: Spinach, nitrate, nitrite, storing, cooking, freezing

¹ Bu makale ilk yazarın Doktora tezinin bir bölümüdür. *This paper is a part of Ph. D. thesis of the first author*

** Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author* ;

✉ baylin@hacettepe.edu.tr,

☎ (+90) 312 311 9649 /140,

☎ (+90) 312 309 1310

GİRİŞ

Sebzeler vitamin, mineral ve biyolojik aktif bileşikleri içermesi bakımından beslenmemizde önemli bir role sahip olup, nitrat açısından da zengin kaynaklar arasında yer almaktadır. Nitrat ve nitritler ise çevremizde doğal oluşan bileşiklerdir. Nitrat, tüm sebze ve meyvelerin doğal bileşeni olduğu gibi, aynı zamanda içme sularında ve bazı et ve balık ürünlerinde koruyucu olarak da kullanılmaktadır (1-3). Sebzelerdeki nitrat konsantrasyonu bitkinin türüne, genetik yapısına, ışık, sıcaklık gibi çevresel faktörlere ve uygulanan tarımsal işlemlere bağlı olarak değişiklik gösterir (4-11).

Diyetle alınan nitratin çoğunluğunu %70-90 oranında sebzeler oluştururken, daha az oranda su ve diğer besinler oluşturur. Nitrat aynı zamanda endogenez olarak da oluşur. Nitrit ise endogenez nitratin nitrite dönüşümüyle (yaklaşık %70-80) oluşur (8-11). Sebzelerin hasat sırasında içerdiği nitrat miktarı önemli olmakla birlikte, uygulanan çeşitli hazırlama ve pişirme aşamalarında oluşabilecek değişiklikler de önemlidir (3). Nitrat çözünebilir özellikte olduğu için ve kolaylıkla pişirme suyu içine geçtiği için pişirilmiş sebzelerde azalma eğilimi göstermektedir (2, 7). Taze sebzeler pişirildiği zaman nitrat içeriklerinin %14-79 arasında azaldığı saptanmıştır (12). Sebzelerin dondurularak, konserve edilerek veya kurutulularak saklanmalarında çoğunlukla zorunlu olarak uygulanan işlem ön haşlama işlemidir. Bu ara işlem ile nitrat gibi bir kısım kontaminantlar da uzaklaştırılır (13-14). Taze sebzelerin nitrit konsantrasyonları genellikle çok düşük olmasına rağmen kötü depolama koşulları nitratin nitrite indirgenmesine yol açabilir (4). Diyetle nitrat alımındaki farklılıklar, tüketilen sebze türü, tüketilen sebzenin miktarı, sebzedeki ve su kaynağındaki nitrat düzeyine göre farklılık göstermektedir (15-16). Bu çalışmanın amacı, Ankara toptancı haline gelen ıspanaklara uygulanan buzdolabında bekletme, pişirme ve dondurmanın nitrat ve nitrit içeriğine etkisini saptayarak, tüketicilerin nitrat ve nitrit alımlarını azaltmak için öneriler getirmektir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Örneklerin toplanması ve analize hazırlanması

Analizi yapılan ıspanak örnekleri, Ankara toptancı halinden rastgele alınmıştır. Ispanağa uygulanan farklı işlemlerin etkisini saptamak amacıyla ocak, mayıs ve eylül aylarında her ay 8'er adet olmak üzere 24 kez satın alınan ıspanak örneklerinin her birinden en az 6 kg satın alınmıştır. Örnekler analizler için hazırlanmak üzere Hacettepe

Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Besin Hazırlama ve Pişirme Laboratuvarı'na getirilmiş ve nitrat ve nitrit analizleri 24 saat içerisinde Besin Kimyası Laboratuvar'ında yapılmıştır. Ispanaklara uygulanan farklı işlemlerin nitrat ve nitrit içeriklerine etkisi tüm örneklerde ikişer kez çalışılmıştır.

Yıkanmış ıspanaklarda nitrat ve nitrit analizi için; Ispanak örnekleri beslenme ilkeleri göz önünde bulundurularak ayıklanıp, kök kısımları en az 3 cm kesilerek önce musluk suyu ile daha sonrada distile su ile yıkanmıştır. Yıkama suyunun fazlası kaba filtre kağıdı ile alınmıştır.

Buzdolabında açık ve kapalı bekletilen ıspanaklarda nitrat ve nitrit analizi için; Ispanakların kök kısımları en az 3 cm kesilerek, 200 gramı açık olarak fileye konulmuş, 200 gramı ise polietilen torbaya yerleştirilerek olabildiğince havası çıkartılmıştır. Buzdolabının sebzelik kısmında +6 °C'de 1 hafta bekletilmiştir. Ispanak örnekleri yıkandıktan sonra analize alınmıştır.

Susuz ve suda pişirilen ıspanaklarda nitrat ve nitrit analizi için; Ispanaklar ayıklanıp, kök kısımları en az 3 cm kesildikten sonra, susuz ve suda pişirme için 200'er gram tartılmıştır. Ispanaklarda yıkama işlemleri 5 dakika içerisinde yapılmıştır. Ispanaklar yıkandıktan sonra 2-3 dakika süzülmesi için bekletilmiştir. Yıkanan ıspanaklarda fazla suyun alınması için kaba filtre kağıdı kullanılmıştır. Yıkanmış ıspanaklar 3-4 cm genişliğinde doğranmıştır. Susuz pişirme yönteminde, 200g doğranmış ıspanak bekletilmeden çelik tencerede, suda pişirme yönteminde ise 200g doğranmış ıspanak bekletilmeden 200 mL kaynayan distile su içinde 20 dakika pişirilmiştir.

Ev koşullarında dondurulan ıspanakta nitrat ve nitrit analizi için; Ön haşlama işlemi kaynayan su içinde 95 °C'de 120 sn'de içinde yapılmıştır. Ön haşlama için 200g yıkanmış tüm ıspanak, 1L kaynayan distile su içine konularak 2 dakika haşlanarak süzülmüş, 1 L distile buzlu su içerisinde yaklaşık 2 dakika bekletilerek tekrar süzülüdür. Süzüldükten sonra 30-40 dakika içinde soğuyan ıspanak örnekleri polietilen torbalara konularak olabildiğince havası çıkartılmış ve -18 °C'de 6 ay depolanmıştır. Ön haşlama uygulandıktan hemen sonra ve 6 ay boyunca her ayın sonunda nitrat ve nitrit analizleri yapılmıştır.

Yöntem

Sebzelerde nitrat ve nitrit analizinde, kadmiyum kolonu aracılığı ile nitratin nitrite indirgenmesi esasına dayanan yöntem kullanılmıştır (17-19). Bunun için Unicam 8700 Model Spektrofotometreden yararlanılmıştır. Nitrat için dedeksiyon limiti (DL) 5 mg/kg Yaş Ağırlık (YA), nitrit için ise 0.5

mg/kg YA olarak verilmiştir (20). Ispanaklara uygulanan farklı yöntemlere göre doğru ve standart bir karşılaştırmanın yapılması için tüm aşamalarda kuru madde miktarları saptanmıştır (21).

İstatistiksel Değerlendirme

Ölçülen değişkenler için tanımlayıcı istatistik olarak aritmetik ortalama, ortanca ve standart sapma ile değişim katsayısı, median ve % değişim değerleri kullanılmıştır. Ispanaklara uygulanan yıkama, açık ve kapalı ortamlarda bekletme, pişirme ve dondurarak depolama işlemlerinde yaş ve kuru ağırlıktaki nitrat ve nitrit miktarlarında uygulamalar arası farklılık parametrik olmayan testlerden Mann Whitney-U testi ve Kruskal-Wallis Varyans analizi yöntemi ile analiz edilmiştir. Hangi uygulamanın farklı olduğu "Çoklu Karşılaştırmalar" yöntemi kullanılarak saptanmıştır (22).

SONUÇ VE TARTIŞMA

Yıkamanın ve bekletmenin nitrat ve nitrit içeriklerine etkisi

Ispanakların başlangıçtaki ortalama nitrat değerleri yaş ve kuru ağırlıkta sırasıyla; 1931.92mg/kg, 21624.65mg/kg'dır. Ortalama nitrit değerleri ise yaş ve kuru ağırlıkta sırasıyla; 3.63 mg/kg, 36.75 mg/kg'dır. Ispanağa uygulanan işlemlerin nitrat ve nitrit içeriğine etkisi ve yıkamaya göre % değişim

oranları yaş ağırlık ve kuru ağırlık üzerinden Çizelge1-Çizelge4'de gösterilmiştir. Uygulamalar arasındaki farklılıkları kıyaslayabilmek için nitrat ve nitrit içerikleri kuru ağırlık (KA) üzerinden verilmiştir. Yıkama işleminin yaş ağırlık (YA) ve kuru ağırlıktaki nitrat ve nitrit içeriği üzerine etkisini belirlemek için başlangıç değerleriyle karşılaştırılmıştır.

Bu çalışmada ıspanakların başlangıç değerlerine göre yıkama ile yaş ve kuru ağırlıktaki nitrat değerlerinde sırasıyla; %25.5 ve %8.9'luk bir azalma saptanmıştır. Ispanakları yıkama ile yaş ve kuru ağırlıktaki nitrit miktarlarında da başlangıç değerlerine göre sırasıyla; %33.1'lik ve %19.0'lık bir azalma belirlenmiştir.

Açık ve kapalı ortamda 1 hafta bekletilen ve yıkanan ıspanakların nitrat ve nitrit içerikleri de hem yaş hemde kuru ağırlık üzerinden analiz edilmiştir ve % değişim oranları yıkama değerlerine göre yapılmıştır. Açık ortamda bekletilen ıspanakların kuru ağırlıktaki nitrat değerlerinde %7.3'lük, kapalı ortamda bekletilenlerde ise %9.7'lik bir artış saptanmış ancak bu artışlar istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır ($P>0.05$) (Çizelge1). Açık ortamda bekletilen ıspanakların kuru ağırlıktaki nitrit değerlerinde azalma ($P<0.05$), kapalı ortamda bekletilenlerde ise artış saptanmıştır ($P>0.05$) (Çizelge 2).

Nitrat biriktiren kırmızı pancar, turp, ıspanak, havuç,

Çizelge 1. Ispanakları buzdolabında bekletmenin yaş ve kuru ağırlıktaki nitrat miktarlarına etkisi (n: 24)

Table 1. The effect of fridge storage on nitrate level of spinach in fresh and dry weight (n:24)

İşlem Process	\bar{X} * \bar{X} *	Yaş Ağırlık (mg/kg) (Fresh Weight) (mg/kg)					
		S	DK CV	% Değişim % Difference	Ortanca Median	Alt Min	Üst Max
Yıkama Washing	1439.69 ^{ac}	678.653	47.1	0.0	1520.99	29.32	2478.26
Açık ortamda bekletme ve yıkama Aerobic condition and washing	2291.77 ^b	1158.709	50.6	59.2	2208.87	73.85	4072.59
Kapalı ortamda bekletme ve yıkama Anaerobic condition and washing	1535.62 ^c	639.591	41.7	6.7	1507.36	51.55	2416.63
İşlem Process	Kuru Ağırlık (mg/kg) (Dry Weight) (mg/kg)						
Yıkama** Washing	19704.02	9932.011	50.4	0.0	19778.80	301.89	38378.65
Açık ortamda bekletme ve yıkama Aerobic condition and washing	21152.07	11088.585	52.4	7.3	20182.20	878.56	41090.21
Kapalı ortamda bekletme ve yıkama Anaerobic condition and washing	21621.46	9834.597	45.5	9.7	21411.70	786.13	38456.17

* Aynı kolonda farklı harfle gösterilen değerler, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$)

**Kuru ağırlıkta yıkamaya göre ve birbirini takip eden uygulamalar arasındaki farklılık, istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

DK: Değişim Katsayısı

*Different letters in the same column indicate statistical significance ($P<0.05$)

** Washing in dry weight and following procedures did not exhibit a significant difference ($P>0.05$)

CV: Coefficient of Variation

maydanoz, kereviz ve marulda uygun olmayan depolama şartlarında bakteriyel (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Escherichia coli*, *Micrococcus denitrificans* ve *Enterobacter aerogenes* türü bakteriler) metabolizma sonucu nitrattan nitrit üretilmektedir (23). Açık ortamda bekletilmiş ıspanakların yaş ve kuru ağırlıktaki nitrit miktarları başlangıç yıkama değerlerine göre azalmıştır. Toprak mikroorganizması olan *nitrobakterler* aerobik koşullarda nitriti nitrata okside ederler. Bu mikroorganizmaların büyümesi için optimum pH 6.5-8.5, sıcaklık derecesi ise 5-40 °C'dir (24-25). Ispanaklar buzdolabında yıkanmadan 1 hafta bekletildiği için üzerinde bulunan toprak kalıntısındaki mikroorganizmaların faaliyetinin sonucunda buzdolabı sıcaklığında nitritin nitrata dönüştüğü düşünülebilir. Araştırma sonucunda kapalı ortamda bekletilen ıspanakların kuru ağırlıktaki nitrit miktarlarının başlangıç yıkama değerlerine göre farklılık göstermediği saptanmıştır ($P>0.05$).

Ispanaklar vakum altında polietilen torbalara yerleştirilmediği için bir miktar içerisinde hava kalabilmektedir. Bu nedenle tamamıyla anaerobik ortam oluşturulmadığı için, nitratin nitrite dönüşümü engellenmiş olabilir. Araştırmamızın sonucunda kapalı ortamda bekletilen ıspanakların nitrit miktarları, açık ortamda bekletilen ıspanaklardan daha yüksek bulunmuştur. Hasattan sonra da bitkide birtakım kimyasal reaksiyonlar devam etmektedir. Eğer bitkide fazla miktarda nitrat depo edilmiş durumda ise ve sebzeler çok sıkı

bir şekilde depolanıp, taşınırlarsa bitki yeterli oranda oksijen alamadığı için moleküller arası reaksiyonlarda nitrat oksijen verici rol oynar ve nitrite çevrilir (26). Araştırma sonucunda bulduğumuz değerler, Philipps'in (27) çalışmasıyla benzerlik gösterirken, bu konuda yapılan diğer çalışmalardan farklı bulunmuştur (4,28-29).

Piştirme yönteminin (susuz, suda) nitrat ve nitrit içeriklerine etkisi

Araştırma sonucunda susuz pişirilen ıspanakların kuru ağırlıktaki nitrat miktarının %17.7 oranında artış gösterdiği, suda pişirilen ıspanaklarda ise nitrat miktarının %34.9 oranında değişim gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 3). Susuz ve suda pişmiş ıspanakların nitrat ve nitrit miktarları arasındaki farklılık önemli ($P<0.05$) bulunmuştur. (Çizelge 3 ve Çizelge 4).

Piştirilmiş sebzelerde nitrat azalma eğilimindedir. Çünkü nitrat suda çözünebilir özellikte olup, kolaylıkla piştirme suyuna geçebilmektedir (12, 30-33). Araştırma sonucunda, ıspanakta kalan nitrat miktarı %50.6, suya geçen miktar ise %49.4 olarak bulunmuştur. Piştirme ile nitrit miktarı da azalmıştır. Ispanakta kalan nitrit miktarı %40.1, suya geçen miktar ise %59.9 olarak saptanmıştır (Çizelge 3 ve Çizelge 4).

Piştirme ile sebzelerdeki nitratin piştirme suyuna geçiş miktarı, piştirmede kullanılan su miktarı ve piştirme süresine bağlıdır (2,33). Susuz piştirme işlemi kısık ateşte çift tabanlı çelik tencerede yapılmasına rağmen buhar kaybı ve buna bağlı olarak da

Çizelge 2. Ispanakları buzdolabında bekletmenin yaş ve kuru ağırlıktaki nitrit miktarlarına etkisi (n: 24)

Table 2. The effect of fridge storage on nitrite level of spinach in fresh and dry weight (n: 24)

İşlem Process	\bar{X}^* \bar{X}^*	Yaş Ağırlık (mg/kg) (Fresh Weight) (mg/kg)					
		S	DK CV	% Değişim % Difference	Ortanca Median	Alt Min	Üst Max
Yıkama Washing	2.43 ^{ab}	2.843	117.0	0.0	1.22	0.19**	12.11
Açık ortamda bekletme ve yıkama Aerobic condition and washing	1.14 ^a	0.718	63.0	-53.1	1.07	0.23**	3.11
Kapalı ortamda bekletme ve yıkama Anaerobic condition and washing	2.34 ^b	1.828	78.1	-3.7	1.99	0.44**	8.78
İşlem Process		Kuru Ağırlık (mg/kg) (Dry Weight) (mg/kg)					
Yıkama Washing	29.75 ^{ac}	32.159	108.1	0.0	19.72	2.96	147.22
Açık ortamda bekletme ve yıkama Aerobic condition and washing	10.74 ^b	7.181	66.9	-63.9	7.32	3.03	27.54
Kapalı ortamda bekletme ve yıkama Anaerobic condition and washing	31.19 ^c	21.575	69.2	4.8	26.17	8.29	102.01

* Aynı kolonda farklı harfle gösterilen değerler, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$)

** Nitrit miktarları Dedeksiyon Limiti'nin (DL) altında bulunmuştur (DL 0.5 mg/kg)

*Different letters in the same column indicate statistical significance ($P<0.05$)

** Nitrite levels were found to be under the limit of dedection (LOD 0.5 mg/kg)

Ispanakta Buzdolabında Bekletme, Pişirme ve Dondurmanın...

Çizelge 3. Ispanaklara uygulanan farklı işlemlerin yaş ve kuru ağırlıktaki nitrat miktarlarına etkisi (n: 24)
Table3. The effect of different procedures on nitrate levels of spinach in fresh and dry weight (n: 24)

İşlem Process	Yaş Ağırlık (mg/kg) (Fresh Weight) (mg/kg)						
	\bar{X}^* \bar{X}^*	S S	DK CV	% Değişim % Difference	Ortanca Median	Alt Min	Üst Max
Yıkama Washing	1439.69	678.653	47.1	0.0	1520.99	29.32	2478.26
Piştirme Şekli Cooking method							
Susuz piştirme Cooked without water	1852.88	871.114	47.0	28.7	1928.78	52.71	3346.16
Suda piştirmiş** Cooked with water	1891.77			31.4			
Ispanak Spinach	956.38	443.566	46.4	-33.6	1054.33	64.85	1904.65
Piştirme suyu Cooking water	935.39	462.186	49.4	-35.0	1053.96	80.29	2015.51
Ön haşlanmış ıspanak Pre-boiled spinach	744.79	345.877	46.4	-48.3	778.51	29.48	1325.61
Dondurarak Depolama Stored in freezer							
1.Ay (1 st month)	733.42	350.291	47.8	-49.1	738.19	24.98	1233.59
2.Ay (2 nd month)	774.69	377.421	48.7	-46.2	832.73	21.61	1572.54
3.Ay (3 rd month)	760.25	374.884	49.3	-47.2	737.39	26.36	1662.42
4.Ay (4 th month)	764.26	375.117	49.1	-46.9	734.21	22.20	1401.88
5.Ay (5 th month)	769.23	381.184	49.6	-46.6	789.89	23.47	1640.62
6.Ay (6 th month)	781.45	392.620	50.2	-45.7	766.01	24.79	1641.28
İşlem (Process)	Kuru Ağırlık (mg/kg) (DryWeight) (mg/kg)						
Yıkama Washing	19704.02 ^a	9932.011	50.4	0.0	19778.80	301.89	38378.65
Piştirme Şekli Cooking method							
Susuz piştirme Cooked without water	23199.32 ^a	10897.594	47.0	17.7	24547.90	844.77	41096.69
Suda piştirmiş** Cooked with water							
Ispanak Spinach	12817.74 ^{bc}	6268.156	48.9	-34.9	13508.04	874.26	26478.45
Piştirme suyu Cooking water							
Ön haşlanmış ıspanak Pre-boiled spinach	11668.31 ^{bc}	5554.784	47.6	-40.8	12411.69	388.83	22865.58
Dondurarak Depolama Stored in freezer							
1.Ay (1 st month)	11333.53 ^{bc}	5428.355	47.9	-42.5	12197.29	384.05	21407.26
2.Ay (2 nd month)	11823.92 ^{bc}	5709.339	48.3	-40.0	12402.24	332.33	23898.35
3.Ay (3 rd month)	11414.36 ^{bc}	5355.298	46.9	-42.1	11996.48	399.53	22124.01
4.Ay (4 th month)	11493.38 ^{bc}	5537.118	48.2	-41.7	11836.82	363.20	21313.20
5.Ay (5 th month)	11584.36 ^{bc}	5560.182	48.0	-41.2	12205.57	368.04	21488.57
6.Ay (6 th month)	11640.74 ^{bc}	5531.411	47.5	-40.9	12940.99	413.29	21387.00

* Aynı kolonda farklı harfle gösterilen değerler, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$)

** Different letters in the same column indicate statistical significance ($P<0.05$)

** Hesapla bulunmuştur. ** Measured with calculation

kurumadde miktarı fazla bulunmuştur. Suda piştirme yönteminde ise suyun ve ısının etkisine bağlı olarak nitrat miktarı başlangıç değerlerinden yüksek saptanmıştır (yaş ağırlık). Araştırma sonucunda bulduğumuz değerler bu konuda yapılan diğer çalışmalarla benzerlik göstermektedir (34-35).

Ön haşlama ve depolamanın nitrat ve nitrit içeriklerine etkisi

Ön haşlama ve 6 ay - 18 °C'de depolama işlemleri sonucunda kuru ağırlıktaki nitrat miktarları %40.0 ve %42.5 arasında azalma gösterirken, nitrit miktarlarında ise %60.3 ile %67.9 arasında azalma

saptanmıştır (Çizelge 3-4). Ön haşlama ve birbirini takip eden 6 ay depolama süresince nitrat ve nitrit içerikleri arasındaki farklılık önemsiz ($P>0.05$) bulunmuştur.

Yıkanmış ıspanakların nitrat ve nitrit miktarlarına göre, ön haşlama ve 6 ay depolama arasındaki farklılık ise önemli ($P<0.05$) belirlenmiştir. Sebzelede ön haşlama işleminin yapılması nitrat miktarının azaltılması için uygun bir yöntemdir (13). Nitrat gibi iyonik bileşikler 57 °C'nin üzerinde suya geçmektedir. Daha düşük sıcaklıklarda hücre membranlarının geçirgenliği ve bu bileşiklerin suya geçişinin azaldığı saptanmıştır (36).

Başlangıç yıkama değerine göre ön haşlama uygulanan ıspanakların kuru ağırlıktaki nitrat miktarının %40.8'inin, nitrit miktarının ise %63.9'unun azaldığı bulunmuştur. Araştırmamızda ön haşlama işlemini takiben dondurulmuş ıspanaklar analiz edilmeden önce buzdolabı sıcaklığında çözdürülmüştür. Philipps (27), yaptığı bir çalışmada dondurulmuş ıspanakların depolanması süresince nitrit miktarında değişme olmadığını, ancak dondurulmuş ıspanak oda sıcaklığında 39 saat çözdürüldüğünde nitrit içeriğinin arttığını belirlemiştir. Nitrat redüktaz aktivitesinin pişirme süresince hızla kayba uğraması, nitratın nitrite dönüşümünü azaltmaktadır. Ayrıca buzdolabında

dondurarak bekletme ile mikrobiyal üreme de engellendiği için nitrit miktarında artış olmayacaktır. Araştırmamızın sonucunda ıspanakların depolanması ile oluşan değişimler, bu konuda yapılan çalışmalarla benzer bulunmuştur (12, 27). Türk Gıda Kodeksi-Bulaşanlar Yönetmeliği'ne (12 Aralık 2011) göre dondurulmuş ıspanak için maksimum izin verilen nitrat miktarı 2000 mg/kg YA olarak belirtilmiştir (37). Araştırma sonucunda bulduğumuz değerler bu değerin altındadır.

Normal koşullarda sebzelerin içerdiği nitrat ve nitrit miktarlarının insan sağlığı üzerine olumsuz etkisi bulunmamaktadır. Fakat yüksek düzeyde nitrit içeren ve uygun koşullarda işlenmeyen

Çizelge 4. Ispanaklara uygulanan farklı işlemlerin yaş ve kuru ağırlıktaki nitrit miktarlarına etkisi (n: 24)
Table 4. The effect of different procedures on nitrite levels of spinach in fresh and dry weight (n: 24)

İşlem Process	Yaş Ağırlık (mg/kg) (Fresh Weight) (mg/kg)						
	\bar{X}^* \bar{X}^*	S	DK CV	% Değişim % Difference	Ortanca Median	Alt Min	Üst Max
Yıkama Washing	2.43	2.843	117.0	0.0	1.22	0.19**	12.11
Piştirme Şekli Cooking method							
Susuz pişme Cooked without water	1.48	0.889	60.1	-39.1	1.25	0.11**	4.28
Suda pişmiş*** Cooked with water	2.02			-16.87			
Ispanak Spinach	0.81	0.372	45.9	-66.7	0.74	0.09**	1.63
Piştirme suyu Cooking water	1.21	0.844	69.8	-50.2	1.08	0.10**	3.09
Ön haşlama Pre-boiled spinach	0.69	0.359	52.0	-71.6	0.67	0.10**	1.78
Dondurarak Depolama Stored in freezer							
1. Ay (1 st month)	0.73	0.225	30.8	-70.0	0.74	0.27**	1.2
2. Ay (2 nd month)	0.62	0.209	33.7	-74.5	0.65	0.19**	1.11
3. Ay (3 rd month)	0.76	0.400	52.6	-68.7	0.69	0.27**	2.04
4. Ay (4 th month)	0.78	0.382	49.0	-67.9	0.63	0.23**	1.75
5. Ay (5 th month)	0.64	0.297	46.4	-73.7	0.57	0.19**	1.36
6. Ay (6 th month)	0.62	0.254	41.0	-74.5	0.65	0.10**	1.19
İşlem (Process)	Kuru Ağırlık (mg/kg) (DryWeight) (mg/kg)						
Yıkama Washing	29.75 ^a	32.159	108.1	0.0	19.72	2.96	147.22
Piştirme Şekli Cooking method							
Susuz pişme Cooked without water	17.84 ^a	8.328	46.7	-40.0	16.22	1.04	39.29
Suda pişmiş*** Cooked with water							
Ispanak Spinach	10.91 ^{b,c}	5.007	45.9	-63.3	11.09	1.01	23.35
Piştirme suyu Cooking water							
Ön haşlanmış ıspanak Pre-boiled spinach	10.73 ^{b,c}	5.057	47.1	-63.9	11.21	1.33	21.05
Dondurarak Depolama Stored in freezer							
1. Ay (1 st month)	11.81 ^{b,c}	4.702	39.8	-60.3	10.74	4.44	23.79
2. Ay (2 nd month)	9.55 ^{b,c}	3.356	35.1	-67.9	9.35	2.86	15.43
3. Ay (3 rd month)	11.54 ^{b,c}	5.543	48.0	-61.2	10.05	3.97	25.92
4. Ay (4 th month)	11.01 ^{b,c}	5.164	46.9	-63.0	10.37	0.61	24.24
5. Ay (5 th month)	9.86 ^{b,c}	5.107	51.8	-66.9	9.25	2.30	24.34
6. Ay (6 th month)	9.75 ^{b,c}	4.302	44.1	-67.2	10.48	1.15	18.14

* Aynı kolonda farklı harfle gösterilen değerler, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.05$) *Different letters in the same column indicate statistical significance ($P < 0.05$)

** Nitrit miktarları DL'nin altında bulunmuştur (DL 0.5 mg/kg) ** Nitrite levels were found to be under the limit of detection (LOD 0.5 mg/kg) *** Hesapla bulunmuştur. **Measured with calculation.

sebzelerin özellikle duyarlı bir grup olan bebekler tarafından tüketiminin sağlık üzerine riski göz ardı edilmemelidir. Yapılan bir araştırmada, nitrat içeriği yüksek olan sebzelerin günlük 350 g veya daha fazla tüketiminde, pişirme metodu ve tüketim sıklığına dikkat edilmesi gerektiği belirtilmektedir (38). Yetişkinler için JECFA'nın (Katkı Maddeleri Üzerinde Çalışan Ortak Uzmanlar Komitesi) önerdiği ADI (Kabul edilebilir Günlük Alım) değerleri; nitrat için 0-3.7mg/kg vücut ağırlığı; nitrit için 0-0.06 mg/kg'dır. Buna göre 60 kg ağırlığındaki bir yetişkinin günlük alabileceği maksimum nitrat ve nitrit miktarları sırasıyla; 222 mg ve 3.6 mg'dır (10,39).

Sonuç olarak;

-Sebzeler satın alındıktan sonra buzdolabı sıcaklığında en fazla 1-2 gün bekletilerek kısa sürede tüketilmelidir. Sebzeler buzdolabı sıcaklığında bekletildiğinde ortamın havalandırma koşullarına dikkat edilmeli ve sıkıca paketlenmemelidir.

-Ispanak gibi nitrat içeriği yüksek olan koyu yeşil yapraklı sebzelerin 4 ayın altındaki bebeklerde kullanımına dikkat edilmelidir. Hazır bebek mamaları, sebze püreleri ve sebze konserveleri nitrat ve nitrit kontaminasyonu açısından da analiz edilmelidir.

-Koyu yeşil yapraklı sebzeler pişirildiği zaman oda sıcaklığı gibi mikroorganizma büyümesine izin verecek ortamda bekletildiğinde nitrat nitrite dönüşebilir. Bu durumda pişirilen besinler uygun depolama sıcaklığında bekletilerek en fazla 1-2 gün içerisinde tüketilmelidir.

-Dondurularak depolama sırasında nitrat ve nitrit içeriği değişmediği için sebzeler uzun süre dondurularak saklanabilir. Çözdürme ile mikrobiyal indirgenme ile nitrit miktarı artacağı için dondurulmuş sebzeler, oda sıcaklığında çözdürülmemelidir.

Teşekkür

Bu araştırma Hacettepe Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenen HÜAF 99. T11.102.001 numaralı projenin bir bölümüdür.

KAYNAKLAR

1. Santamaria P, Elia A, Serio F, Todaro E. 1999. A survey of nitrate and oxalate content in fresh vegetables. *J Sci Food Agr*, 79:1882-1888.
2. Prasad S, Chetty AA. 2008. Nitrate-N determination in leafy vegetables, study of the effects of cooking and freezing. *Food Chem*, 106:772-780.

3. Schuster BE, Lee K. 1987. Nitrate and nitrite methods of analysis and levels in raw carrots, processed carrots and in selected vegetables and grain products. *J Food Sci*, 52 (6):1632-1636.

4. Chung JC, Chou SS, Hwang DF. 2004. Changes in nitrate and nitrite content of four vegetables during storage and refrigerated and ambient temperatures. *Food Addit Contam*, 20(4):317-322.

5. Artık N, Poyrazoğlu ES, Şimşek A, Kadakal Ç, Karkaçer M. 2002. Enzimatik yöntemle bazı sebze ve meyvelerde nitrat düzeyinin belirlenmesi. *GI-DA*, 27(1):5-13.

6. Concon JM (ed). 1988. *Food Toxicology, Principles and Concepts*. Part A, Marcel Dekker INC, USA, 628-675p.

7. Mendicoa JC, Astiasaran I, Bello J. 1997. Nitrate and nitrite levels in fresh and frozen broccoli. Effect of freezing and cooking. *Food Chem*, 58(1-2):39-42.

8. WHO. 2003. Nitrate and nitrite – intake assessment. In: Safety evaluation of certain food additives (Food additives Series 50). Geneva www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v50je07.htm (Accessed 10 May 2012)

9. US EPA. 2007. Nitrates and nitrites–Teach Chemical Summary. www.epa.gov/teach/chem_summ/Nitrates_summary.pdf (Accessed 20 May 2012)

10. EFSA. 2008. Opinion of the scientific panel on contaminants in food chain on a request from the European Commission to perform a scientific risk assessment on nitrate in vegetables. *EFSA Journal*. 69: 1-79.

11. WHO. 1996. Nitrate. In: Safety evaluation of certain food additives (Food additives Series 35). Geneva. www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v35je14.htm (Accessed 30 May 2012)

12. Bednar CM, Kies C, Carlson M. 1991. Nitrate –nitrite levels in commercially processed and home processed beets and spinach. *J Agr Food Chem*, 41:261-268.

13. Jaworska G. 2005. Nitrates, nitrites and oxalates in products of spinach and New Zealand spinach, effect of technological measures and storage time on the level of nitrates, nitrites, and oxalates in frozen and canned products of spinach and New Zealand spinach. *Food Chem*, 93:395-401.

14. Yurdagel Ü, Ural A, Pazır F. 1988. Ispanağın dondurulmaya uygunluğu ve donmuş depolanması üzerine araştırma. *EÜ Mühendislik Fakültesi Dergisi*, 6(1):75-83.

15. Eichholzer M, Gutzwiller F. 1998. Dietary nitrates, nitrites and N-nitroso compounds and cancer risk: a review of the epidemiologic evidence. *Nutr Rev*, 56(4):95-105.
16. Pennington J. 1998. Dietary exposure models for nitrates and nitrites. *Food Control*, 9(6):385-395.
17. Sen NP, Donaldson B. 1978. Improved colorimetric method for determining nitrate and nitrite in foods. *J Assoc Off Ana Chem*, 61(6): 1389-1394.
18. ISO 1984. Fruits, vegetables and derived products. Determination of nitrite and nitrate content. Molecular absorption spectrometric method. First edition, Ref. No. ISO 6635.
19. TSE 1988. Meyve, sebze ve mamulleri- nitrit ve nitrat tayini-moleküler absorpsiyon spektrometrik method. Birinci Baskı, TS 6183.
20. IDF 1984. Cheese: determination of nitrate and nitrite contents-method by cadmium reduction and photometry, 84 A.
21. AOAC. 1984. Official Methods of Analysis. 14th Edition, Association of Official Analytical Chemists INC, Virginia.
22. Siegel S.(ed). 1988. *Non Parametric Statistics for the Behavioral Sciences*. Second edition, Mc Graw-Hill, Ins, 399p.
23. Zengin M. 1997. Nitratın ıspanak bitkisinde birikimi ve topraktan yıkanması üzerine bazı azotlu gübrelerin etkileri. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Toprak ABD, Doktora Tezi, Konya, Türkiye.
24. Watson SW. 1974. Gram-negative chemolithotrophic bacteria. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, Gibbons NE and Buchanan RE (chief eds), 8th Edition, The Williams&Wilkins Company, Baltimore, pp.450-464.
25. Pelczar MJ (ed), Chan ECS, Krieg NK. 1986. The world of bacteria III: bacteria with unusual properties. *Microbiology*, 5th Edition, McGraw-Hill Book Company, Singapore, pp. 313-314.
26. Yang YJ. 1992. Effect of storage treatment on NO₃ and NO₂ contents in vegetables. *J Korean Society for Horticultural Sciences*, 33(2):125-130.
27. Phillips WEJ. 1968a. Changes in the nitrate and nitrite contents of fresh and processed spinach during storage. *J Agric Food Chem*, 16:88-91.
28. Heisler EG, Siciliano J, Krulick S and etal. 1974. Changes in nitrate and nitrite content and search for nitrosamines in storage-abused spinach and beets. *J Agr Food Chem*, 22 (6):1029-1032.
29. Minotti PL. 1978. Potential nitrate levels in edible plant parts. *Nitrogen in the Environment Soil-Plant-Nitrogen Relationships*. Donald RN and Macdonald JG (chief eds), Vol:2, Academic press, London, pp. 235-252.
30. Zhou ZY, Wang MH, Wang JS. 2000. Nitrate and nitrite contamination in vegetables in China. *Food Rev Int*, 16(1):61-76.
31. Ezeagu IE. 1995. Effect of wilting and processing on the nitrate and nitrite contents some Nigerian leaf vegetables. *Nutr Health*, 10:269-275.
32. Fletcher JR, Law SJ, Walters AH. 1987. Effect of cooking on the nitrate levels in vegetables. *Nutr Health*, 5 (1/2):53-60.
33. Leszczynska T, Filipiak-Florkiewicz A, Cieslik E, Sikora E, Pisulewski PM. 2009. Effects of some processing methods on nitrate and nitrite changes in cruciferous vegetables. *J Food Composition and Analysis*, 22:315-321.
34. Abo Bakr TM, El-Iraqi SM, Huissen MH. 1986. Nitrate and nitrite contents of some fresh and Processed Egyptian Vegetables, *Food Chem*, 19:265-275.
35. Aktaş N, Çakıroğlu P, Güneş A. 1993. Değişik hazırlama ve pişirme yöntemlerinin ıspanak bitkisinin nitrat ve nitrit kapsamına etkisi. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 22 (1):59-68.
36. Gaiser M, Rathjen A, Spiess WEL.1996. Nitrate extraction during blanching of spinach. *Lebensm -Wiss-Technol.*, 30:432-435.
37. Anon 2011. Türk Gıda Kodeksi, Bulaşanlar Yönetmeliği, Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, 29 Aralık 2011 tarih ve 28157 sayılı Resmi Gazete, Ankara.
38. Murato M, Sugiyama S, Ueda A, Ishinaga M. 2010. Contents of nitrate and nitrite in menus containing more than 350 g of vegetables per day. *Food Hygiene and Safety Science*, 51 (1): 10-18.
39. Speijers GJA.1996. Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants in food. The forty-fourth meeting of the joint FAO/WHO expert committee on Food Additives (JECFA), World Health Organization Series: 35, Geneva.