

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



FERMENTE SUCUKLARDA BİYOJEN AMİN VE
***N*-NİTROZAMİN OLUŞUMU ÜZERİNE BAZI**
FAKTÖRLERİN ETKİSİ VE BİYOJEN AMİN -
***N*-NİTROZAMİN İLİŞKİSİNİN BELİRLENMESİ**

DOKTORA TEZİ

GÜLSÜME BIÇAKCI

BOLU, ŞUBAT - 2021

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI



FERMENTE SUCUKLARDA BİYOJEN AMİN VE
N-NİTROZAMİN OLUŞUMU ÜZERİNE BAZI
FAKTÖRLERİN ETKİSİ VE BİYOJEN AMİN -
N-NİTROZAMİN İLİŞKİSİNİN BELİRLENMESİ

DOKTORA TEZİ

GÜLSÜME BIÇAKCI

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Ömer EREN

BOLU, ŞUBAT - 2021

KABUL VE ONAY SAYFASI

Gölsüme BİÇAKCI tarafından hazırlanan “**FERMENTE SUCUKLARDA BİYOJEN AMİN VE N-NİTROZAMİN OLUŞUMU ÜZERİNE BAZI FAKTÖRLERİN ETKİSİ VE BİYOJEN AMİN - N-NİTROZAMİN İLİŞKİSİNİN BELİRLENMESİ**” adlı tez çalışması jürimiz tarafından Gıda Mühendisliği Anabilim Doktora Tezi olarak oy birliğiyle kabul edilmiştir. 5/02/2021

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Prof. Dr. Ömer EREN
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Şükrü KURT
Adıyaman Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Hande Selen ERGE
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Yusuf TUNÇTÜRK
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Semra TURAN
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. Osman GÖRÜR

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir,

aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

.....
GÜLSÜME BIÇAKCI

ÖZET

FERMENTE SUCUKLARDA BİYOJEN AMİN VE N-NİTROZAMİN OLUŞUMU ÜZERİNE BAZI FAKTÖRLERİN ETKİSİ VE BİYOJEN AMİN - N-NİTROZAMİN İLİŞKİSİNİN BELİRLENMESİ

DOKTORA TEZİ

GÜLSÜME BİÇAKCI

BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. ÖMER EREN)

BOLU, ŞUBAT - 2021

XIV + 138 sayfa

Bu çalışmada, Türk tipi fermente sucuğun fermantasyon ve depolamanın son günlerinde sucuğun fiziksel-kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerinde bazı faktörlerin etkileri araştırılmıştır. Yanıt Yüzey Yöntemine göre dört merkez noktalı Merkezi Birleşik Desen esas alınarak farklı konsantrasyonlarda (sodyum nitrit: 0, 75, 150 ppm; α - tokoferol: 0, 100, 200 ppm; potasyum sorbat: 0, 1500, 3000 ppm) kombinasyonları oluşturulan faktörlerin ayrıca iyon değerleri, biyojen amin ve N-nitrozamin bileşiklerinin birbirleriyle ilişkisi üzerindeki etkileri incelenmiştir.

Türk tipi fermente sucuğun fermantasyonun son gününde elde edilen iyon (NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^-) değerleri, biyojen amin ve N-nitrozamin bileşiklerinin bazıları arasında korelasyonlar tespit edilmiştir. Sperminin N-nitrozodimetilamin ile arasındaki ve N-nitrozodibütilamin ile arasındaki negatif korelasyonun önemli ($P<0.05$) olduğu saptanmıştır. Tiramin ile N-nitrozomorfolin arasında ve tiramin ile N-nitrozodifenilamin arasında belirlenen negatif korelasyonların önemli ($P<0.05$) olduğu bulunmuştur. Putresin ile N-nitrozopiperidin arasında önemli ($P<0.05$) derecede negatif korelasyon olduğu tespit edilmiştir. NH_4^+ ile spermin arasında önemli derecede ($P<0.05$) pozitif korelasyon olduğu belirlenmiştir. NO_3^- 'nin N-nitrozodietilamin ile arasında çok önemli ($P<0.01$), N-nitrozopiperidin arasında önemli ($P<0.05$) derecede pozitif korelasyon olduğu belirlenmiştir. NO_2^- ile N-nitrozodibütilamin arasında ve NO_2^- ile N-nitrozodietilamin arasında saptanan pozitif korelasyon çok önemli ($P<0.01$) ve NO_2^- ile N-nitrozometilamin arasında pozitif korelasyon önemli ($P<0.05$) bulunmuştur.

Depolamanın son gününde iyon değerleri ile biyojen amin ve N-nitrozamin bileşiklerinin oluşumları arasında korelasyon olmadığı ($P>0.05$), biyojen amin N-nitrozamin ilişkisine bakıldığında ise tiramin ile N-nitrozopirolidin arasında ($P<0.01$) ve triptamin ile N-nitrozodietilamin arasında ($P<0.05$) önemli bir pozitif korelasyon olduğu saptanmıştır. α - tokoferol ve potasyum sorbatın fermente sucuk üretiminde sodyum nitrit ile kombinasyon halinde kullanımının kalıntı nitrit miktarını önemli düzeyde azaltabileceği, böylece N-nitrozamin inhibisyonunun sağlanabileceği düşünülmektedir.

ANAHTAR KELİMELELER: Kalıntı Nitrit, Biyojen Amin, N-Nitrozamin, Fermente Sucuk, Yanıt Yüzey Yöntemi

ABSTRACT

EFFECTS OF SOME FACTORS ON FORMATIONS OF BIOGENIC AMINES AND *N*-NITROSAMINES IN FERMENTED SAUSAGES AND DETERMINATION OF BIOGENIC AMINES - *N*-NITROSAMINES

RELATIONSHIP

PHD THESIS

GÜLSÜME BIÇAKCI

BOLU ABANT İZZET BAYSAL UNIVERSITY

INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES

DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING

(SUPERVISOR: PROF. DR. ÖMER EREN)

BOLU, FEBRUARY 2021

XIV + 138 pages

In this study, the effects of some additives on physical-chemical and microbiological properties were investigated at the end of fermentation and on the last day of storage of Turkish fermented sausage. According to Response Surface Methodology with Central Composite Design including four center points, the effects of the combinations of the factors at different concentrations (sodium nitrite: 0,75,150 ppm; α -tocopherol: 0,100,200 ppm; potassium sorbate: 0,1500,3000 ppm) on the relationships between anion values, biogenic amine and *N*-nitrosamine compounds were studied, also.

Correlations between the ion (NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^-) values, some of the biogenic amine and *N*-nitrosamine compounds obtained on the last day of fermentation of Turkish fermented sausage were determined. It was determined that the negative correlation between spermine and *N*-nitrosodimethylamine and between *N*-nitrosodibutylamine was significant ($P < 0.05$). Negative correlations between tyramine and *N*-nitrosomorpholine and between tyramine and *N*-nitrosodiphenylamine were found to be significant ($P < 0.05$). A significant ($P < 0.05$) negative correlation was found between putresin and *N*-nitrosopiperidine. It was determined that there was a significant ($P < 0.05$) positive correlation between NH_4^+ and spermine. It has been determined that there was a very significant ($P < 0.01$) positive correlation between NO_3^- and *N*-nitrosodiethylamine and a significant ($P < 0.05$) degree of positive correlation between *N*-nitrosopiperidine. The positive correlation between NO_2^- and *N*-nitrosodibutylamine and between NO_2^- and *N*-nitrosodiethylamine was found to be significant ($P < 0.01$) and a positive correlation between NO_2^- and *N*-nitrosomethylethylamine was found to be significant ($P < 0.05$).

On the last day of storage, There were no correlations ($P > 0.05$) between ion values and the formations of biogenic amines and *N*-nitrosamines and according to biogenic amine *N*-nitrosamine relationship, it was found that a significant positive correlation between tyramine and *N*-nitrosopyrrolidine ($P < 0.01$) and between triptamine and *N*-nitrosodiethylamine ($P < 0.05$).

It is thought that the use of α -tocopherol and potassium sorbate in combination with sodium nitrite in fermented sausage production can significantly reduce the residual nitrite amount, thus achieving *N*-nitrosamine inhibition.

KEYWORDS: Residual Nitrite, Biogenic Amine, *N*-nitrosamine, Fermented Sausage, Response Surface Methodology

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
ETİK BEYAN.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
TABLO LİSTESİ	x
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	xiv
TEŞEKKÜR	xvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	26
3.1 Materyal.....	26
3.2 Metot	26
3.2.1 Deneme Planı	26
3.2.2 Sucuk Üretimi	26
3.3 Fiziksel-Kimyasal ve Mikrobiyolojik Analizler.....	28
3.3.1 pH Tayini	28
3.3.2 Nem Tayini	28
3.3.3 Yağ Tayini	28
3.3.4 Protein Tayini	28
3.3.5 Proteoliz (Protein Yapısında Olmayan Azot; NPN) Tayini.....	29
3.3.6 Lipoliz (Serbest Yağ Asidi) Tayini.....	29
3.3.7 Peroksit Değeri Tayini	30
3.3.8 Tiyobarbitirik Asit (TBA) Sayısının Belirlenmesi	30
3.3.9 Spektrofotometrik Yöntem ile Nitrozomiyoglobin Tayini	31
3.3.10 Spektrofotometrik Yöntem ile Toplam Tokoferol Tayini	31
3.3.11 İyon Kromatografi ile Anyon – Katyon Tayini	32
3.3.12 Renk Değerlerinin Ölçümü.....	34
3.3.13 Biyojen Amin Bileşiklerinin Belirlenmesi	34
3.3.14 N-Nitrozamin Bileşiklerinin Belirlenmesi	36
3.3.15 Mikrobiyolojik Analizler	37
3.4 İstatistiksel Analizler	38
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	39
4.1 Hammadde için Kimyasal Analiz Bulguları.....	39
4.2 Fermantasyonun Son Gününe ait Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Analiz Bulguları.....	39
4.2.1 pH Değeri.....	39
4.2.2 Nem Oranı.....	41
4.2.3 Yağ Oranı.....	41
4.2.4 Protein Oranı.....	42

4.2.5	Proteoliz Oranı.....	43
4.2.6	Lipoliz Oranı.....	44
4.2.7	Peroksit Değeri	45
4.2.8	TBA Sayısı.....	46
4.2.9	Nitrozomiyogloblin Oranı.....	47
4.2.10	Toplam Tokoferol Miktarı	48
4.2.11	İyon Değeri	49
4.2.12	Renk Değeri.....	52
4.2.13	Biyojen Amin Değeri.....	55
4.2.14	N-Nitrozamin Değeri	58
4.2.15	Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları	61
4.3	Depolamanın Son Gününe ait Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Analiz Bulguları	65
4.3.1	pH Değeri.....	65
4.3.2	Nem Oranı.....	66
4.3.3	Yağ Oranı.....	67
4.3.4	Protein Oranı.....	68
4.3.5	Proteoliz Oranı.....	69
4.3.6	Lipoliz Oranı.....	70
4.3.7	Peroksit Değeri	71
4.3.8	TBA Sayısı.....	72
4.3.9	Nitrozomiyogloblin Oranı.....	73
4.3.10	Toplam Tokoferol Miktarı	74
4.3.11	İyon Değeri	75
4.3.12	Renk Değeri.....	76
4.3.13	Biyojen Amin Değeri.....	79
4.3.14	N-Nitrozamin Değeri	83
4.3.15	Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları	86
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	89
5.1	Fermantasyonun Son Gününde Türk Tipi Fermente Sucuğun Analiz Sonuçları.....	89
5.2	Depolamanın Son Gününde Türk Tipi Fermente Sucuğun Analiz Sonuçları.....	91
6.	KAYNAKLAR.....	95
7.	EKLER.....	105
8.	ÖZGEÇMİŞ.....	137
9.	ORİJİNALLİK RAPORU.....	138

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 3.1.1. Fermente ette kürlenmiş kırmızı pigment nitrozomiyoglobinin oluşumuna sebep olan nitrat ve nitritin reaksiyonları	13
Şekil 3.1.2. Fermente et ürünlerinde azot döngüsü.....	14
Şekil 3.1.3. Et ve et ürünlerinde <i>N</i> -nitrozaminlerin ve öncüllerinin oluşumunu etkileyen faktörler (17).....	19
Şekil 3.3.1. α - tokoferol kalibrasyon eğrisi.....	32
Şekil 4.2.1. pH değeri üzerine α - tokoferol ve potasyum sorbatın etkisi.....	40
Şekil 4.2.2. TBA değeri üzerinde sodyum nitrit ve α - tokoferolün etkisi.....	47
Şekil 4.2.3. L^* iç kesit değeri üzerine sodyum nitrit ve potasyum sorbatın etkisi..	53
Şekil 4.2.4. <i>N</i> -nitrozodipropilamin üzerine sodyum nitrit ve potasyum sorbatın etkisi	60
Şekil 4.2.5. Mikrokok/Stafilokok sayısı üzerine α - tokoferol ve potasyum sorbatın etkisi	62
Şekil 4.3.1. pH değeri üzerine sodyum nitrit ve α - tokoferolün etkisi.....	66
Şekil 4.3.2. Toplam tokoferol miktarı üzerine sodyum nitrit ve potasyum sorbatın etkisi	75
Şekil 4.3.3. L^* iç kesit değeri üzerine sodyum nitrit ve α - tokoferolün etkisi....	77
Şekil 4.3.4. Putresin değeri üzerine sodyum nitrit ve potasyum sorbatın etkisi	80
Şekil 4.3.5. Kadaverin değeri üzerine sodyum nitrit ve α - tokoferolün etkisi...	82

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1.1. Et starter kültürü olarak kullanılan mikroorganizma türlerinden bazıları.....	7
Tablo 3.1.2. Fermente sucukların mikrobiyatasında etkili olan faktörler	8
Tablo 3.1.3. Ön maddelerin oluşturduğu bazı biyojen aminler	9
Tablo 3.1.4. Uçucu ve uçucu olmayan <i>N</i> -Nitrozaminler.....	17
Tablo 3.2.1. Yanıt Yüzey Yöntemi ile faktörlerin belirlenen kombinasyonları... ..	27
Tablo 3.3.1. İyon değerlerine ait LOD ve LOQ değerleri	33
Tablo 4.1.1. Hammadde olarak kullanılan et ve yağlara ait kimyasal analiz bulguları	39
Tablo 4.2.1. pH değeri üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları..	40
Tablo 4.2.2. Nem oranı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları	41
Tablo 4.2.3. Yağ oranı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları..	42
Tablo 4.2.4. Protein oranı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz.....	43
Tablo 4.2.5. Proteoliz oranı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları	43
Tablo 4.2.6. Lipoliz oranı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları.. ..	44
Tablo 4.2.7. Peroksit değeri üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları	45
Tablo 4.2.8. TBA sayısı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları.....	46
Tablo 4.2.9. NOMb miktarı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları	48
Tablo 4.2.10. Toplam tokoferol miktarı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları.....	49
Tablo 4.2.11. İyon miktarları üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları	51
Tablo 4.2.12. İç kesit renk değerleri üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları	52
Tablo 4.2.13. Dış yüzey renk değerleri üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları.....	54
Tablo 4.2.14. Biyojen amin miktarları üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları.....	57
Tablo 4.2.15. <i>N</i> -nitrozamin miktarları üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları.....	59
Tablo 4.2.16. Mikrobiyolojik analiz sonuçları üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları	64
Tablo 4.3.1. pH değeri üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları..	65
Tablo 4.3.2. Nem oranı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları	67
Tablo 4.3.3. Yağ oranı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları..	68
Tablo 4.3.4. Protein oranı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları... ..	69
Tablo 4.3.5. Proteoliz oranı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları	69

Tablo 4.3.6. Lipoliz oranı üzerinde faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları	70
Tablo 4.3.7. Peroksit değeri üzerinde faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları	71
Tablo 4.3.8. TBA sayısı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları... ..	72
Tablo 4.3.9. NOMb miktarı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları	73
Tablo 4.3.10. Toplam tokoferol miktarı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları.....	74
Tablo 4.3.11. Nitrat miktarı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları	76
Tablo 4.3.12. İç kesit renk değerleri üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları	77
Tablo 4.3.13. Dış yüzey renk değerleri üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları.....	78
Tablo 4.3.14. Biyojen amin miktarları üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları.....	81
Tablo 4.3.15. N-nitrozamin miktarları üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları.....	84
Tablo 4.3.16. Mikrobiyolojik analiz sonuçları üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları	88

EKLER LİSTESİ

EK 1 NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- İyonlarına Ait Kalibrasyon Eğrileri	105
EK 2 Biyojen Amin Bileşiklerine Ait Kalibrasyon Eğrileri.....	106
EK 3 <i>N</i> -Nitrozamin Bileşiklerine Ait Kalibrasyon Eğrileri	108
EK 4 Fermantasyonun Son Gününde Kimyasal Analiz Sonuçlarına Ait Ortalama Değerler	110
EK 5 Depolamanın Son Gününde Kimyasal Analiz Sonuçlarına Ait Ortalama Değerler.....	111
EK 6 Fermantasyonun Son Gününde Renk Ölçümlerine Ait Ortalama Değerler.....	112
EK 7 Depolamanın Son Gününde Renk Ölçümlerine Ait Ortalama Değerler.....	113
EK 8 Fermantasyonun Son Gününde Biyojen Amin Bileşiklerine Ait Ortalama Değerler.....	114
EK 9 Depolamanın Son Gününde Biyojen Amin Bileşiklerine Ait Ortalama Değerler.....	115
EK 10 Fermantasyonun Son Gününde <i>N</i> -Nitrozamin Bileşiklerine Ait Ortalama Değerler	116
EK 11 Depolamanın Son Gününde <i>N</i> -Nitrozamin Bileşiklerine Ait Ortalama Değerler.....	117
EK 12 Fermantasyonun Son Gününde Mikrobiyolojik Analiz Sonuçlarına Ait Ortalama Değerler.....	118
EK 13 Depolamanın Son Gününde Mikrobiyolojik Analiz Sonuçlarına Ait Ortalama Değerler	119
EK 14 Fermantasyonun Son Gününe Ait İyon Miktarları, Biyojen Amin ve <i>N</i> -nitrozamin Bileşikleri Arasındaki Korelasyonlar.....	120
EK 15 Depolamanın Son Gününe Ait Biyojen Amin ve <i>N</i> -nitrozamin Bileşikleri Arasındaki Korelasyonlar	121
EK 16 Fermantasyonun Son Gününde Sucuğun Kimyasal Özellikleri Üzerine Faktörlerin Etkisi.....	122
EK 17 Depolamanın Son Gününde Sucuğun Kimyasal Özellikleri Üzerine Faktörlerin Etkisi.....	124
EK 18 Fermantasyonun Son Gününde Sucuğun Renk Değerleri Üzerine Faktörlerin Etkisi.....	126
EK 19 Depolamanın Son Gününde Sucuğun Renk Değerleri Üzerine Faktörlerin Etkisi.....	127
EK 20 Fermantasyonun Son Gününde Sucuğun Biyojen Amin Değerleri Üzerine Faktörlerin Etkisi	128
EK 21 Depolamanın Son Gününde Sucuğun Biyojen Amin Değerleri Üzerine Faktörlerin Etkisi.....	129
EK 22 Fermantasyonun Son Gününde Sucuğun <i>N</i> -Nitrozamin Değerleri Üzerine Faktörlerin Etkisi	130
EK 23 Depolamanın Son Gününde Sucuğun <i>N</i> -Nitrozamin Değerleri Üzerine Faktörlerin Etkisi.....	131
EK 24 Fermantasyonun Son Gününde Sucuğun Mikrobiyolojik Özellikleri Üzerine Faktörlerin Etkisi	132

EK 25	Depolamanın Son Gününde Sucuğun Mikrobiyolojik Özellikleri Üzerine Faktörlerin Etkisi	133
EK 26	Anyon-Kasyon Çoklu Standartlarına ve Sucuk Örneğine Ait IC Kromatogramları	134
EK 27	Biyojen Amin Çoklu Standartlarına ve Sucuk Örneğine Ait HPLC Kromatogramları	135
EK 28	<i>N</i> -Nitrozamin Çoklu Standartlarına ve Sucuk Örneğine Ait GC-MS Kromatogramları	136



KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

%	: Yüzde
°C	: Santigrat Derece
A	: Sodyum Nitrit
a	: Hunter Kırmızılık Derecesi
B	: α -tokoferol
b	: Hunter Sarılık Derecesi
BA	: Biyojen Amin
C	: Potasyum Sorbat
CAD	: Kadaverin
CF	: Cevap Faktörü
dak	: Dakika
F	: F testi Değeri
g	: Gram
HIS	: Histamin
K.O.	: Kareler Ortalaması
kg	: Kilogram
kob	: Koloni Oluşturan Bakteri
L	: Hunter Parlaklık Derecesi
LAB	: Laktik Asit Bakterisi
log	: Logaritma Değeri
M	: Molar
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
N	: Normal
NA	: <i>N</i> -Nitrozamin
NDBA	: <i>N</i> -nitrozodibütilamin
NDBzA	: <i>N</i> -nitrozodibenzilamin
NDEA	: <i>N</i> -nitrozodietilamin
NDMA	: <i>N</i> -nitrozodimetilamin
NDPA	: <i>N</i> -nitrozodi-n-propilamin

NDPhA	: <i>N</i> -nitrozodifenilamin
NHPRO	: <i>N</i> -Nitrozohidroksiprolin
NMA	: <i>N</i> -nitrozometilalanin
NMEA	: <i>N</i> -nitrozometiletilamin
NMOR	: <i>N</i> -nitrozomorfolin
NMTCA	: <i>N</i> -nitrozo-2-metil- tiyazolidin-4- karboksilik asit
NOMb	: Nitrozomiyoglobin
NPIP	: <i>N</i> -nitrozopiperidin
NPN	: Nonprotein Nitrogen (Protein Tabiatında Olmayan Azot)
NPRO	: <i>N</i> -nitrozoprolin
NPYR	: <i>N</i> -nitrozopirolidin
NSAR	: <i>N</i> -nitrozosarkozin
NTCA	: <i>N</i> -nitrozo-tiazolidin-4- karboksilik asit
NVNA	: Non-volatile <i>N</i> -Nitrosamine (Uçucu olmayan <i>N</i> -Nitrozamin)
pH	: Power Hidrojen
PhA	: 2-feniletilamin
ppb	: Parts Per Billion (Milyarda Kısım)
ppm	: Parts Per Million (Milyonda Kısım)
PUT	: Putresin
RSM	: Response Surface Methodology
SD	: Serbestlik Derecesi
SPD	: Spermidin
SPM	: Spermin
TAMB	: Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri
TBA	: Tiyobarbütirik Asit
TN	: Total Nitrogen (Toplam Azot)
TRP	: Triptamin
TyR	: Tiramin
VNA	: Volatile <i>N</i> -Nitrosamine (Uçucu <i>N</i> -Nitrozamin)
YYY	: Yanıt Yüzeyi Yöntemi
µg	: Mikrogram

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimimin her aşamasında bilgi ve önerileri ile bana yol gösteren ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ömer EREN'e, tez izleme komitesinde yer alan çok değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Şükrü KURT ve Prof. Dr. Hande Selen ERGE'ye, desteklerinden dolayı mesai arkadaşlarıma ve çalışma kapsamında yardımcı olan Kübra ÖZCAN ve Büşra DÜĞMEOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmama verdikleri destekten dolayı Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne (BAİBÜ-BAP-2018.09.04.1391) ve Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Destek Programları Başkanlığı'na (TÜBİTAK-1002-218O234) teşekkür ederim.

Çalışma kapsamında gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi (GC-MS) ve iyon kromatografi (IC) cihazlarını kullanmama imkan sağlayan Bilimsel Endüstriyel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi (BETUM)'ne ve yardımları için Dr. Sanaz LAKESTANI'ye teşekkür ederim.

Doktora çalışmalarım sırasında her daim yanımda olan ve desteğini esirgemeyen aileme bilhassa teşekkür ederim.

1. GİRİŞ

İnsan beslenmesinde önemli yere sahip olan gıdaların başında et ve et ürünleri gelmektedir. Etin gıda olarak tüketimi çok eskilere dayanmakla birlikte gelişen teknoloji ve artan tüketici taleplerine bağlı olarak taze tüketiminin yanı sıra çeşitli ürünlerin üretiminde de kullanılmaktadır (1,2).

Günümüzde birçok ülkede beslenme alışkanlıklarının ve muhafaza yöntemlerinin farklılığına bağlı olarak geleneksel veya modern teknolojik işlemler uygulanarak et ürünleri üretilmektedir. En eski yöntemler olan fermentasyon ve kurutma işlemleri eti uzun süre muhafaza etmek ve yeni ürün üretmek amacıyla kullanılan başlıca yöntemler arasındadır. Bu işlemler uygulanarak üretilen ürünlerin başında, sucuk ve benzeri fermente et ürünleri gelmektedir (2).

Sucuk gibi fermente et ürünlerinin biyolojik değerinin fazla olmasıyla birlikte mikrobiyel, enzimatik ve biyokimyasal reaksiyonlar için uygun ortam oluşturduğundan ürünün olgunlaşma süresini ve kontrol şartlarını iyileştirmek, raf ömrünü uzatmak, tüketici beğenisini artırmak için optimum renk, aroma ve lezzet kazandırmak, ürünün tekstürel özelliklerini iyileştirmek, sağlık açısından risk oluşturan oksidatif ransidite, biyojen amin ile *N*-nitrozamin oluşumları ve istenmeyen mikroorganizma gelişiminin sınırlandırılması amacıyla yapılan bilimsel çalışmalar devam etmektedir (2,3).

Kürleme işlemi, et ürünlerine karakteristik tat-aroma ve tekstür kazandırması, arzu edilen kırmızı-pembe renk oluşturmaya, antimikrobiyel ve antioksidan etkileri sebebiyle en çok tercih edilen muhafaza yöntemlerinden biridir (4).

Tuz ve çoğunlukla nitrit ve/veya nitrat ilave edilerek gerçekleştirilen kürleme işlemi, etteki suyun uzaklaştırılması ve etin su aktivitesinin azaltılmasında etkili bir koruma işlemidir. Nitrit özellikle *Clostridium botulinum*'a karşı olan antimikrobiyel etkisinin yanında, kürlenmiş etlere özgü tat-aroma, tekstür ve renk oluşumları ile lipit oksidasyonunun önlenmesinden sorumludur (5–7). Ayrıca, nitrit insan vücut fonksiyonlarında önemli bir rol oynamaktadır (8). Yapılan bir çalışmada nitritin mide asidi ile karıştığında gastrointestinal, ağız ve deri patojen bakterilerine karşı bakterisit etkisi olduğu da bildirilmiştir (9,10). Belirtilen avantajlara rağmen, aşırı nitrit alımı methemoglobinemiye neden olabilir (3,11). Ayrıca nitrit, nitrozlama ajanı olup amino asit, amin ve amidlerle

kolayca reaksiyona girerek karsinojenik, mutajenik ve teratojenik olan *N*-nitrozaminleri (NAs) oluşturabilmektedir (10,12,13).

N-nitrozaminler R1 (R2) $N-N=O$ yapısında olup uçucu veya uçucu olmayan formlara sahip organik bileşiklerdir. Birçok *N*-nitrozaminin karsinojenik, mutajenik ve teratojenik etkileri nedeniyle, bu bileşiklerin gıdalardaki varlığı önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir (14). Uçucu olmayan *N*-nitrozaminlere (NVNA) kıyasla, uçucu *N*-nitrozaminler (VNA) daha toksiktir (15,16).

Epidemiyolojik çalışmalara ve hayvan deneylerinin kanıtlarına dayanarak, Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC), insanlar için *N*-nitrozodimetilamin (NDMA) ve *N*-nitrozodietilamini (NDEA) *kanserojen bileşik* olarak kabul etmiştir. Et ürünlerinde yaygın olarak bulunan *N*-nitrozodibütilamin (NDBA), *N*-nitrozopiperidin (NPIP), *N*-nitrozopirrolidin (NPYR), *N*-nitrozomorfolin (NMOR) gibi diğer uçucu *N*-nitrozaminler, insanlar için *muhtemelen kanserojen bileşik* olarak sınıflandırılır (14,17). Uçucu *N*-nitrozaminlere insan maruziyeti tolerans düzeyinin 5–10 µg/kg vücut ağırlığı aralığında olduğu belirtilmiştir (18).

Uçucu *N*-nitrozaminler, karaciğer, akciğer, böbrek, mesane, pankreas, yemek borusu ve dil dahil olmak üzere çeşitli organlarda tümörlere neden olabilmektedirler. Örneğin, 20 ppm seviyelerinde *N*-nitrozodimetilaminin (NDMA) bir insanda karaciğer kanserine neden olabildiği aktarılmıştır (10). Ayrıca *N*-nitrozaminler kürlemiş et ürünlerindeki kalıntı nitritten midede oluşmaktadır (16,19).

Kürlenmiş et ürünlerinde *N*-nitrozaminlerin oluşumu pişirme yöntemi, sıcaklığı ve süresine, kalıntı ve/veya eklenen nitrit miktarına, askorbat veya α - tokoferol konsantrasyonuna, nitrozamin öncü bileşiklere, dilim kalınlığına, ön işlem prosedür ve koşullarına, etin yağ oranı ve nem içeriğine, nitrozasyon kataliz ve inhibitörlerinin varlığına, tütsüleme işlemine, ambalajma prosesine, amino asit dekarboksilaz pozitif mikroorganizmaların varlığına, fungal kontaminasyona, pH değerine, redoks potansiyeline ve depolama koşullarına bağlıdır (10,20).

Et ürünlerinin güvenilirliğinin araştırılması, toksik etkileri veya sağlığı tehdit eden bileşikler oluşturmaları nedeniyle biyojen aminlerin, kalıntı nitritin ve uçucu *N*-nitrozaminlerin değerlendirilmesini gerektirir. Örneğin, nitrit ve türevleri uçucu *N*-nitrozaminler üretmek için bazı biyojen aminler ile reaksiyona

girebilmektedir (21). Yapılan çalışmalarda *N*-nitrozoprolidinin (NPYR) spermin (SPM) ya da spermidinden (SPD) oluşabildiği, *N*-nitrozopiperidinin (NPIP) kadaverin (CAD) ya da piperidinden oluşabildiği bildirilmiştir (21,22).

Biyojen aminler, serbest amino asitlerin dekarboksilasyonu ile oluşan temel azotlu bileşiklerdir. Özellikle kuru fermente et ürünlerinde dekarboksilaz pozitif bakterilerin ve et enzimlerinin fermentasyon ve olgunlaşma sırasındaki etkisiyle yüksek konsantrasyonlarda oluşabilirler. Bu nedenle, fermente et ürünlerini işleme sırasında, tuz içeriği ve kurutma parametreleri gibi diğer iç ve dış faktörler biyojen amin oluşum düzeyini etkilemektedir (23).

Gıda güvenliği açısından yüksek biyojen amin konsantrasyonlarından kaçınılmalıdır. Örneğin, histamin (HIS) ve tiramin (TyR) hassas kişilerde migren ve hipertansif krizlere neden olabilir (24). Putresin (PUT) ve kadaverinin (CAD), HIS ve TyR'nin olumsuz etkilerini yoğunlaştırdığı bilinmektedir (25). Doğrudan toksikolojik etkilere ek olarak, biyojen aminlerin (PUT ve CAD) ve doğal poliamin olan spermin (SPM) ve spermidinin (SPD), et ürünlerinin ısıtılması sırasında kanserojen *N*-nitrozaminlerin öncülleri olabileceği kanıtlanmıştır (26). Bu aminler, nitrozasyon maddesiyle (NO⁺) reaksiyona girmeden önce art arda deaminasyona ve ikincil aminlere dönüşüme uğrar. Bu şekilde CAD, *N*-nitrozopiperidine (NPIP) dönüşebilirken; PUT, SPM ve SPD *N*-nitrosoprolidini (NPYR) oluşturabilmektedir (27).

Ette *N*-nitrozamin oluşumu olasılığını azaltmanın en etkili ve güvenilir yolu, bu ürünlerdeki nitrit içeriğini azaltmaktır. Herrmann vd. (2015), sosislere eklenen nitrit miktarı ile oluşan *N*-nitrozamin düzeyleri arasında pozitif korelasyon olduğunu bildirmişlerdir (28).

Kalıntı nitrit konsantrasyonu, et işleme sırasında askorbik asit, sorbat, EDTA ve α -tokoferol eklenerek azaltılabilir (21,29,30). Başta askorbat gibi nitrit tutucu antioksidanlar olmak üzere bu bileşikler nitrozlama ajanları ile reaksiyona girebilir ve bu sayede *N*-nitrozamin oluşumuna karşı koruyucu bir fonksiyon uygulayabilirler (11).

Uluslararası Kanseri Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından sodyum nitrit ve/veya sodyum nitrat ilavesiyle üretilen sucuk, salam, sosis, jambon, bacon (domuz pastırması) gibi işlenmiş et ürünlerinin ısı işleme tabi tutularak tüketimi sırasında oluşabilen *N*-nitrozo bileşikler, ayrıca bazı polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) ve bazı heterosiklik aromatik aminlerin kansere yol açtığı

tespit edilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından işlenmiş et ürünleri Grup 1 kanserojen sınıfına dahil edilmiştir (31). Birçok ülkede başta et ve ürünlerinde oluşabilen *N*-nitrozaminler olmak üzere gıdalarda bu bileşiklerin belirlenmesi ve oluşumlarının azaltılması amacıyla çalışmalar yapılmaktadır. Çin’de gıdalarda bulunabilen *N*-nitrozo bileşiklerinin belirlenmesi için yasal bir mevzuat da bulunmaktadır (32).

Türkiye İstatistik Kurumu’nun (TÜİK) 2020 yılında açıklamış olduğu 2019 yılına ait “Sanayi Ürünleri Yıllık Üretim ve Satış İstatistikleri” verilerine göre Türkiye’de toplam 115.399,45 ton sucuk, salam, sosis ve pastırma ürünleri üretilmektedir. Sucuk üretim miktarının sosis, salam, pastırma üretim miktarından daha fazla olduğu görülmektedir. Buna göre, sucuk üretim miktarı 51.398,40 ton ile birinci sırada olup bunu sırasıyla salam (37.360,62 ton), sosis (22.944,95 ton) ve pastırma (3.695,47 ton) takip etmektedir (33).

İşlenmiş et ürünlerinin tüketiminin yüksek olması ve Dünya Sağlık Örgütü’nün 2015 yılında yayınladığı işlenmiş et ürünlerinin karsinogenik etki gösterebileceği yönündeki bildirisine rağmen, ülkemizde *N*-nitrozaminlerin oluşumunun azaltılması ve biyojen aminlerle ilişkisinin birlikte değerlendirilmesi amacıyla yapılan herhangi bir araştırma çalışmasına rastlanmamıştır.

Bu çalışmada, fermantasyonun ve depolamanın son günlerinde farklı konsantrasyonlardaki sodyum nitrit, α - tokoferol ve potasyum sorbatın Yanıt Yüzey Yöntemine (Response Surface Methodology) göre kombinasyonları oluşturularak fermente sucuğun fiziksel-kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Özellikle kalıntı nitrit, biyojen amin ve uçucu *N*-nitrozaminlerin oluşumları üzerindeki etkileri ve ayrıca bu bileşikler arasındaki ilişkilerin değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

Et, değerli bir hayvancılık ürünüdür ve birçok tüketici için ilk tercih edilen hayvansal protein kaynağıdır (34). Kırmızı etin önemli bir protein, esansiyel amino asit, vitamin (B12 dahil), mineral (demir ve çinko dahil) ve diğer mikro besinlerin kaynağı olduğu bilinmektedir (35).

Diyetteki et miktarı, toplumlar içindeki bireyler ve farklı toplumlar arasında büyük farklılıklar göstermektedir. Küresel düzeyde; artan ortalama bireysel gelirler ve nüfus artışı nedeniyle hem kişi başına ortalama et tüketimi hem de tüketilen toplam et miktarı artmaktadır (36). Çeşitli popülasyonlarda kırmızı et ve işlenmiş et tüketen bireylerin yüzdesinde dünya çapında büyük farklılıklar vardır. Ülkelere bağlı olarak, kırmızı et tüketicilerinin oranı %5 ile %100 aralığında ve işlenmiş et tüketimi için oran %2-65 arasında değişmektedir. Taze ve/veya işlenmiş kırmızı et tüketenler arasında, kişi başına ortalama günlük alım yaklaşık 50-100 gramdır ve yüksek tüketim oranında ise kişi başına 200 g'ın üzerinde kabul edilir (35,37).

Günümüzde tüketilen etlerin büyük bir kısmı satın almadan önce işlenmektedir. İşlenmiş et, tadı geliştirmek ve korumayı iyileştirmek için tuzlama, kürlleme, fermentasyon, tütsüleme veya diğer işlemlerle dönüştürülmüş et anlamına gelmektedir (38). İşlenmiş etlerin çoğu sığır veya domuz eti içerir, ancak aynı zamanda diğer kırmızı etler, kümes hayvanları, sakatat (örn. karaciğer) veya kan gibi et yan ürünlerini içerebilmektedir (37). İşlenmiş kırmızı et örnekleri arasında başlıca sucuk, salam, sosis, pastırma, bacon ve jambon gibi ürünler bulunmaktadır.

Ülkemizde en çok tüketilen işlenmiş et ürünlerinin başında fermente ve ısıl işlem görmüş sucuk ürünleri gelmektedir. Sucuk; sığır eti veya manda etinden üretilen kuru, ısıl işlem görmüş/görmemiş, işlenmiş, fermente edilmiş geleneksel bir et ürünüdür. Kıyma ve koyun kuyruk yağı ile birlikte kimyon, sarımsak, tuz, karabiber ve kırmızı biber dahil olmak üzere çeşitli baharatlarla birlikte küring maddesi nitrit (nitrat kullanımı yasaklanmıştır) içermektedir. Bu karışım doğal veya yapay kılıflara doldurulur. Sucuk hamurunun doğal mikrobiyatası ve/veya starter kültür ilavesi ile uygun sıcaklık, nem ve hava akım hızının olduğu fermentasyon odalarında birkaç hafta kurumaya (olgunlaştırma) bırakılır (39).

Türk Standartları Enstitüsü (TSE)'nde fermente Türk sucuğunun bazı kalite özellikleri şöyle belirtilmiştir: Nem ve yağ oranı en fazla %40; tuz en fazla %5; pH değeri en fazla 5.8, en az 5.4; protein oranı %20 olmalıdır. Yine Türk tipi fermente sucukta, inorganik boya bulunmamalı; kokuşma testleri negatif olmalı, iç organ bulunmamalı, bağ dokusu oranı aşırı yüksek olmamalı ve okside olmamış olmalıdır. Ayrıca, tek tırnaklı hayvan eti veya diğer yabancı tür hayvan eti bulunmamalı, çeşitli patojen mikroorganizmalar (*Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum* ve *Salmonella* spp) bulunmamalı, toksikolojik muayene negatif sonuç vermelidir. Ulusal standartlara göre, sucukta diğer mikroorganizmalar için kabul edilebilir maksimum mikrobiyel yük; *Staphylococcus aureus* için 3 log kob/g, *Clostridium perfringens* için 2 log lob/g, koliformlar için <1 log kob/g ve maya için 2 log kob/g'dır (40).

Starter kültür kullanılarak eti fermente etme işleminin temelde dört farklı amacı vardır. Bunlar:

1. Güvenliği artırmak (patojenlerin inaktivasyonu),
2. Stabilitayı iyileştirmek (bozulma yapan mikroorganizmaların neden olduğu istenmeyen değişiklikleri inhibe ederek raf ömrünü uzatmak),
3. Sağlık yararları sağlamak (bağırsak florası üzerinde olumlu etkileri vardır)
4. Çeşitlilik sağlamaktır (yeni duysal özelliklerde ürünler elde etmek) (41).

Fermantasyon işleminin, gıdaları biyolojik olarak protein, vitamin, esansiyel amino asit ve yağ asitleri ile zenginleştirdiği; lezzet, aroma ve tekstürü geliştirdiği, pişirmek için gereken zaman ve enerji ihtiyacında azalma sağladığı bilinmektedir. Bu sebeplerden dolayı fermente et ürünleri insan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir (42,43).

Et fermantasyonlarında, en çok tercih edilen laktik asit bakterileri genellikle güvenlik ve sağlıkla ilgili amaçlara hizmet ederken, diğer mikroorganizmalar, yani katalaz pozitif koklar (*Staphylococcus*, *Kocuria*), mayalar (*Debaryomyces*) ve küfler (*Penicillium*) istenen duysal özellikleri sağlamak ve stabilize etmekle ilgili amaçlara hizmet etmektedir (41,44) (Tablo 2.1).

Tablo 3.1.1. Et starter kültürü olarak kullanılan mikroorganizma türlerinden bazıları (45,46)

	<u>Laktik asit bakterileri:</u> <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>L. alimentarius</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>L. farciminis</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>L. sakei</i> , <i>Lactococcus lactis</i> , <i>Pediococcus</i> <i>acidilactici</i> , <i>P. pentosaceus</i> , <u>Mikrokok ve Stafilokoklar:</u> <i>Staphylococcus xylosus</i> , <i>S. carnosus subsp. carnosus</i> , <i>S. carnosus subsp. utilis</i> , <i>S. vitulinus</i> , <i>Micrococcus varians</i>
Bakteri	
Küf	<i>Penicillium camemberti</i> , <i>P. chrysogenum</i> , <i>P. nalgiovense</i>
Maya	<i>Debaryomyces hansenii</i> , <i>Candida famata</i>

Mikroorganizmaların metabolizması ve büyümesi iç, dış ve örtük faktörlerin etkisine bağlıdır (7) (Tablo 2.2). İklimlendirme koşullarının oluşturduğu dış faktörlerin kontrolü ile birlikte hammadde seçimi, kılıf çapı, dolum materyali, partikül boyutu, çeşitli katkı maddeleri, teknolojik değişkenlerin seçimi ile farklı özellikte fermente kürlenmiş et ürünlerinin üretimi gerçekleştirilebilmektedir. Tuz, iç faktörler içinde çok eskiden beri kullanılan gıda muhafaza maddelerinden olduğu için gıda bileşeni olarak düşünülürken; işlenmiş et ürünlerinin muhafazasında kullanılan nitrat ve nitrit bileşenleri gıda katkı maddesi grubundadır. Örtük faktörler mikroorganizmalar arasındaki etkileşimleri kapsamaktadır. Örneğin; bakteriyosinler, bakteriyofajlar gibi antagonistik bileşikler başka bir grup mikroorganizmanın büyümesini ve aktivitesini inhibe edebilmektedir. Örtük faktörlerin etkisi, starter kültürlerin kontrollü uygulama koşulları altında genellikle düşüktür. Öte yandan, çok suşlu bir karışık starter kültürde farklı mikroorganizmalar birleştirilirken kültür organizmalarının rekabet edebilirliği dikkate alınmalıdır.

Fermente et ürünlerinde proteolitik, lipolitik ve oksidatif reaksiyonlar; fiziksel, biyokimyasal ve mikrobiyolojik dönüşümlerle pH değerinde düşüş, ilk mikroflorada değişiklikler, nitratların nitritlere ve nitrik okside indirgenmesi, nitrozomiyoglobin oluşumu, miyofibriler ve sarkoplazmik proteinlerin çözünmesi ve jelleşmesi ile kuruma gibi pek çok değişikliğe sebep olmaktadır (47,48). Lipoliz ve proteolizin parçalanma ürünleri (peptitler, amino asitler, karboniller ve uçucu tat-aroma bileşikleri) fermente etlerin karakteristik tat-aromasına ve tekstürüne katkıda bulunmaktadır (49).

Tablo 3.1.2. Fermente sucukların mikrobiyatasında etkili olan faktörler (7)

İç (Endojen) Faktörler	Dış (Eksojen) Faktörler	Örtük Faktörler
Bileşim:	İklimlendirme koşulları:	Mikrobiyel etkileşimler:
→ Et tipi	→ Sıcaklık	→ Antagonistik bileşikler (bakteriyosin, H ₂ O ₂)
→ Yağ içeriği	→ Bağıl nem	→ Rekabetçi flora
→ Şeker	→ Hava akımı	→ Fajlar
→ Tuz	Tütsüleme	
→ Katkı maddeleri		
→ Nitrit, nitrat		
→ Askorbat		
→ Glukono-δ-lakton		
Partikül büyüklüğü		
Dolum malzemesi		
Et kalitesi (a _w , pH, mikrobiyel yük)		
Starter kültür		

Biyojen aminler (BA) gıdalarda olgunlaştırma ve depolama sırasında serbest amino asitlerin dekarboksilasyonu veya aldehit ve ketonların deaminasyonu sonucu oluşabilen toksik bileşiklerdir (50). Özellikle bazı laktik asit bakterilerinin sahip oldukları dekarboksilaz pozitif enzimlerle proteolitik reaksiyonlar sonucu açığa çıkan serbest amino asitlerin dekarboksilasyonu ile biyojen amin oluşumu gerçekleşmektedir (51). Yüksek konsantrasyonlarda biyojen amin içeren gıdaların alımı, bu bileşiklerin doğrudan toksik etkisi ve bazı ilaçlarla etkileşimleri yoluyla sağlık açısından tehlike arz etmesi ve bazı gıdalarda kalite ve/veya kabul edilebilirlik göstergesi olması bakımından biyojen aminlerin önemli olduğu ifade edilmektedir (52,53).

BA'lar düşük molekül ağırlıklı organik bazlar olup hayvanlarda, bitkilerde ve mikroorganizmalarda normal metabolik aktivitenin bir sonucu olarak oluşabilir ve genellikle amino asitlerin dekarboksilasyonu ile üretilebilirler (54). Fermente sucuklarda oluşabilen başlıca biyojen aminler; alifatik (putresin, kadaverin), aromatik (tiramin, feniletilamin), heterosiklik (histamin, triptamin) aminler ve spermin, spermidin gibi poliaminlerdir (5) (Tablo 2.3). Spermin ve spermidinin gıdalarda doğal olarak bulunduğu ve bu nedenle sadece mikrobiyel bozulma ile ilişkili olmadığı belirtilmektedir (55).

Gıdalardaki biyojen aminler, hem gıda bozulmaları, hem de gıda güvenliği açısından endişe kaynağıdır. Ham gıda maddelerindeki endojen amino asit dekarboksilaz aktivitesinin sonucu olarak veya enzim aktivitesi için uygun koşullar altında dekarboksilaz pozitif mikroorganizmaların gelişmesi ile üretilirler. Gıdanın mikrobiyel bozulmasına, artan dekarboksilaz üretimi eşlik edebileceğinden, biyojen aminlerin varlığı gıda bozulmasının bir göstergesi olarak

kabul edilebilmekte ve “mikrobiyel kalite indikatörü” olarak adlandırılmaktadır (25,54).

Tablo 3.1.3. Ön maddelerin oluşturduğu bazı biyojen aminler (56)

Ön madde	Biyojen amin
Triptofan	Triptamin (TRP)
Fenilalanin	Feniletilamin (PhA)
Ornitin	Putresin (PUT)
Lisin	Kadaverin (CAD)
Histidin	Histamin (HIS)
Tirozin	Tiramin (TyR)
Putresin	Spermin (SPM), Spermidin (SPD)

Vinci ve Antonelli (2002) bir çalışmada BA seviyeleri ile etin bozulması arasında bir korelasyon olup olmadığını tespit etmek için, bazı BA’ları kantitatif olarak belirlemişlerdir. Kalite göstergesi olarak dikkate aldıkları biyojen aminlerin TRP, PUT, CAD, serotonin, TyR, SPD ve SPM olduğunu ifade etmişlerdir (57). Bir başka çalışmada da et ve et ürünleri için biyojen amin indeksinin (BAI) HIS+CAD+PUT+TyR’den oluştuğunu, bu değerin bozulmuş etler için >50 mg/kg olduğu belirtilmiştir (27,58).

Mikroorganizmaların BA oluşturabilmeleri için serbest amino asitlerin ve dekarboksilaz pozitif mikroorganizmaların bulunması, bu mikroorganizmaların gelişebileceği ve dekarboksilaz enziminin aktif olabileceği pH, sıcaklık, tuz konsantrasyonu gibi uygun ortamın sağlanmış olması gerekmektedir. Starter kültürlerin varlığı da önemli faktörlerdendir (59,60)

Fermente gıda ürünlerinde yüksek seviyelerde biyojen aminlerin varlığı, migren, baş ağrısı, mide ve bağırsak ülserleri ve alerjik tepkiler gibi çeşitli endikasyonlara sebep olabilmelerinden dolayı halk sağlığı açısından endişe oluşturup, bilim insanları için biyojen aminlerin oluşumu ve inhibisyonu önemli bir çalışma alanı oluşturmuştur (52,61–64).

Biyojen aminlerin neden olduğu gıda zehirlenmelerinin çoğu, sıklıkla HIS tarafından meydana gelmektedir. HIS zehirlenmesi (Scombroid balık zehirlenmesi), genellikle yüksek düzeylerde HIS içeren gıdaların tüketimiyle ortaya çıkan gıda kaynaklı bir intoksikasyondur. HIS intoksikasyonları, hafif zehirlenme (8-40 mg HIS), orta zehirlenme (70-100 mg HIS), şiddetli zehirlenme (1500-4000 mg HIS) olarak üç gruba ayrılmaktadır. HIS konsantrasyonun,

olgunlaşma işleminin süresine bağlı olarak değiştiği ve olgunlaştırmanın ilk üç gününde en az 10 kat arttığı belirtilmektedir (52,55).

TyR, TRP, PhA gibi diğer biyojen aminler HIS toksisitesini artırıcı rol oynamaktadırlar (65). Toksikasyonun başladığı eşik değerleri TyR için 100-800 mg/kg ve PhA için 30 mg/kg gıda olarak bildirilmektedir (55).

Kurt ve Ceylan (2019) dolumdan önce farklı konsantrasyonlarda potasyum sorbata (%0, %5, %10, %20) daldırılan kılıflar ile üretilen fermente sucuklarda olgunlaştırma (12 gün) ve depolama (+4°C, 30 gün) süresince biyojen amin oluşumunu araştırmışlardır. SPM ve SPD'nin oluşumu dışındaki diğer BA'lar üzerinde potasyum sorbat kullanımının etkisi önemli bulunmuştur. Potasyum sorbat muamelesi sucukların TRP, PhA, PUT, CAD ve TyR oluşumunu kısıtlarken, HIS oluşumunda artışa neden olduğu rapor edilmiştir (64).

Başka bir çalışmada, starter kültür olarak *Lactobacillus plantarum* ve *Pediococcus acidilactici* kullanılarak üretilen sosislerin fermantasyonu sırasında biyojen amin oluşumu üzerindeki etkileri açısından farklı konsantrasyonlarda potasyum sorbat ilavesinin etkisi incelenmiştir. Potasyum sorbat %0.06'ya varan konsantrasyonlarda kullanılmasına rağmen TyR gelişimi devam etmiştir. Olgunlaştırmanın ilk zamanlarında HIS, TRP ve PhA konsantrasyonları artmış, daha sonra tespit edilebilir miktarın (LOD) altına düşmüştür. Çalışma boyunca örneklerde PUT, CAD ve SPD tespit edilmemiştir. İstatistiksel analizler sonucu fermente sosisin toplam biyojen amin (TBA) içeriği ile olgunlaşma süresi arasında pozitif bir ilişki, TBA ile potasyum sorbat konsantrasyonu arasında ise negatif bir ilişki olduğu bulunmuştur (52).

Yapılan bir çalışmada olgunlaşma periyodu (1–13 gün), nitrit seviyesi (45–195 ppm) ve ısıl işlemin (30–90°C) sucuktaki BA oluşumu üzerindeki etkileri, Yanıt Yüzey Yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Sucuğun olgunlaşma süresinin artması PUT, CAD, TyR, HIS, SPD ve SPM düzeylerinde önemli artışlara neden olmuştur. Olgunlaşma döneminde en çok PUT ve TyR oluşumlarının arttığı; eklenen nitrit konsantrasyonu arttıkça CAD ve TyR miktarlarında azalma olduğu tespit edilmiştir. Isıl işlemin BA'lar üzerindeki etkisinin istatistiksel açıdan önemli olmadığı belirtilmiştir (5).

Ikonić vd. (2013) tarafından Kuzey Sırbistan'a özgü geleneksel kuru fermente sosiste (Petrovská klobása) biyojen aminlerin oluşumu 120 günlük uzun olgunlaşma döneminde belirlenmiştir. Dansil türevlendirmesi yapılarak TRP,

PhA, PUT, CAD, HIS, serotonin, TyR, SPD ve SPM düzeyleri yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) cihazında analiz edilmiştir. Biyojen aminlerin toplam seviyesi, olgunlaşma boyunca 113-332 mg/kg kuru ağırlık arasında değişirken, gıda güvenliği açısından en önemli biyojen amin olan HIS, analiz edilen hiçbir örnekte tespit edilmemiştir (66).

Taze beyaz ve kırmızı et örneklerine farklı katkı maddeleri (sitrik ve laktik asitler, disodyum difosfat, sodyum nitrit, sodyum metabisülfid, potasyum sorbat, sodyum klorür, askorbik asit, α - tokoferol, propil galat ve bütillenmiş hidroksianisol (BHA)) ilave edilmiş ve 4°C’de 4 günlük depolama süresince katkı maddelerinin biyojen amin (SPM, SPD, PUT, CAD, HIS, TyR, TRP ve PhA) oluşumu ve et kalitesi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Analiz sonuçlarına göre, tüm etler için sodyum nitrit, sodyum klorür ve disodyum difosfat en iyi BA inhibisyonu göstermiştir. Bununla birlikte, tüm test edilen katkı maddeleri için depolama sırasında CAD ve PUT içeriklerinde belirgin bir artış gözlemlendiği belirtilmiş olup, CAD ve PUT’nin et kalitesi üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu vurgulanmıştır (67).

Bozkurt ve Erkmen (2002) bazı katkı maddeleri (sodyum nitrit, sodyum nitrat, α - tokoferol, askorbik asit, potasyum sorbat, potasyum pirofosfat ve dipotasyum hidrojen fosfat) ilavesi ile ürettikleri sucuğun olgunlaştırma ve depolama süresince biyojen amin (HIS, PhA, serotonin, SPM, SPD, CAD, PUT, TRP ve TyR) oluşumunu incelemişlerdir. Depolama süresinin BA oluşumu üzerinde istatistiksel olarak önemli etkisinin olduğunu ifade etmişlerdir. Kontrol örneğinde oluşan HIS miktarının, katkı maddeleri ilave edilerek üretilen sucuk örneklerine kıyasla daha yüksek çıktığı saptanmıştır. TRP, serotonin ve SPD oluşumları üzerinde katkı maddelerinin etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmazken; HIS, SPM ve PUT oluşumları üzerindeki etkileri önemli bulunmuştur. Olgunlaştırma ve depolama süresince sucuk örneklerinde CAD ve PhA düzeylerinin tespit edilmediğini bildirmişlerdir (68).

Mah vd. (2009) Kore’ye özgü tuzlanmış ve fermente edilmiş hamsi ürünlerinde (Myeolchi-jeot) yaptığı çalışmada zencefil, sarımsak, yeşil soğan, kırmızı biber, karanfil ve tarçın gibi çeşitli baharatların biyojen amin üretimi üzerindeki etkilerini HPLC ile belirlemişlerdir. Biyojen amin üretimi üzerindeki en büyük engelleyici etki, %5’lik sarımsak özütü ile muamele edilen örneklerde gözlenmiştir. Bu örneklerde, PUT, CAD, HIS, TyR ve SPD içeriklerinin,

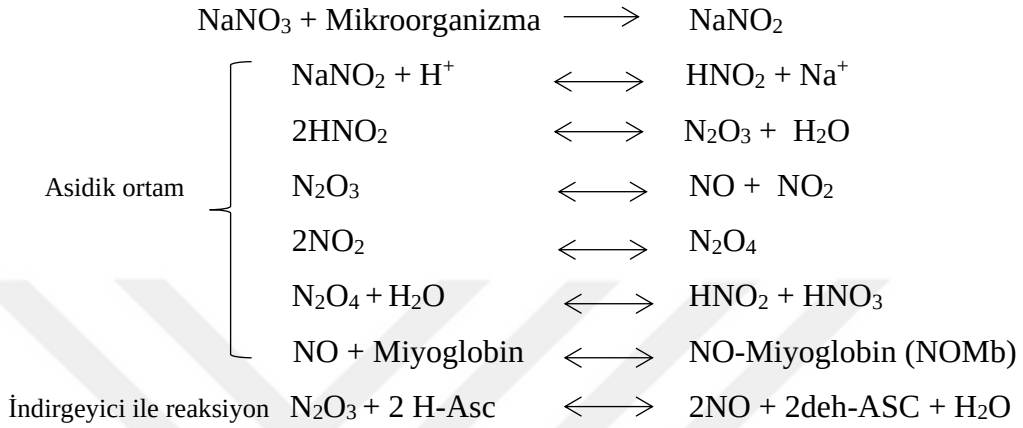
kontrole kıyasla sırasıyla %11.2, %18.4, %11.7, %30.9 ve %17.4'e kadar azaldığını tespit etmişlerdir (69).

Fermente sucuk gibi kürlenmiş et ürünlerinde kullanılan sodyum/potasyum nitrit ve nitrat, özellikle etlerin korunmasındaki yararlılığıyla çok fonksiyonlu bir gıda katkı maddesi olarak kabul edilmektedir (9). Nitrit, işlenmiş et aromasına katkıda bulunur, rengi geliştirir, mikroorganizmaların, özellikle *C. botulinum*'un gelişimini engeller ve lipid oksidasyonunu inhibe ederek ransiditeyi etkili bir şekilde kontrol eder (70).

En önemli etkisi, nitritin etlerde *C. botulinum*'un gelişimi ve toksin üretimine karşı koruma sağlayan bir antimikrobiyel ajan olduğu kanıtlanmıştır. Bu özelliği ile nitrit vazgeçilmez ve eşsiz bir gıda katkı maddesidir (71). Nitritin etler için kürlenme maddesi olarak kullanılmasından önce, botulizm et ve sosislerle ilişkili ciddi bir sorun olmuştur. Nitritin antibotulinal özellikleri çok faktörlüdür ve nitritin tuz, pH, ısıtma işlemi, başlangıçtaki mikroorganizma yükü ve ete eklenen nitrit ve son ürünlerdeki kalıntı nitrit seviyesi gibi diğer faktörlerle etkileşimini içermektedir. Nitrit antibotulinal etkisini, *C. botulinum*'un yaşam döngüsünde iki şekilde göstermektedir. Birincisi, canlı kalan sporlardan vejetatif hücreler ortaya çıkmasını engellemek, ikincisi ise ortaya çıkan herhangi bir vejetatif hücrede hücre bölünmesini önlemektedir. Nitritin kullanılmadığı ülkelere kıyasla, et ürünlerine nitrit eklenmesiyle üretilen kürlenmiş etler için botulizm açısından dikkate değer bir güven olmuştur (9). *C. botulinum*'dan başka *Enterobacteriaceae*, *Aerobacter*, *Escherichia*, *Micrococcus*, *Flavobacterium* ve *Pseudomonas* cinsleri gibi birçok bakteriye karşı da antimikrobiyel etki gösterdiği bilinmektedir (72,73). Benzer başka bir çalışmada, başlangıç pH değerinin 5.6 ve altında olduğu durumda *Staphylococcus aureus*'un 200 ppm sodyum nitrit ile inhibe edildiği rapor edilmiştir (74).

İşlenmiş et renginin gelişimi, ete nitrit eklemenin en belirgin etkisidir. Kürlenmiş et rengi kasta heme pigmentleri ile reaksiyona giren sodyum nitritin bir sonucudur. Bu rengin oluşumu genellikle iki aşamalı bir işlem olarak görülmektedir. İlk aşama, nitritin nitrik okside (NO) ve heme pigment (miyogloblin) içindeki demirin ferröz duruma indirgenmesini içerir. Bu noktada, kararsız yapıda bir bileşik olan nitrozomiyogloblin (NOMb) üretilir. Son aşama, miyogloblinin protein kısmı ısıtma işlemi sırasında ısı ile denatüre edilmesini ve çok daha kararlı bir bileşik olan nitrozohemokrom üretilmesini kapsar.

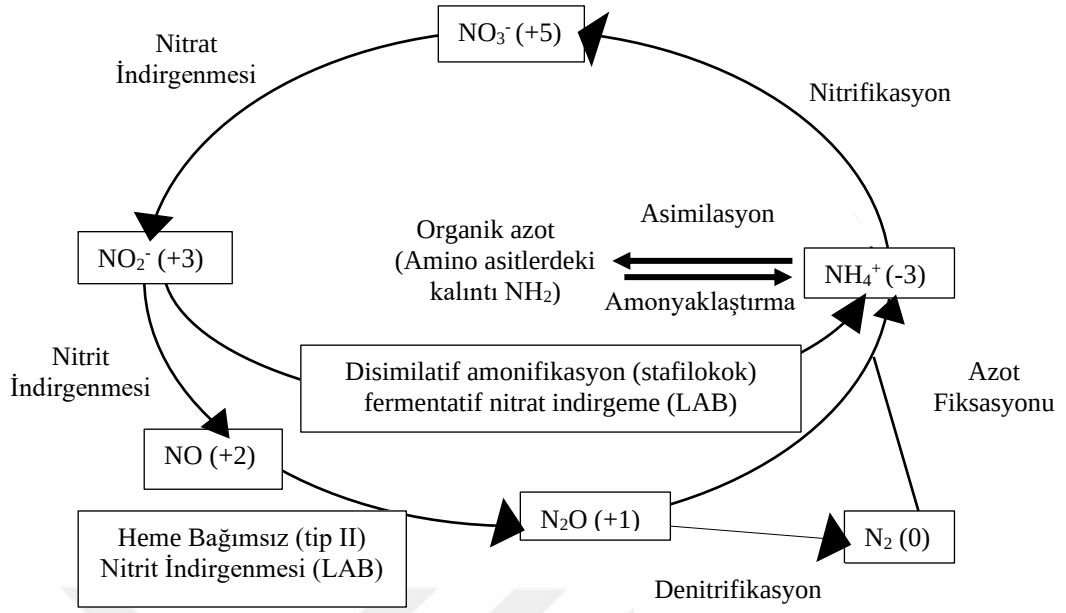
Nitrozomiyoglobin (çiğ et ürünlerinde) ve nitrozohemokromojen (ısıtılmış et ürünlerinde) oluşumuyla et ürünlerine çekici bir kırmızı renk sağlamaktadır (17). Nitrit indirgemesi ve NO oluşumu, pratik koşullar altında askorbatın olduğu indirgeyicilerle girdiği reaksiyonlar sonucu da meydana gelebilmektedir (7,75,76) (Şekil 2.1).



Şekil 3.1.1. Fermente ette kürlenmiş kırmızı pigment nitrozomiyoglobinin oluşumuna sebep olan nitrat ve nitritin reaksiyonları (7)

Mikroorganizmalar, azot döngüsünün sürdürülmesinde önemli bir rol oynar. Fermente et ürünlerindeki kürlenme reaksiyonları, döngünün nitrat indirgeme reaksiyonları ile aynıdır. En etkili nitrat indirgeyici organizmalar, fermente etin diğer önemli özelliklerini de etkileyen mikrokoklar, stafilokoklar ve kısmen laktik asit bakterileridir (77). Stafilokoklar, anaerobik koşullar altında nitrat solunumu gerçekleştirir ve amonyak salar. Laktobasillerde solunum potansiyeli yoktur ve bazı türler fermentatif amonyaklaşma adı verilen bir süreçte onu amonyağa indirger. Bazı türlerde, heme bağımsız olan ve NO ve N₂O salınımıyla sonuçlanan ikinci bir nitrit indirgemesi türü mevcuttur (7) (Şekil 2.2).

Nitrat, kanserojenlik bağlamında maksimum seviyelerin altında nispeten toksik değildir. Bununla birlikte, N₂O₃ ve NO⁺ gibi nitratın katalitik ara maddeleri, karsinojenik N-nitrozo bileşiklerin oluşumunda önemli rol oynamaktadır (78).



Şekil 3.1.2. Fermente et ürünlerinde azot döngüsü (7)

Etteki diğer bazı bileşikler, reaktif azot ara ürünleri ile reaksiyona girmektedir (79). Eklenen nitritteki azotun sadece %5-15'inin miyogloblin ile reaksiyona girdiği, kalan azotun sırasıyla büyük bir bölümü yani %20-30'unun proteinler ile, %5-15'inin sülfidril grupları ile, %1-15'inin lipitlerle reaksiyona girdiği rapor edilmiştir. Azotun %1-10'luk kısmının nitrata yükseltgendliği, %5-20'sinin nitrit olarak kalabildiği ve %1-5'inin gaz formuna dönüşebildiği bildirilmiştir (7,80).

Nitritin et aromasına katkıları hala belirsiz olmasına rağmen, kürlenmiş et aroması, tat, koku ve tekstür gibi özellikleri içerir (71). Herz ve Chang (1970) belli bir bileşen veya bileşenlerin, kürlenmiş etin karakteristik "küring" aromasına sahip olmadığını bildirmektedir (81). Genel lezzet hissinin, etin pişirilmesi sırasında üretilen suda ve yağda çözünabilen uçucu bileşiklerin bir kombinasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir (82). Nitritin aroma ile ilişkisi ilk olarak bacon ve jambon üretiminde nitritin kullanılmasıyla ilgili yapılan bir çalışmada Brooks vd. (1940) tarafından tanımlanmıştır (83). Kürlenmiş bacon ve jambon tüketen panelistlerin bu ürünleri daha çok tercih ettiği rapor edilmiştir.

Wasserman ve Talley (1972) 0, 78 ve 156 ppm ilave nitrit ile yapılan sosislerle duyu analizler yapmış ve eklenen nitrit konsantrasyonu arttıkça kabul edilebilirliğin arttığını bildirmişlerdir. Panelistlerin nitrit içermeyen ve 78 ppm

nitrit ile muamele sosislerin lezzetlerini ayırt edebildiğini ($P<0.01$); ancak 78 ppm nitrit ve 156 ppm nitrit konsantrasyonu ile muamele edilen sosislerin lezzetleri arasında önemli bir fark olmadığını rapor etmişlerdir (84). Başka bir çalışmada, 0 ve ≥ 40 ppm nitrit içeren hindi frankları üretilmiş ve aralarında lezzet farklılıkları olduğu, ancak 40 ve 100 ppm nitritli frank arasında lezzet farkı olmadığı rapor edilmiştir (85).

Ete nitrit ilavesi ile oksidatif ransidite gelişiminin gecikmesinin ilişkili olduğu belirtilmiştir (86). Nitritin etteki randisiteyi, kürlenmiş rengin oluşumunda yer alan aynı reaksiyonla etkilediği ifade edilmektedir. Nitrit, kürlenmiş et pigmentleri oluşturmak için heme bileşikleriyle reaksiyona girdiğinde, lipid oksidasyonunda aktif olan demir (Fe^{+3}), inaktif bir katalizör olan Fe^{+2} 'ye indirgenmektedir (87). 170 ppm nitrit ilave edilen bacon ile nitrit içermeyen veya düşük seviyelerde (15 ppm) nitrit ilave edilip üretilen baconlar karşılaştırıldığında, ≤ 15 ppm nitrit ilave edilen ürünlerde istenmeyen tatların yüksek olduğu ve bu tatların daha hızlı arttığı belirtilmiştir (71).

Nitrat ve nitritlerin sağlık üzerindeki potansiyel tehlikeli etkisi (Öldürücü oral doz: 33 mg/kg vücut ağırlığı) 1960'larda keşfedilmiş ve işlenmiş et ürünlerinde kullanılan yaygın katkı maddeleri nitrat ve nitrit olduğundan, işlenmiş et ürünlerinin güvenliği konusunda bir tartışma başlamıştır (17,71). İçme suyu ve sebzelerin de nitrat alımının önemli kaynakları olarak kabul edilmesine rağmen, bu tartışma büyük ölçüde işlenmiş et ürünlerine odaklanmıştır (88).

İnsanların nitrat/nitrit alımında etkili olan eksojen kaynakların, %80'ini gıda ve %14'ünü içme suyu oluşturmaktadır (8,9). Sebzelerin aslında diyetle alınan nitrat alımının büyük bir bileşenini oluşturduğu ve gıda ile nitrat alımının %85-87'sinin sebzelerden elde edildiği bilinmektedir (8,89). Ispanak, pancar, turp, kereviz, marul, lahana ve karalahana gibi sebzeler, yüksek konsantrasyonlarda doğal olarak oluşan nitrat içeriği bulunan çeşitli sebzelerin birkaç örneğidir (8).

Bozkurt ve Erkmen (2004) tarafından Türk tipi fermente sucukların mikrobiyel ve kimyasal özellikleri ve duyu kalitesi üzerinde nitrat ve nitritin etkileri 15 günlük olgunlaşma ve 45 günlük depolama süresince araştırılmıştır. Olgunlaşmanın ilk 8 gününde TAMB, maya ve küf sayıları artarken, depolama sırasında azalma gözlenmiştir. Olgunlaşmanın ilk 12 gününde genel duyu kalite özelliklerinin arttığı ve olgunlaşmanın sonunda azaldığı ifade edilmiştir. Ayrıca,

nitrat ve nitrit konsantrasyonunun artmasının, genel duyusal kaliteyi arttırdığı belirtilmiştir. Kalıntı nitrit seviyesi, olgunlaşmanın ilk 8 gününde ciddi bir şekilde azalmıştır. 150 ppm nitrit ilave edilen sucuklarda kalıntı nitrit miktarı yaklaşık 2 ppm; 75 ppm nitrit ilave edilen sucuk örneklerinde ise kalıntı nitrit miktarı 1 ppm olarak tespit edilmiştir. Heme pigmentlerin nitrozomiyoglobine dönüşümünün olgunlaşmanın ilk 12 gününde arttığı; depolamanın sonunda azalma gösterdiği belirtilmiştir (90).

Al-Shuibi ve Al-Abdullah (2002) Mortadella'da (İtalya'ya özgü sosis) sorbatın nitrit yerine kullanılabilmesini incelemek amacıyla, yalnızca nitrit, yalnızca potasyum sorbat ve farklı konsantrasyonlardaki nitrit-sorbat kombinasyonları ile sosis üretimi gerçekleştirilmiştir. Nitrit-sorbat kombinasyonlarının, tek başına nitrite kıyasla renk, aroma ve genel kabul edilebilirlik açısından istatistiksel olarak farklı olmadığı belirtilmiştir. Genel olarak sonuçların, Mortadella'da sorbatın tam anlamıyla nitritin yerini alamayacağı; ancak, birlikte kullanımın kabul edilebilir olduğu ifade edilmiştir (29).

Paketleme ve ışınlamanın, domuz sucuğundaki fizikokimyasal değişimler üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, emülsiyon tipi pişmiş domuz sosisi sodyum nitrit ilavesi olmadan ve 156 ppm nitrit ilave edilerek üretilmiş ve aerobik, vakum ve CO₂ (%100) koşullarında paketlenmiştir. Numuneler, 0 ve 5 kGy absorbe edilmiş dozda ışılandıktan sonra 4°C'de depolama sırasında lipid oksidasyonu, renk özellikleri, kalıntı nitrit içeriği ve uçucu *N*-nitrozaminlerin oluşumu yönünden analiz edilmiştir. Sosislere nitrit ilavesinin lipid oksidasyonunu önemli ölçüde azalttığı ve Hunter renk a* (kırmızılık) değerini artırdığı ifade edilmiştir. Kalıntı nitrit içeriğinin, CO₂ paketli sosislere en düşük olduğu; ancak 5 kGy'de ışınlamanın etkisinin görülmediği tespit edilmiştir. 5 kGy'de radyasyon uygulamasının ise *N*-nitrozodimetilamin (NDMA) ve *N*-nitrozopirolidin (NPYR) oluşumunu azalttığı rapor edilmiştir (91).

Gıdalardaki nitrat/nitrit ile ilgili endişeler, methemoglobinemiye neden olması ve nitritlerin kanserojen *N*-nitrozo bileşikler oluşturma potansiyeliyle ilgilidir (70,92,93). Nitrit, oksihemoglobini ferrohemoglobine çevirme yeteneğine sahiptir. Bu da methemoglobinemiye (mavi bebek sendromu) neden olabilmektedir. Bu hastalık esas olarak bir yaşın altındaki çocukları etkileyerek

asfiksi (oksijen yetersizliğinden kaynaklanan boğulma) nedeniyle ölüme neden olabilmektedir (86,94).

N-nitrozaminler, gıdalarda ikincil veya üçüncül aminler ve bir nitrozasyon ajanı arasındaki kimyasal reaksiyonlarla oluşan uçucu veya uçucu olmayan formlara sahip organik bileşiklerdir (16,95). Birçok *N*-nitrozo bileşiğinin akut toksik, mutajenik ve teratojenik olduğu gösterilmiş olmasına rağmen, bunların kanserojen özellikleri ciddi endişe kaynağı olmuş ve kapsamlı bir şekilde halen çalışılmaktadır (12,20,95–102). Uçucu olmayan *N*-nitrozaminlere (NVNA) kıyasla, uçucu *N*-nitrozaminler (VNA) daha kanserojeniktir (100,101) (Tablo 2.4).

Tablo 3.1.4. Uçucu ve uçucu olmayan *N*-Nitrozaminler (14,100)

Uçucu Nitrozaminler (VNA)	Uçucu Olmayan Nitrozaminler (NVNA)
<i>N</i> -nitrozodimetilamin (NDMA)*	<i>N</i> -nitrozodifenilamin (NDPhA)
<i>N</i> -nitrozometiletilamin (NMEA)*	<i>N</i> -Nitrozohidroksiprolin (NHPRO)*
<i>N</i> -nitrozodietilamin (NDEA)*	<i>N</i> -nitrozodibenzilamin (NDBzA)*
<i>N</i> -nitrozodi- <i>n</i> -propilamin (NDPA)	<i>N</i> -nitrozometilalanin (NMA)
<i>N</i> -nitrozomorfolin (NMOR)	<i>N</i> -nitrozoprolin (NPRO)*
<i>N</i> -nitrozopirolidin (NPYR)*	<i>N</i> -nitrozosarkozin (NSAR)
<i>N</i> -nitrozopiperidin (NPIP)*	<i>N</i> -nitrozo-tiazolidin-4- karboksilik asit (NTCA)*
<i>N</i> -nitrozodibütilamin (NDBA)*	<i>N</i> -nitrozo-2-metil- tiyazolidin-4- karboksilik asit (NMTCA)*

*: Et ürünlerinde yaygın olarak bulunan *N*-nitrozaminler.

Et ve balık ürünlerinde, VNA ve NVNA gruplarının konsantrasyonları tespit edilemeyen seviyelerden 1000 µg/kg seviyesine kadar değişiklik gösterebilmektedir (16,102). Kullanılan kürlleme tuzlarının miktarı ile bazı *N*-nitrozaminlerin konsantrasyonları arasında doğrudan fakat her zaman doğrusal olmayabilen bir korelasyonu vardır (28). Bu nedenle et formülasyonunda kürlleme tuzlarının kullanım miktarının kontrol edilmesi gerekmektedir. Bazı ülkeler nitrat ve nitrit kullanımını tamamen yasaklarken, bazıları da yasalarla maksimum kullanım miktarını belirlemiştir (100,103).

Yapılan bir araştırmada, çeşitli et ürünlerinde (sosis, salam, sucuk ve döner kebab) *N*-nitrozamin (NDMA, NDEA, NDPA, NPYR ve NPIP) bileşiklerinin miktarı gaz kromatografisi (GCxGC) ve hızlı yanıt veren elemente özgü nitrojen kemilüminesans dedektörü (NCD) kullanılarak belirlenmiştir. Altı NA'nın toplamının, döner kebab örneklerinde en yüksek (0.51–16.63 ppb arası) ve sosis örneklerinde ise en düşük (0.45–2.93 ppb) seviyelerde olduğu saptanmıştır (12).

Sen vd. (1973), et karışımlarına %0.96 sodyum nitrit, nitrat ve tuz ile karabiber ve kırmızıbiber ekleyip NPIP ve NPYR oluşumları üzerinde baharatların etkisini araştırmışlardır. Bu baharatların nitrit ile reaksiyona girebileceğini ve karabiber veya kırmızıbiber gibi baharatlarda piperidin, pirolidin veya bunların öncülerinden NPIP ve NPYR'nin oluşabileceğini öne sürmüşlerdir (104). Özellikle et ürünlerinde, biyojen aminlerin ve diğer protein parçalanma ürünlerinin varlığı, *N*-nitrozamin öncülerinin önemli bir kaynağı olarak kabul edilmektedir (17,105).

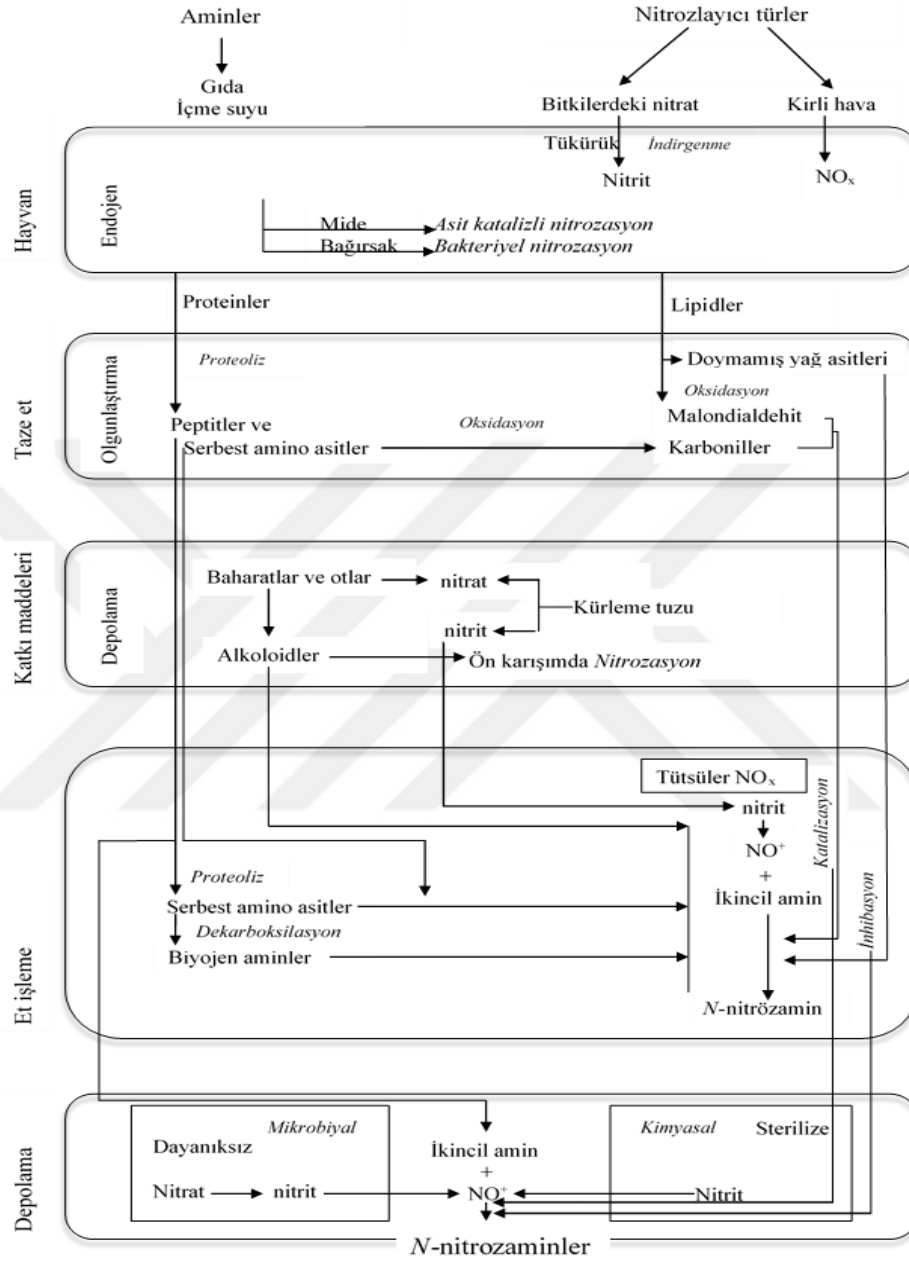
Birincil amin grupları içeren SPD, SPM, PUT ve CAD gibi biyojen aminler, deaminasyon gibi bir dizi reaksiyonlar sonucu nitrit ile reaksiyona girerek *N*-nitrozamin oluşturabilmektedir. Yapılan çalışmalarda, NPYR'nin PUT, SPM ya da SPD'den oluşabileceği; NPIP'nin CAD ya da piperidinden oluşabileceği bildirilmiştir (21,22,106).

Et ürünlerindeki NA'lar esas olarak proses kontaminantları olduğu düşünülse de çiğ et malzemeleri ve baharatlar NA'ları içerebilmektedir. Domuz eti ile sığır etinde ve daha az ölçüde at, keçi, dana eti ve av etinde NDMA (5–15 µg/kg) ve NDEA (5–20 µg/kg) tespit edildiği rapor edilmiştir (107). Nitrit varlığında, çeşitli amin içeren bileşikler, örneğin; proteinler, serbest amino asitler ve (biyojen) aminler, *N*-nitrozaminlere dönüşebilmektedir. Bununla birlikte, et ürünlerinin karmaşık matrisinde, bu öncüllerin oluşumu ve mevcudiyeti ve ardından *N*-nitrozaminlerin oluşumu, hem bileşimden hem de işlemeden etkilenebilmektedir (17) (Şekil 2.3).

N-nitrozaminler havada, suda, gıdalarda, kozmetikte, tütünde ve ambalaj malzemelerinde bulunabilmektedir (88). NA'lar ayrıca, özellikle kauçuktan üretilen endüstriyel gıda dışı ürünlerle ilişkilidir ve çevre kirliliğine neden olan hidrazin bazlı roket yakıtlarının üretimi sırasında önemli miktarlarda üretilmektedir (108).

Li vd. (2021) Çin'de yaşayan insanların yiyecek ve içme suyundaki NA içeriğini belirleyip günlük diyetle NDMA, NDEA ve toplam uçucu *N*-nitrozaminlerin (TVNA) alımlarını hesaplamışlardır. 20 şehirdeki yetişkinlerin eksojen NDMA 171-425 ng/gün, NDEA 41-140 ng/gün ve TVNA 373-1028 ng/gün alımları arasında değişmiştir. NDMA ve TVNA alımının ana kaynaklarının sebzeler, tahıllar, su ürünleri ve etler olduğu; NDEA alımının ana kaynaklarının ise sebzeler ve tahıllar olduğu tespit edilmiştir. Su tüketiminin

diyetle NA alımına; NDMA'nın %13.1, NDEA'nın %1.3 ve TVNA'nın %10.8 oranında katkıda bulunduğunu tahmin ettiklerini bildirmişlerdir (15).



Şekil 3.1.3. Et ve et ürünlerinde N-nitrozaminlerin ve öncüllerinin oluşumunu etkileyen faktörler (17)

Kürlenmiş et ürünlerinde NA'ların oluşumu; pişirme yöntemi, sıcaklığı ve süresine, kalıntı ve/veya eklenen nitrit miktarına, askorbat veya α -tokoferol konsantrasyonuna, nitrozamin öncü bileşiklerine, dilim kalınlığına, ön işlem ve koşullarına, etin yağ oranı ve nem içeriğine, nitrozasyon kataliz ve inhibitörlerinin varlığına, tütsüleme işlemine, ambalajlama prosesine, amino asit dekarboksilaz

pozitif mikroorganizmaların varlığına, fungal kontaminasyona, pH'ya, redoks potansiyeline ve depolama koşullarına bağlıdır (10,20,93,109). NA'ların yüksek konsantrasyonlarda oluşumları, ortamda sekonder aminler ve nitrit varlığında, düşük pH değerinde (≤ 5.5), yüksek pişirme sıcaklığında ($>130^{\circ}\text{C}$) ve uzun süre depolama sırasında gerçekleşmektedir (107,110). Depolama koşulları, işlenmiş et ürünlerinde mikrobiyel popülasyondaki artışa bağlı olarak *N*-nitrozaminlerin (özellikle NDMA) artışında rol oynayabilmektedir (111).

NA'lar, bazı pişirme yöntemleri sırasında, alev gazlarındaki nitrik oksit (NO) veya yüksek sıcaklıklar nedeniyle gıdada oluşan NO ile aminlerin reaksiyonlarının hızlanması yoluyla oluşabilmektedir. *N*-nitrozaminlerin oluşum hızları ve konsantrasyon seviyeleri, gıdadaki amin içeriği, kalıntı nitrit seviyesine ve ayrıca pişirme yöntemine bağlıdır. Barbekü pişirme yöntemi ile yüksek sıcaklık ve çıplak sıcak gazların varlığı nedeniyle en yüksek NA konsantrasyonları oluşabilmektedir. Domuz pastırmasının (bacon) mikrodalgayla pişirilmesi, kızartmaya göre daha düşük NA oluşumuna neden olmuştur. Gıdaların mikrodalgada pişirme ve buharda pişirme gibi dolaylı ısıtma prosedürleriyle pişirilmesi, mangal veya odun kömürü ızgarasında doğrudan ısıtmadan çok daha az NDMA oluşumuna neden olmaktadır (108).

Robach vd. (1980) farklı konsantrasyonlarda sodyum nitrit ve potasyum sorbat konsantrasyonları ilave ederek ürettikleri domuz pastırmalarının $+3^{\circ}\text{C}$ 'de depolanması sırasında belirli zamanlarda alınan örnekleri kızartarak NA oluşum seviyelerini araştırmışlardır. Sodyum nitrit ilave edilmeden üretilen pastırmanın, eklenen sorbat konsantrasyonuna bakılmaksızın, kızartıldıktan sonra düşük (<4.4 ppb) seviyelerde NPYR içerdiği tespit edilmiştir. 40 ppm nitrit ve %0.26 potasyum sorbat ilavesi ile üretilen pastırmanın, depolamanın ilk günü ortalama 8.7 ppb NPYR ve 21 gün 3°C 'de depolamadan sonra 5.4 ppb NPYR içerdiği ifade edilmiştir. 80 ppm nitrit ve %0.26 potasyum sorbat eklenerek üretilen domuz pastırmasının, ilk gün 14.3 ppb ve 21 günlük depolamanın sonunda 11.4 ppb NPYR seviyelerine sahip olduğu belirtilmiştir. 120 ppm nitrit ile üretilen pastırmanın, depolamanın ilk günü 28.1 ppb NPYR ve 21 günlük depolamanın son günü sonra 16.2 ppb NPYR içerdiği rapor edilmiştir (112).

Yapılan başka bir çalışmada, farklı karabiber seviyeleri (5, 10, 15 g/kg), sodyum askorbat kullanımı (0 veya 568 ppm) ve pişirme derecesinin (çiğ, az, orta veya çok pişmiş) sucukta bazı NA (NDMA, NPYR ve NPIP) oluşumları

üzerindeki etkileri araştırılmıştır. NDMA ve NPIP seviyelerinin pişirme derecesine bağlı olarak arttığı, ısıtılma işlemi uygulanmamış (çiğ) sucuk örneklerinde karabiber seviyesinin artışının NDMA ve NPIP içeriklerinde düşüşe sebep olduğu, sodyum askorbat ile karabiber seviyesi interaksyonunun NDMA ve NPYR üzerinde çok önemli etki gösterdiği, sodyum askorbat ile pişirme derecesi interaksyonunun NPYR ve NPIP üzerinde ise etkili olduğu rapor edilmiştir (96).

Herrmann (2014) tarafından Danimarka marketlerinden alınan işlenmiş et ürünlerinde VNA'ların oluşumları incelenmiştir. VNA'ların her birinin ayrı ayrı ortalama seviyeleri genellikle düşük (≤ 0.8 ppb) bulunurken, tüm ürünlerde en fazla NDMA ve NPYR tespit edildiği ifade edilmiştir. Ayrıca farklı konsantrasyonlarda sodyum nitrit ilave edilerek üretilen ve pişirilen domuz sosislerinde NA ile nitrit ilişkisi araştırılmış, NPIP seviyeleri ile sodyum nitrit arasında pozitif korelasyon olduğu belirtilmiştir (100).

Kuru fermente sosislerdeki NA oluşumu üzerine sosislere *Lactobacillus pentosus* inokülasyonunun etkisi araştırılmıştır. Bu sosislerin olgunlaşma sonunda NA içeriği, kalıntı nitrit, karbonil içeriği, toplam uçucu azot miktarı, pH değeri ve su aktivitesinin, kontrole göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar *L. pentosus*, Mann Rogosa Sharp (MRS) Broth içinde nitriti kullanma yeteneği göstermiştir. *L. pentosus* inokülasyonu ile üretilen sosislerden elde edilen bakterilerin, fosfat tamponlu salin içindeki NA'ları önemli ölçüde degrade ettiği, bu nedenle; *L. pentosus*'un kuru fermente sosislerde NA seviyelerini doğrudan NA'ları bozarak ve/veya dolaylı olarak öncüllerini (nitrit, aminler) azaltarak veya daha düşük pH ve su aktivitesi koşulları altında NA oluşumunu inhibe ederek azaltabileceğini belirtmişlerdir (113).

Yurchenko ve Mölder (2007) tarafından yapılan bir çalışmada, 2001–2005 döneminde 386 farklı et örneğinde (çiğ, kızartılmış, ızgara, tütülenmiş, salamura ve konserve et ürünleri) NDMA, NDEA, NDBA, NPIP ve NPYR) oluşumu incelenmiştir. Örneklerin %88'inden daha fazlasında NDMA (0.85 ppb), %27'sinde NDEA (0.36 ppb), %90'ında NPYR (4.14 ppb), %65'inde NPIP (0.98 ppb) ve %33'ünde NDBA (0.37 ppb) olduğu tespit edilmiştir (114).

Tüketici için *C. botulinum*'un sebep olabileceği sağlık riski, N-nitrozaminlerin sebep olabileceğinden çok daha fazladır ve nitrit için kabul edilebilir bir ikame olmadığından nitrit ilavesi ile koruma işlemi devam etmektedir (102).

Et ürünlerinin güvenilirliğinin araştırılması, oluşan bileşiklerin toksik etkileri veya diğer bir ifadeyle sağlığı tehdit eden bileşikler oluşturmaları nedeniyle, biyogen aminlerin, kalıntı nitritin ve uçucu *N*-nitrozaminlerin değerlendirilmesi önemlidir. Örneğin, nitrit ve türevleri uçucu *N*-nitrozaminler üretmek için bazı biyogen aminler ile reaksiyona girebilmektedir (11,21,115). Drabik-Markiewicz vd. (2011) kuru fermente soslerde biyogen aminlerin *N*-nitrozamin oluşumu üzerindeki rolünü inceledikleri bir çalışmada, SPD ve CAD varlığında örneklerin ısıtılmasıyla oluşan NPIP oluşumunda önemli bir artış gözlemlediklerini fakat aralarında bir korelasyon olmadığını tespit etmişlerdir (26). Başka çalışmalarda, eklenen nitrit miktarı ile oluşan NA miktarı arasında doğrusal olmamakla birlikte pozitif bir korelasyon olabildiği rapor edilmiştir (109,114).

Kürlenmiş etlerde nitrite alternatif bir bileşen olmamakla birlikte, eklenen nitritin azaltılması için kullanılan kısmi ikameler arasında laktik asit üreten organizmalar, potasyum sorbat, antioksidanlar bileşikler, sodyum hipofosfit, fumarat esterleri ve iyonlaştırmacı radyasyon yer almaktadır (116).

Antioksidanlar, depolama stabilitesini artırdıkları için et işlemede katkı maddesi olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Antioksidanların lipit oksidasyon süreçleri üzerindeki etkilerine dair çok sayıda literatür varken (117–120), et ürünlerinde NA oluşumu üzerindeki etkisi ile ilgili literatür sınırlıdır (20,28,121). Nitrozasyon inhibitörleri askorbik asit ve α - tokoferol, et ürünlerinin üretiminde ya gereklidir ya da yoğun biçimde kullanılmaktadır (20,76,121–123). α - tokoferolün kütleme yardımcı maddesi olarak işlenmiş et ürünü üretimine dahil edilmesinin de NA seviyelerini düşürmede etkili olduğu gösterilmiştir (98,122).

Pierre vd. (2013) kürlenmiş et ürünleri tüketimi ile kolorektal kanser arasında bir ilişki olup olmadığını araştırdıkları çalışmada, kalsiyum karbonat, inulin, rutin, karnosol, α - tokoferol ve trisodyum pirofosfat ilavesiyle 6 farklı kürlenmiş et üretmişler ve insanlar ve sıçanlarda 14 günlük tüketimleri boyunca fekal biyobelirteçler yoluyla *N*-nitrozo bileşikler ve lipoperoksidasyon oluşumlarını ölçmüşlerdir. Çalışma sonunda; kalsiyum, hem sıçanlarda hem de insan dışkısında biyobelirteçleri normalize ederken, α - tokoferolün insanlarda lipoperoksidasyon değerini, sıçanlarda ise *N*-nitrozo bileşiklerin oluşumunu azalttığını tespit etmişlerdir. Veriler, kürlenmiş etlere kalsiyum karbonat veya α -

tokoferol eklenmesinin, diyetle bu ürünlerin alımıyla ilişkili kolorektal kanser riskini azaltabileceğini göstermektedir (124).

Fiddler vd. (1978) domuz etlerine, tek başına 125 ppm NaNO₂ ve 500 ppm sodyum askorbat veya α -tokoferol ve bu bileşikler kombinasyonlar halinde ilave ederek *N*-nitrozamin oluşumu üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar lipofilik özellikteki α -tokoferolü Polisorbat 20 ile çözelti halinde hazırlamışlardır. Farklı muamelelere tabi tutulan domuz etleri karşılaştırıldığında, tek başına α -tokoferol veya sodyum askorbat ile α -tokoferol kombinasyonunun, tek başına askorbattan daha etkili bir şekilde NPYR oluşumunu engellediği tespit edilmiştir (125).

Pourazrang vd. (2002) tarafından L-askorbik asit ve α -tokoferolün indirgeyici olarak mutajenik *N*-nitrozo bileşiklerinin oluşumuna karşı inhibe edici etkilerini belirlemek amacıyla farklı miktarlarda nitrit, L-askorbik asit ve α -tokoferol içeren 24 sosis örneği hazırlanmıştır. Ekstraksiyon işlemi fosfat tamponu ve etilasetat ile gerçekleştirilmiş, örneklerin mutajenitesi salmonella/mikrozom testi ile araştırılmıştır. Revertan (geri dönen) sayısı, *N*-nitrozo bileşiklerinin oluşumunu göstermiş ve test edilen *Salmonella* Typhimurium suşları arasında, *S. Typhimurium* TA100'ün revertanları, örneklerle L-askorbik asit ve α -tokoferol eklendiğinde *N*-nitrozo bileşiklerinin %60 oranında azaldığını ifade etmişlerdir (123).

Kürlenmiş et ürünlerine özgü karakteristik özelliklerini korumak için geçmişten beri diğer koruyucularla kombinasyon halinde daha düşük nitrit konsantrasyonları önerilmektedir (64,126–129). Sorbat GRAS (genellikle güvenli olarak kabul edilir) listesinde olup, diğer koruyuculara kıyasla daha yüksek çözünürlükleri, gıda aroması üzerindeki düşük etkileri ve düşük maliyetleri nedeniyle gıda korumasında önemli bir rol oynamaktadır (103). Sorbatın nitrit kombinasyonu halinde kullanımı, duyuşal özellikleri etkilemeden patojenlerin gelişimini inhibe etmesi ve nitrit konsantrasyonunu düşürmesi nedeniyle NA oluşumunu azaltmaktadır (112).

Bazı araştırmacılar NA sentezinde küflerin (*Penicilium roqueforti*, *Penicilium camemberti* ve bazı *Rhizopus* türleri) biyokatalitik aktivitesinin olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca *Aspergillus oryzae* gibi bazı küflerin de aminlerin nitrozasyonunu katalize ederek; trimetilaminin dietilamine dönüşümüne katılabildiğini ifade etmektedirler (130,131). NA oluşumunu katalizleyen bazı

küflerin potasyum sorbatın antifungal etkisi ile inhibisyonu sonucu NA oluşumunun engellenebildiği bildirilmektedir (126,132).

Et ürünlerinde kalıntı nitrit, nitrat, biyojen amin ve *N*-nitrozamin bileşiklerinin varlığını araştırmak ve azaltmak için büyük çabalar sarf edilmektedir. BA oluşumunun bazı mikroorganizmalardan, üründe kullanılan et bileşenlerinin doğasından ve et ürünlerinin işlenmesi sırasında kullanılan prosedürlerden etkilendiği gösterilmiştir (133). Kalıntı nitrit konsantrasyonu, et işleme sırasında askorbik asit, sorbat, EDTA ve doğal renklendiriciler eklenerek (29,112,134) veya et üretimi için kullanılan hayvanlara diyet takviyesi olarak α - tokoferil asetat verilerek (135) azaltılabilir. *N*-nitrozaminlerin oluşumunun C ve E vitamini eklenerek inhibe edilebileceği de bildirilmiştir (136). Birbirleri ile ilişkili olabilen ve/veya birinin varlığının diğerinin oluşumunu etkilediği bu bileşiklerin birlikte değerlendirildiği, birbirleri arasındaki ilişkinin araştırıldığı çok az sayıda çalışma bulunmaktadır (11,20,21).

De Mey vd. (2014) Belçika marketlerinden satın alınan fermente sosislerde kalıntı nitrit seviyesi, *N*-nitrozaminlerin ve biyojen aminlerin oluşumu ve birbirleri olan ilişkilerini değerlendirmişlerdir. Kalıntı nitrit ve nitratın ortalama 20 mg/kg'dan düşük olduğunu, bazı örneklerde CAD ve PUT dışındaki diğer biyojen aminlerin oluşumunun raf ömrü boyunca düşük seviyede olduğunu ve *N*-nitrozaminlerden NPIP (%22) ve NMOR (%28)'in örneklerin birçoğunda bulunduğunu rapor etmişlerdir. *N*-nitrozamin oluşumu ile biyojen amin içeriği arasında korelasyon olmadığı ve NPIP'in sosis formülasyonuna katılan biberden kaynaklanabileceği bildirilmiştir (11).

Wang vd. (2015) domuz pastırmasının (bacon) olgunlaştırılması ve depolanması süresince lipit oksidasyonu, kalıntı nitrit, biyojen amin ve *N*-nitrozaminlerin oluşumu üzerinde bitkisel polifenoller (yeşil çay ve üzüm çekirdeği ekstraktları) ve α -tokoferolün etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonunda bitkisel polifenollerin ve α -tokoferolün bu parametreler üzerinde önemli etkilerinin olduğunu ve kontrol örneklerine kıyasla lipit oksidasyonu, kalıntı nitrit, biyojen amin ve *N*-nitrozaminlerin daha düşük olduğunu ve nitrit ile NDMA arasında negatif korelasyon olduğunu belirtmişlerdir. Temel bileşen analizi (PCA), fizikokimyasal faktörler, PUT, CAD, HIS, TyR, SPM ve NDMA ile TAMB arasında ve TBARS ile sodyum nitrit arasında pozitif korelasyon olduğunu göstermiştir (20).

Wei vd. (2009) tarafından Çin'e ait Rugao jambonlarına farklı dozlarda γ -ışını (gama ışını) uygulanıp örneklerin olgunlaştırılmasında ve sonrasında uçucu *N*-nitrozamin, biyojen amin ve kalıntı nitrit üzerinde meydana gelen değişimler incelenmiştir. Işınlamanın kalıntı nitrit miktarını önemli derecede azalttığını, bazı biyojen aminlerin (TyR, PUT ve SPM) degradasyonunu sağladığını ve NDMA, NDEA ve NPYR oluşumunu azalttığını ifade etmişlerdir (21).



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Çalışmada sucuk üretiminde kullanılan hammadde ve materyaller başta Bolu olmak üzere ülkemizin farklı şehirlerinden temin edilmiştir. Hammadde olarak kullanılan orta yaşlı kasaplık hayvanlardan elde edilen, rigor mortis evresini tamamlamış sığır eti ve koyun kuyruk yağı Yamaner Et ve Şarküteri (Bolu) işletmesinden temin edilmiştir. Sucuk formülasyonunda kullanılan baharatlar Bolu piyasasından, fermente et ürünlerinde kullanılan starter kültür (BFL-F06; *Lactobacillus sakei*, *Staphylococcus carnosus*) Bactoferm™; Chr. Hansen (Danimarka) firmasından ve sucuk dolumunda kullanılan 38 kalibre fibröz kılıflar Kutluer Gıda ve Makina San. Dış Tic. Ltd. Şti. (İstanbul) firmasından temin edilmiştir. Çalışmada faktör olarak kullanılan katkı maddeleri olan sodyum nitrit (Merck), α - tokoferol (Sigma-Aldrich) ve potasyum sorbat (Merck) proje kapsamında satın alınmıştır.

3.2 Metot

3.2.1 Deneme Planı

Kullanılan katkı maddeleri Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği ve Et ve Et Ürünleri Tebliği'ne göre izin verilen miktarlarda ilave edilmiştir. Buna göre; sodyum nitrit miktarı 150 ppm, α - tokoferol %0.02 ve potasyum sorbat ise % 0.30'dan fazla olmayacak şekilde, faktörlerin Yanıt Yüzey Yöntemi (YYY) esas alınarak dört merkez noktalı Merkezi Birleşik Desen (Central Composite Design) matematik modeli ile farklı kombinasyonları oluşturulmuştur (Tablo 3.2.1).

Sodyum askorbat her bir fermente sucuk kombinasyonuna belli miktarda (500 ppm) eklenmiş ve potasyum sorbatın etkisini görebilmek amacıyla sucuk yüzeylerine sorbat uygulaması yapılmamıştır.

3.2.2 Sucuk Üretimi

Üretim, iki tekerrür olmak üzere Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Ar-Ge Laboratuvarında yapılmıştır. Sucuk üretimi için modifiye Babcock yöntemi ile (137) yağ oranı belirlenmiş sucuğun sığır eti, sığır et yağı ve koyun kuyruk yağı ile %18 yağ standardizasyonu sağlanmıştır. Homojen ve standart bir üretim gerçekleştirmek amacıyla kuşbaşı kesilmiş soğuk et - donmuş yağ karışımı öncelikle kıyma

makinasında (Alveo, Türkiye) kıyma haline getirilmiştir. Ardından yoğurma makinasında (Adalı Makine, Sakarya) Gökalp vd. (2010) tarafından belirtilen reçete modifiye edilerek daha önceden hazırlanıp karışım haline getirilen baharatlar; %1.9 tuz, %0.94 sarımsak, %0.66 kırmızı pul biber, %0.47 toz karabiber, %0.85 kimyon, %0.24 yenibahar, %0.47 toz şeker, %0.47 K₂HPO₄ (Merck) ve %0.025 starter kültür ilave edilmiş ve homojen bir karışım elde edilmiştir (3). Homojen karışım 16 eşit parçaya bölünerek muamele kombinasyonları eklenip karıştırılarak faktörlerin ete nüfuzu sağlanmıştır. α - tokoferolün homojen karışmasını sağlamak amacıyla %0.25 zeytinyağı ile karıştırılarak ilave edilmiştir. Daha sonra tüm karışımların 0-4°C'de 12 saat kürlleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu süre sonunda fibröz kılıflara dolum işlemi yapılmıştır.

Tablo 3.2.1. Yanıt Yüzey Yöntemi ile faktörlerin belirlenen kombinasyonları

Sıra No	A Sodyum Nitrit (ppm)	B α -tokoferol (ppm)	C Potasyum Sorbat (ppm)
1	0	0	0
2	0	0	3000
3	0	100	1500
4	0	200	0
5	0	200	3000
6	75	0	1500
7	75	100	0
8	75	100	1500
9	75	100	1500
10	75	100	3000
11	75	200	1500
12	150	0	0
13	150	0	3000
14	150	100	1500
15	150	200	0
16	150	200	3000

Baton şeklinde yaklaşık 200 g olarak doldurulan sucuklar duşlandıktan sonra her bir parti sucuk arabalara asılmıştır. Sucukların dengelenmesi için olgunlaştırma işlemi iklimlendirme kabininde (Adersan, Ankara) ilk 5 saat 21±1°C ve % 60±2 nispi rutubet ile başlatılmıştır. Daha sonra sıcaklık 21-19°C arasında, nispi rutubet % 85-75 arasında ve hava akım hızı da 1–0.5 m/s arasında kademeli olarak düşürülmüştür. 7 günlük fermentasyonun sonunda sucuklar 3 aylık depolama süresince +4°C buzdolabı koşullarında muhafaza edilmiştir.

3.3 Fiziksel-Kimyasal ve Mikrobiyolojik Analizler

3.3.1 pH Tayini

10 g sucuk örneği üzerine 100 mL saf su ilave edilip homojenizatörde (Waring Commercial Blender, ABD) iyice parçalandıktan sonra uygun tampon çözeltilerle kalibre edilmiş pH metre (Schott Instruments Lab 860, Almanya) ile 0.01 hassasiyetinde pH değeri belirlenmiştir (138).

3.3.2 Nem Tayini

Sucuk örnekleri, sabit ağırlığa getirilen cam petri kaplarına, 3-5 g tartılmış, sabit ağırlığa gelinceye kadar $105\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de etüvde (Venti Line VWR, Belçika) kurutulmuştur. Kurutulmuş örnekler desikatörde soğutulduktan sonra, tartılarak % nem oranı hesaplanmıştır (138).

$$\text{Nem oranı (\%)} = [(M_0 - M_1) / M_0] \times 100$$

M_0 : Kurutmadan önceki sucuk örneği ağırlığı (g)

M_1 : Kurutma işleminden sonraki sucuk örneği ağırlığı (g)

3.3.3 Yağ Tayini

3-5 g sucuk örneği sabit tartıma gelene kadar $105\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de etüvde kurutulduktan sonra, Soxhlet ekstraksiyon cihazıyla hekzan (Merck) kullanılarak, yağ ekstraksiyonu yapılmış ve % yağ oranı hesaplanmıştır (138).

$$\text{Yağ oranı (\%)} = [(M_1 - M_0) / m] \times 100$$

M_0 : Ekstraksiyondan önceki balon ağırlığı (g)

M_1 : Ekstraksiyondan sonraki örnek ve balonun ağırlığı (g)

m : Kurutmadan önceki örnek miktarı (g)

3.3.4 Protein Tayini

Kjeldahl yöntemi ile önce % ham azot tayini yapıp, daha sonra 6.25 katsayısı ile çarpılarak ham protein miktarı hesaplanmıştır (138).

$$\text{Ham azot (TN) oranı (\%)} = [(V_1 - V_0) \times 0.014 \times N \times F] / m \times 100$$

V_0 : Şahit için harcanan HCl hacmi (mL)

V_1 : Örnek için harcanan HCl hacmi (mL)

N: HCl çözeltisinin normalitesi

F: HCl çözeltisinin faktörü

m: Örnek ağırlığı (g)

3.3.5 Proteoliz (Protein Yapısında Olmayan Azot; NPN) Tayini

Homojen hale getirilen sucuk örneğinden 4 g alınıp üzerine 40 g triklorasetik asit (TCA; %20 w/v; Sigma-Aldrich) çözeltisi ilave edilmiştir. Ultra turrax (IKA T18 Digital Ultraturrax, Almanya) ile 30 saniye homojen hale getirilmiş ve 15 dakika bekletildikten sonra, 2800xg'de 20 dakika 4±1°C'de santrifüj (Hettich Zentrifugen Rotanta 460R, Almanya) edilmiştir. Süpernatant, azotsuz filtre kağıdı kullanılarak filtre edilmiş ve filtrat TCA çözeltisi ile 50 g'a tamamlanmıştır. Bu filtrattan 20 g alınarak üzerine 20 mL H₂SO₄ (%98'lik) ve 2 adet Kjeldahl katalizator tableti (Merck) ilave edilerek, protein tayininde uygulanan Kjeldahl yöntemiyle protein tabiatında olmayan azot tayini yapılmıştır. Protein tayininden farklı olarak distilasyon aşamasında %4'lük borik asit yerine doymuş borik asit (Merck) kullanılmıştır. Protein tayininde tespit edilen % ham azot değerinden yararlanılarak proteoliz değeri hesaplanmıştır (139).

Protein yapısında olmayan azot (NPN) oranı (%) = $\frac{[(V_1 - V_0) \times 0.014 \times N \times F]}{m} \times 100$

V₀: Şahit için harcanan HCl hacmi (mL)

V₁: Örnek için harcanan HCl hacmi (mL)

N: HCl çözeltisinin normalitesi

F: HCl çözeltisinin faktörü

m: Örnek ağırlığı (g)

Proteoliz = NPN x 100 / TN

NPN: Protein tabiatında olmayan azot

TN: Toplam azot (protein tayininden elde edilen ham azot)

3.3.6 Lipoliz (Serbest Yağ Asidi) Tayini

10 g sucuk örneği üzerine 25 mL kloroform (Sigma-Aldrich) ve 0.5 g susuz sodyum sülfat (Merck) ilave edilerek 5 dakika karıştırılmış ve filtre kağıdından süzölmüştür. Yağın maksimum miktarda süzölmesi için filtre kağıdı üzerindeki örneğe 4 mL daha kloroform ilave edilmiştir. Elde edilen 25 mL

süzüntü üzerine 25 mL nötrale alköl (%95'lik etil alköl; Merck) ilave edildikten sonra 0.1 N sodyum hidroksit (NaOH; Merck) çözeltisi ile titre edilmiştir. Sucuk örneklerinde serbest yağ asitliği oleik asit cinsinden (g oleik asit /100 g yağ) hesaplanmıştır (137).

$$\text{Lipoliz (serbest yağ asidi; \%)} = [(V_1 - V_0) \times N \times F \times 28.2] / m_y$$

V_0 : Şahit için harcanan NaOH hacmi (mL)

V_1 : Örnek için harcanan NaOH hacmi (mL)

N: NaOH'in normalitesi

m_y : 10 g örnekteki yağ miktarı (g)

3.3.7 Peroksit Değeri Tayini

5 g örnek su banyosunda 3 dakika 60 °C'de bekletildikten sonra üzerine 30 mL glasiyel asetik asit-kloroform çözeltisi (60:40; v/v; Merck) ilave edilerek 5 dakika karıştırılmış ve filtre edilmiştir. Süzüntü üzerine 0.5 mL doymun potasyum iyodür (KI; Merck) ilave edilerek 1 dakika karıştırılmış ve ağzı kapatılıp 5 dakika karanlıkta bekletilmiştir. Daha sonra üzerine 30 mL saf su ilave edildikten sonra 0.01 N sodyum tiyosülfat (Merck) ile açık sarı renk elde edilinceye kadar titre edilmiş ve meq O₂ /kg yağ olarak hesaplanmıştır (140).

$$\text{Peroksit değeri (meq O}_2\text{ /kg yağ)} = (V \times N \times 1000) / m_y$$

V: Harcanan sodyum tiyosülfatın (Na₂S₂O₃) hacmi (mL)

N: Kullanılan sodyum tiyosülfatın (Na₂S₂O₃) Normalitesi

m_y : 10 g örnekteki yağ miktarı (g)

3.3.8 Tiyobarbütirik Asit (TBA) Sayısının Belirlenmesi

Homojen hale getirilen sucuk örneğinden 10 g alınmış ve üzerine 49 mL 50°C'deki saf su ile 1 mL HCl (Sigma-Aldrich) çözeltisinde hazırlanan sülfanilamid çözeltisi (Merck) ilave edildikten sonra 2 dakika ultra turrax cihazı (IKA T18 Digital Ultraturrax, Almanya) ile homojenize edilmiştir. Homojenat 48 mL 50°C'deki saf su ile Kjeldahl tüpüne aktarılmış ve üzerine 2 mL HCl çözeltisi (%37'lik HCl:saf su; 1:2) ilave edilmiştir. Daha sonra, 50 mL distilat elde edilene kadar (yaklaşık 10 dakika) distilasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Vida kapaklı tüplere 5 mL distilat alınarak üzerine 0.02 N 2-tiyobarbütirik asit ayırıcından

(TBA; Merck) ilave edilmiş ve tüpler su banyosunda, kaynar suda 35 dakika bekletildikten sonra soğutulup spektrofotometre (UV-1700 Pharmaspec Shimadzu, Japonya) cihazında 538 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür. Örnekteki malonaldehit (MA) miktarı, spektrofotometreden okunan absorbans değeri 7.8 faktörü ile çarpılarak hesaplanmıştır (137).

$$\text{TBA sayısı (mg MA/kg örnek)} = A \times 7.8$$

A: 538 nm dalga boyunda okunan absorbans

7.8 faktörü: Bilinen standart malonaldehit konsantrasyonlarına karşı okunan absorbans değerlerinin standart eğrisinden elde edilen değer

3.3.9 Spektrofotometrik Yöntem ile Nitrozomiyoglobin Tayini

Kürlenmiş pigment analizi için 10 g örnek tartılıp, kahverengi cam şişeye konulduktan sonra üzerine 40 mL aseton + 3 mL saf su içeren karışım eklenmiştir. Karışım 5 dak hızlıca çalkalanıp süzildükten sonra 540 nm’de 40 mL aseton + 3 mL saf su içeren köre karşı absorbans okunmuştur. Kürlenmiş pigment miktarı ppm cinsinden 290 ile çarpılarak hesaplanmıştır.

Toplam pigment analizi için ise 10 g örnek tartılıp, kahverengi cam şişeye konulduktan sonra üzerine 40 mL aseton + 2 mL saf su + 1 mL derişik HCl karışımından eklenmiştir. Karıştırılan örnek ağzı kapatılarak 1 saat karanlıkta bekletilmiş ve sonrasında filtre kağıdından süzölmüştür. 640 nm’de 40 mL aseton + 2 mL saf su + 1 mL derişik HCl içeren köre karşı spektrofotometrede absorbans değeri okunup, ppm cinsinden toplam pigment miktarı 680 ile çarpılarak hesaplanmıştır (137).

$$\% \text{ NOMB} = [\text{Kürlenmiş pigment (ppm)} / \text{Toplam pigment (ppm)}] \times 100$$

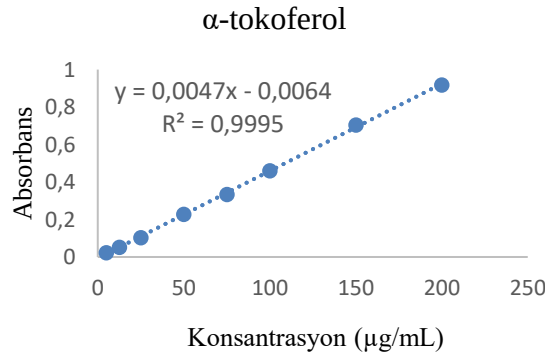
3.3.10 Spektrofotometrik Yöntem ile Toplam Tokoferol Tayini

Depolamanın son gününde sucuk örneklerindeki α -tokoferol miktarını belirlemek amacıyla öncelikle soğuk ekstraksiyon yöntemiyle yağ elde edilmiştir. Homojen et örneğinden 100 g behere tartılıp üzerine 1 spatöl susuz sodyum sülfat (Merck), 100 mL kloroform (Merck) ve 50 mL metanol (Merck) ilave edilerek 2 dakika süre ultra turrax cihazı (IKA T18 Digital Ultraturrax, Almanya) ile homojenize edilmiştir. Homojenat erlenmayer içerisine filtre edilmiştir. Süzölme tamamlandıktan sonra filtre kağıdındaki kalıntı tekrar behere aktarılmış ve aynı

işlem 2 kere daha uygulanmıştır. İşlem sonunda filtrat ayırma hunisine alınmıştır. Ayırma hunileri düşük sıcaklıkta (+4°C) bekletilerek kloroform ve metanol fazının ayrımı sağlanmıştır. Üstte kalan metanol fazı berrak bir görünüm aldığı anda bekleme işlemine son verilmiş ve altta toplanan kloroform fazı Rotary balonuna alınmıştır. Rotary evaporatörde (Heidolph Hei-VAP, Almanya) kloroform uçurularak Rotary balonu içerisinde kalan yağ, kahverenkli bir şişeye aktararak α - tokoferol analizinde kullanılmıştır (141).

0.2 g $\pm$ 10 mg yağ numunesi üzerine 5 mL toluen (Sigma-Aldrich) ilave edilmiş ve vorteks (Isolab, Almanya) cihazında karıştırılmıştır. Karışım üzerine 3.5 mL 2.2'- dipiridil (%0.07 w/v; %95'lik etil alkol, Acros) ilave edilip karıştırıldıktan sonra 1 mL etil alkol (Merck) eklenip tekrar vortekslenmiştir. Son olarak 0.5 ml FeCl₃.6H₂O (%0.2 w/v; %95'lik etil alkol, Acros) ilave edilip karıştırıldıktan 1 dk sonra spektrofotometre (UV-1700 Pharmaspec Shimadzu, Japonya) cihazında 520 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür (142).

Standart kurvenin hazırlanması için 0.01 g α - tokoferol (%96'lık; Sigma-Aldrich) tartılıp bir miktar toluende çözündürüldükten sonra 50 mL'lik balon jojede ana stok çözelti (200 μ g/mL) hazırlanmıştır. Stok çözeltiden farklı hacimlerde alınarak toluen ile 10 mL'ye tamamlanmış ve bu şekilde farklı miktarlarda α - tokoferol içeren çözeltiler hazırlanmıştır. Sucuk için gerçekleştirilen analiz basamakları standart için de yapılmıştır. Standart kurveden elde edilen denklem ile sonuçlar μ g α - tokoferol / g sucuk (ppm) şeklinde hesaplanmıştır (Şekil 3.3.1).



Şekil 3.3.1. α - tokoferol kalibrasyon eğrisi

3.3.11 İyon Kromatografi ile Anyon – Katyon Tayini

Ekstraksiyon işlemi için 5 g örnek üzerine 30 mL 80°C'deki saf su ilave

edilip karıştırılıp 50 mL'lik falkon tüpüne aktarıldıktan sonra su banyosunda (Memmert WNB-45, Memmert, Almanya) 80°C'de 2 saat bekletilmiştir. Sonrasında oda sıcaklığına soğutulup saf su ile 50 mL'ye tamamlanmıştır. Daha sonra filtre kağıdından süzülüp ekstraksiyon sonucu elde edilen süzüntü 6000 rpm'de santrifüj edildikten sonra 0.2 µm selülöz asetat şırınga ucu filtre ile 5 mL'lik polivallere filtre edilmiştir. İletkenlik dedektörlü (conductivity detector) iyon kromatografi (Thermo Scientific Dionex ICS 1100) cihazında analiz gerçekleştirilmiştir.

Anyon tayininde mobil faz olarak 10 mM sodyum karbonat (Na₂CO₃; Thermo Scientific) kullanılmıştır. Analiz IonPac AS9-HC (4x250 mm) anyon kolonu ile her örnek için 1 mL/dak akış hızı olacak şekilde yaklaşık 30 dakika sürmüştür. Anyon standardı olarak Dionex Seven Anion Standard II (florür, klorür, nitrit, bromür, nitrat, fosfat, sülfat; Thermo Scientific) çözeltisi kullanılmıştır.

Katyon tayininde mobil faz olarak 20 mM meta sülfonik asit (MSA; Thermo Scientific) kullanılmıştır. Analiz IonPac CS12-A (4x250 mm) katyon kolonu ile her örnek için 1 mL/dak akış hızı olacak şekilde yaklaşık 20 dakika sürmüştür. Katyon standardı olarak Dionex Six Cation-II Standard (pH 3.0±0.3; lityum, sodyum, amonyum, potasyum, magnezyum, kalsiyum; Thermo Scientific) çözeltisi kullanılmıştır (94).

İyon değerleri (NH₄⁺, NO₂⁻, NO₃⁻) sonuçları mg/kg sucuk (ppm) olacak şekilde katı ağırlığa çevrilerek hesaplanmıştır (EK 1) ve iyon değerlerine ait tespit edilebilir limit (LOD) ile tayin edilebilir limit (LOQ) Tablo 3.3.1'de verilmiştir. Anyon-katyon standartlarına ve sucuk örneğine ait kromatogramlar EK 26'da verilmiştir.

Tablo 3.3.1. İyon değerlerine ait LOD ve LOQ değerleri

İyon	Dedeksiyon Limiti (LOD), mg/L	Kantitasyon Limiti (LOQ), mg/L
NH ₄ ⁺	0.8699	2.8996
NO ₂ ⁻	0.0008	0.0030
NO ₃ ⁻	0.0015	0.0050

3.3.12 Renk Değerlerinin Ölçümü

Örneklerin iç kesit ve dış yüzey L* (parlaklık; 100: beyaz, 0: siyah), a* (+: kırmızı (+60), -: yeşil (-60), 0: gri), b* (+: sarı (+60), -: mavi (-60), 0: gri) değerlerinin ölçümü renk analiz cihazı ile (CR 400 Minolta, Japonya) her bir örnekte 3 saykıl olacak şekilde iki paralelli olarak yapılmıştır (143).

3.3.13 Biyojen Amin Bileşiklerinin Belirlenmesi

Sucuk örneklerindeki triptamin (TRP), 2-feniletılamin (PhA), putresin (PUT), kadaverin (CAD), histamin (HIS), tiramin (TyR), spermidin (SPD) ve spermin (SPM) miktarları Eerola vd. (1993)'lerinin bildirdiği, Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC; Flexar, Perkin Elmer, ABD) cihazında gradient sistemde, PDA (fotodiyot dizileri dedektörü) kullanılarak 254 nm (Ref: 550 nm) dalga boyunda ayrıştırılmıştır (144).

Kolon:

C18 kolon (Aqueous; Perkin Elmer, ABD)

Uzunluk: 250 mm

İç çap: 4.6 mm

Film kalınlığı: 5 µm

Kolon akışı hızı: 1 mL/dak

Mobil faz: Asetonitril (mobil faz A) ve 0.1 M amonyum asetat (mobil faz B)

Kolon fırın sıcaklığı: 40 °C

Örnek enjeksiyon hacmi: 20 µL

Gradient mobil faz programı:

Mobil faz A oranı 40 dakika içinde %40'tan %90'a çıkarılmıştır. Daha sonra mobil faz A'nın akışı 10 dakika içerisinde %40'a düşürülerek analiz tamamlanmıştır. Analiz 50 dk sürmüştür.

Standart olarak Tryptamine hydrochloride, 2-phenylethylamine hydrochloride, Putrescine dihydrochloride, Cadaverine dihydrochloride, Histamine dihydrochloride, Tyramine hydrochloride, Spermidine trihydrochloride, Spermine tetrahydrochloride ve 1,7-diaminoheptane (internal standart) (Sigma-Aldrich) kullanılmıştır. Sonuçlar her biyojen amine ait kalibrasyon eğrilerine göre belirlenmiştir (EK 2).

Ekstraksiyon işlemi için sucuklar küçük parçalara ayrılıp homojen hale getirildikten sonra analize kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir. 2 g örnek üzerine

125 µL 1.7 diaminoheptan (ISTD; 1 mg/mL) ve 10 mL 0.4 M perklorik asit (Merck) ilave edilerek ultra turrax cihazı (IKA T18 Digital Ultraturax, Almanya) ile homojenize edilmiştir. Homojenat +4°C'de 3000 rpm'de 10 dak santrifüjlendikten (Hettich Zentirifugen Rotanta 460R, Almanya) sonra, süpernatant 25 ml'lik balon jojeye filtre edilmiştir. Kalıntıya 0.4 M perklorik asit ilave edilerek işlem tekrarlanmıştır. Son olarak; ekstrakt üzerine 0.4 M perklorik asit ilave edilerek 25 mL'ye tamamlanmıştır.

Türevlendirme işleminde 5 mL'lik balon jojede 1 mL ekstrakt 200 µL 2 N NaOH (Merck) ile alkali hale getirilmiş ve 300 µL doymuş NaHCO₃ (Merck) eklenmiştir. Üzerine 2 mL dansil klorit (10 mg/mL aseton; Dns-Cl; Sigma-Aldrich) çözeltisi ilave edildikten sonra 40°C'de 45 dakika inkübasyona (Venti Line VWR, Belçika) bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından oda sıcaklığında 10 dakika soğutulup, üzerine kalan dansil kloriti uzaklaştırmak amacıyla 100 µL amonyak (%25'lik; Merck) ilave edilerek, 30 dakika bekletilmiş ve toplam hacim asetonitril:0.1 M amonyum asetat (50:50; v/v) ile 5 mL'ye tamamlanmış ve 0.45 µm'lik membran filtreden vialle süzöldükten sonra HPLC'ye enjekte edilmiştir.

Biyojen amin standart çözeltileri ultra saf suda çözüldürölerek stok çözelti (1 mg/mL) hazırlanmıştır. Ana stok çözeltiler, ultra saf suyla seyreltilerek farklı oranlarda çalışma çözeltileri hazırlanmıştır. Biyojen amin piklerinin belirlenmesi için, her bir biyojen amin standart çözeltisi türevlendirilerek ayrı ayrı enjeksiyon yapılmıştır. Standart eğrileri belirlendikten sonra sucuk örneklerindeki biyojen amin miktarı aşağıdaki formüle göre katı ağırlığa çevrilerek mg/kg (ppm) şeklinde hesaplanmıştır (EK 2). Biyojen amin bileşenlerinin standartlarına ve sucuk örneğine ait kromatogramlar EK 27'de verilmiştir.

$$\text{Biyojen amin (mg/kg)} = 62.5 \times \text{CF} \times (\text{HA} / \text{Hi}) \times \text{Ci}$$

62.5: Seyreltme değeri (5 mL x 25 mL) / (4 g x 0.5 mL)

CF: Cevap faktörü [(Hi / Ci) x (CA / HA)]

HA: Aranan biyojen aminin pik yüksekliği

CA: Aranan biyojen aminin konsantrasyonu

Hi: İç standardın pik yüksekliği,

Ci: İç standardın konsantrasyonu

3.3.14 N-Nitrozamin Bileşiklerinin Belirlenmesi

Sucuk örneklerindeki N-Nitrozodimetilamin (NDMA), N-Nitrozometiletilamin (NMEA), N-Nitrozodietilamin (NDEA), N-Nitrozodipropilamin (NDPA), N-Nitrozomorfolin (NMOR), N-Nitrozopirrolidin (NPYR), N-Nitrozopiperidin (NPIP), N-Nitrozodibütilamin (NDBA) ve N-Nitrozodifenilamin (NDPhA) miktarlarının tayini için ekstraksiyon işlemi Yurchenko ve Mölder (2007)'in bildirdiği yöntemle yapılmıştır (114). Extrelut (Merck) ve Florisil (Merck) sorbentleri kullanılarak 2 basamaklı katı faz ekstraksiyon (SPE) yöntemi kullanılmıştır. 6 ± 1.0 g sucuk örneği tartılıp 6 mL 0.1 N NaOH (Merck) ile karıştırılmıştır. İlk basamakta, altına 6 g Extrelut yerleştirilen cam kolon (30 cm x 1.5 cm) 20 mL hekzan:diklorometan (DCM) çözeltisi (40:60, Merck) ile ıslatılmıştır. Daha sonra örnek 20 mL hekzan:DCM çözeltisi ile elüe edilmiştir. Bu işlem 2 defa tekrarlanmıştır. Elüat 50 mL'lik erlene toplanmış ve 60°C'lik su banyosunda evapore edilmiştir. İkinci basamakta, altına 1 g Florisil yerleştirilen cam kolon (6.5 cm x 1.3 cm) 6 mL DCM:metanol (95:5, Merck) çözeltisi ile ıslatılmıştır. 1 mL'ye evapore edilen örnek 6 mL DCM:metanol çözeltisi ile elüe edilmiştir. Toplanan elüat 60°C'lik su banyosunda 1 mL'ye evapore edilmiştir. Hazırlanan ekstrakt gaz kromatografisi (GC) vialine aktarılmıştır.

Örneklerin analizi GC - MS (Gaz kromatografisi (Thermo Scintific Trace 1300) - kütle spektrometre (Thermo Scintific ISQ QD)) cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

Kolon:

Kapiler kolon (DB-1701; Agilent)

Uzunluk: 30.0 m

İç çap: 0.25 mm

Film kalınlığı: 0.25 µm film

Kolon akış hızı: 1 mL/dak

Taşıyıcı gaz: Helyum

Örnek enjeksiyon hacmi: 1 µL

Enjektör sıcaklığı 220°C

Sıcaklık programı:

Kolon fırın sıcaklığı 35°C (1 dak bekleme), 35°C'den 90°C'ye 10°C/dak ve 90°C'den 270°C'ye 30°C/dak 270°C (10 dak) olacak şekilde ve splitless modunda ayarlanmıştır. Bu sıcaklık programı doğrultusunda toplam analiz süresi 16.50 dakika olmuştur.

Kütle dedektörü için SIM modu programı yazılmış ve elektron bombardımanı iyonizasyonu 70 eV ve transfer hattının sıcaklığı 250°C ve iyon source sıcaklığı 220°C kullanılmıştır.

Standart olarak EPA 8270/Appendix IX Nitrosamines Mix (2000 µg/mL, Supelco) ve internal standart (N-Nitrosodi-n-propylamine-d14 (NDPA-d14); 1000 µg/mL Absolute Standards) kullanılmıştır. N-nitrozamin bileşiklerinin miktarı µg/kg sucuk (ppb) olacak şekilde katı ağırlığa çevrilerek hesaplanmıştır (EK 3). N-nitrozamin bileşenlerinin standartlarına ve sucuk örneğine ait kromatogramlar EK 28'de verilmiştir.

3.3.15 Mikrobiyolojik Analizler

Mikrobiyolojik analizler için 10 g sucuk örneği alınıp 90 mL steril fizyolojik tuzlu su (%0.85 NaCl; Merck) içerisinde Stomacher cihazı (Bagmixer 400 P, interscience, Fransa) ile 2 dakika homojenize edildikten sonra elde edilen 10⁻¹ dilüsyonundan 1 mL alınarak uygun dilüsyonlar hazırlanmıştır. Araştırmada tüm ekimler paralelli olarak yapılmış, uygun şartlarda inkübe edildikten sonra 30-300 arasında koloni oluşan petri kutularında sayım yapılmış ve sonuçlar log kob/g olarak verilmiştir (145).

Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayımı için Plate Count Agar (PCA; Merck, Darmstad, Almanya) besiyerine yayma plak yöntemine göre ekim yapılmış ve 35°C'de 48 saat inkübe edilmiştir (145). Laktik asit bakteri (LAB) sayımı için de Man Rogosa Sharpe Agar (MRS-Agar; Merck) besiyerine dökme plak yöntemine göre çift kat ekim yapılmış ve 30°C'de 72 saat inkübe edilmiştir (145). *Micrococcus/Staphylococcus* sayımı için Mannitol Salt Phenol Red Agar (MSA; Merck) besiyerine yayma plak yöntemine göre ekim yapılmış ve 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir (146). *Enterobacteriaceae* sayımı için Violet Red Bile Glucose Agar (VRBD-Agar; Merck) besiyerine dökme plak yöntemine göre ekim yapılmış ve 30°C'de 24 saat inkübe edilmiştir (147). Maya-küf sayımı için ise Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar (DRBC-Agar; Merck) besiyerine yayma plak yöntemine göre ekim yapılmış ve 25°C'de 5 gün inkübe edilmiştir

(145).

3.4 İstatistiksel Analizler

Çalışma Yanıt Yüzey Yöntemi göre iki merkez noktalı Merkezi Birleşik Desen esas alınarak iki tekerrürlü uygulanmıştır. Merkezi bir dizayn biçimi olan bu çalışmada merkez noktaları dahil olmak üzere 16 adet deneme noktası oluşturulmuştur. Sodyum nitrit (0, 75, 150 ppm), α - tokoferol (0, 100, 200 ppm) ve potasyum sorbat (0, 1500, 3000 ppm) olmak üzere üç faktörün denemede kullanılan parametreler üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

İkinci derece polinomiyal denklem esas alınıp her bir faktörün etkisine bakılmıştır. Modele ait eşitlik:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{\substack{i=1 \\ i < j}}^3 \sum_{j=1}^3 \beta_{ij} X_i X_j$$

Bu denklemde görülen β_0 , β_i , β_{ii} , β_{ij} sabit olmakla birlikte modelin regresyon katsayısıdır. Bağımsız değişken seviyelerini X_i ve X_j gösterir. Sodyum nitrit, α - tokoferol, potasyum sorbat olmak üzere üç değişkenli ve ikinci derece model deneme uyumu yapıp sonuçta lineer, kuadratik, ikili kombinasyonların etkileşimleri, önemlilik dereceleri, paket programı (SAS 6.12) ile belirlenmiştir. Y yanıt vektörü ve X dizayn matrisine göre, En Küçük Kareler Eşitliği $b=(X'X)^{-1} X'Y$ biçiminde yapılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Hammadde için Kimyasal Analiz Bulguları

Hammadde olarak kullanılan et ve yağlara ait kimyasal analiz bulguları Tablo 4.1.1’de verilmiştir.

Tablo 4.1.1. Hammadde olarak kullanılan et ve yağlara ait kimyasal analiz bulguları

Hammadde	Yağ (%)	Nem (%)	Protein (%)
Sığır Eti	3.05	76.92	17.13
Sığır Yağı	83.92	12.71	1.72
Koyun Kuyruk Yağı	88.14	3.65	1.34

4.2 Fermantasyonun Son Gününe ait Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Analiz Bulguları

Fermantasyonun son gününe (7. gün) ait istatistik analiz sonuçları tablolar halinde yer almaktadır.

4.2.1 pH Değeri

Fermantasyonun son gününde fermente sucuğun pH değeri üzerine faktörlerin etkisini ifade eden polinomiyal denkleme göre;

$$Y_{pH} = 4.9862 + 0.0056A - 0.0041B + 0.0341C + 0.0044A^2 + 0.0002AB - 0.0028B^2 - 0.0031AC - 0.0041BC + 0.0002C^2$$

biçiminde eşitlik açıklanmıştır. Tablo 4.2.1’de varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.2.1’de görüldüğü üzere, fermantasyonun son gününde sucukların pH değeri üzerine her bir faktörün lineer etkilerinin istatistiksel olarak çok önemli ($P<0.01$) olduğu tespit edilmiştir. Sodyum nitritin kuadratik etkisi ve nitrit ile sorbatın interaksiyon etkisinin istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$), α -tokoferol ile sorbatın interaksiyon etkisi de çok önemli ($P<0.01$) olduğu saptanmıştır (Şekil 4.2.1).

Potasyum sorbatın artan konsantrasyonları pH değerinde ciddi bir artışa sebep olmaktadır. Hussein vd. (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, koruyucu özelliğinin değerlendirilmesi amacıyla kıyma halindeki deve etlerine %0.3 oranında potasyum sorbat ilave edilmiş ve 7 gün depolanmıştır. Kontrol

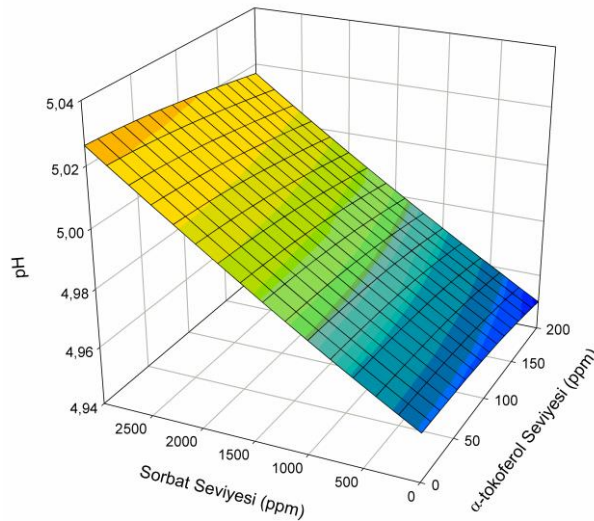
örneklerinde pH değeri 6.4'ten 6.2'ye düşerken, potasyum sorbat ilave edilen örneklerde bu süre sonunda pH değerinin 7.2 civarında olduğu bildirilmiştir (148).

Tablo 4.2.1. pH değeri üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	K.O.	F	
Model	9	0.0124	200.9360	
A (Sodyum nitrit)	1	0.0003	45.8929	**
B (α - tokoferol)	1	0.0002	24.3010	**
C (Potasyum sorbat)	1	0.0116	1699.188	**
A ²	1	0.0001	7.3266	*
AB	1	0.0001	0.0732	
B ²	1	0.0002	2.9544	
AC	1	0.0001	10.9802	*
BC	1	0.0001	19.3217	**
C ²	1	0.0001	0.0209	
Uyum Eksikliği	5	0.0001	28.9554	
Genel	15	0.0124	<.0001	

*: P<0.05 **:P<0.01

Sucuk hammaddesinde bulunan ve sucuğa ilave edilen karbonhidratların, starter kültür ve etin doğal florasında bulunan laktik asit bakterileri tarafından laktik aside parçalanmaları pH değerinde azalmaya sebep olmaktadır (1). pH değerindeki düşüş, istenmeyen bakterilerin gelişimini, renk dönüşüm oranlarını ve istenmeyen aroma oluşumunu engellediği için çok önemli olduğu ifade edilmektedir (20).



Şekil 4.2.1. pH değeri üzerine α -tokoferol ve potasyum sorbatın etkisi

4.2.2 Nem Oranı

Fermantasyon sonunda sucuğun nem oranı üzerine faktörlerin etkisini ifade eden polinomiyal denkleme göre;

$$Y_{nem} = 44.7763 + 0.3165A + 0.4424B + 0.8519C - 1.43856A^2 + 0.3903AB - 1.0306B^2 - 1.0049AC - 0.2865BC + 0.9398C^2$$

biçiminde eşitlik açıklanmıştır. Tablo 4.2.2’de varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.2.2. Nem oranı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	K.O.	F
Model	9	32.2932	1.7490
A (Sodyum nitrit)	1	1.0016	0.4882
B (α -tokoferol)	1	1.9574	0.9541
C (Potasyum sorbat)	1	7.2576	3.5377
A ²	1	5.4558	2.6594
AB	1	1.2186	0.5940
B ²	1	2.7999	1.3648
AC	1	8.0792	3.9382
BC	1	0.6566	0.3201
C ²	1	2.3285	1.1350
Uyum Eksikliği	5	12.0925	11.1655
Genel	15	44.6023	0.2554

*: P<0.05 **:P<0.01

Tablo 4.2.2’de görüldüğü üzere, sucukların nem oranları üzerine faktörlerin etkilerinin istatistiksel olarak önemli olmadığı (P>0.05) tespit edilmiştir. Fermantasyonun son gününde sucuk örneklerindeki nem oranları %40.50-47.04 (ortalama %43.82) aralığında değişim göstermektedir.

Gökalp vd. (2010) et proteinlerinin izoelektrik noktalarına düşen pH değerleri ile sucukta nem kaybının arttığını bildirmişlerdir (3).

4.2.3 Yağ Oranı

Fermantasyonun son gününde sucuğun yağ oranı üzerine faktörlerin etkisini ifade eden polinomiyal denkleme göre;

$$Y_{yağ} = 25.3185 + 0.4803A + 0.2870B - 0.2231C + 1.9858A^2 - 0.1134AB - 0.9219B^2 + 1.5764AC + 0.2335BC - 1.4410C^2$$

biçiminde eşitlik açıklanmıştır. Tablo 4.2.3’te varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.2.3. Yağ oranı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	K.O.	F
Model	9	38.0367	0.8528
A (Sodyum nitrit)	1	2.3073	0.4656
B (α -tokoferol)	1	0.8239	0.1662
C (Potasyum sorbat)	1	0.4976	0.1004
A ²	1	10.3963	2.0977
AB	1	0.1028	0.0208
B ²	1	2.2408	0.4522
AC	1	19.8804	4.0114
BC	1	0.4363	0.0880
C ²	1	5.4745	1.1046
Uyum Eksikliği	5	29.5307	28.8104
Genel	15	67.7723	0.6018

*: P<0.05 **:P<0.01

Tablo 4.2.3'te görüldüğü üzere, sucukların yağ oranları üzerine faktörlerin etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı (P>0.05) tespit edilmiştir. Fermantasyonun son gününde sucukların yağ oranları %21.90-29.93 (ortalama %25.08) aralığında değişim göstermektedir (EK 4). %18-20 yağ standardizasyonu ile üretilen Türk tipi fermente sucukların incelendiği bir çalışmada nem kaybına bağlı olarak fermentasyon ve olgunlaşma sırasında yağ içeriklerinde artış olduğu bildirilmiştir (149).

4.2.4 Protein Oranı

Fermantasyonun son gününde sucuğun protein oranı üzerine faktörlerin etkisini ifade eden polinomiyal denkleme göre;

$$Y_{protein} = 25.9490 + 0.9610A - 0.2801B + 0.1253C - 0.9028A^2 + 0.1868AB - 0.4123B^2 + 0.2684AC + 0.0611BC - 0.2662C^2$$

biçiminde eşitlik açıklanmıştır. Tablo 4.2.4'te varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.2.4'te görüldüğü gibi, sucukların protein oranları üzerinde faktörlerin etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı (P>0.05) tespit edilmiştir. Sucukların fermantasyonun son gününde protein oranları %22.50-26.93 (ortalama %24.96) aralığında değişim göstermiştir (EK 4). Sucuklarda kurumaya bağlı olarak nem içeriğinin azalmasıyla proteinin kuru maddedeki oranında nispi bir artış gözlenmiştir (150).

Tablo 4.2.4. Protein oranı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	K.O.	F
Model	9	17.5507	1.1784
A (Sodyum nitrit)	1	9.2356	5.5808
B (α -tokoferol)	1	0.78467	0.4742
C (Potasyum sorbat)	1	0.1571	0.0949
A ²	1	2.14878	1.2984
AB	1	0.2792	0.1687
B ²	1	0.4482	0.2708
AC	1	0.5765	0.3484
BC	1	0.0299	0.0181
C ²	1	0.1868	0.1129
Uyum Eksikliği	5	6.3027	0.3476
Genel	15	27.4800	0.4360

*: P<0.05 **:P<0.01

4.2.5 Proteoliz Oranı

Fermantasyonun son gününde sucuğun proteoliz oranı üzerine faktörlerin etkisini ifade eden polinomiyal denkleme göre;

$$Y_{proteoliz} = 61.3202 + 15.8094A + 5.5799B + 2.7156C - 13.8218A^2 + 3.3946AB - 17.7593B^2 - 1.6105AC - 9.4282BC - 2.1260C^2$$

biçiminde eşitlik açıklanmıştır. Tablo 4.2.5'te varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.2.5. Proteoliz oranı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	K.O.	F
Model	9	6718.7390	1.3452
A (Sodyum nitrit)	1	2499.3807	4.5036
B (α -tokoferol)	1	311.3548	0.5610
C (Potasyum sorbat)	1	73.7429	0.1329
A ²	1	503.6560	0.9075
AB	1	92.1841	0.1661
B ²	1	831.4908	1.4983
AC	1	20.7506	0.0374
BC	1	711.1225	1.2814
C ²	1	11.9159	0.0215
Uyum Eksikliği	5	1817.5090	0.2404
Genel	15	10048.565	0.3708

*: P<0.05 **:P<0.01

Tablo 4.2.5'te görüldüğü üzere, sucukların proteoliz değerleri üzerinde faktörlerin etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı (P>0.05) tespit edilmiştir. Sucukların NPN oranları %12.09-85.67 (ortalama %40.25) aralığında değişim göstermektedir (EK 4). NPN oranlarındaki bu geniş aralığın sucuğa ilave edilen sodyum nitritin artan konsantrasyonuyla ilgili olduğu düşünülmektedir.

Proteoliz değeri üzerinde endojen et enzimleri ve mikrobiyel enzimlerin etkili olduğu, fermentasyon başlangıcında endojen et enzimlerinin proteolitik aktivite reaksiyonlarında daha fazla rol oynadığı bildirilmektedir. Mikrokok ve stafilocokların fermentasyon ve olgunlaştırma süresince mikrobiyel enzim kaynakları olduğu ifade edilmektedir (1,66).

4.2.6 Lipoliz Oranı

Fermentasyonun son gününde sucukların lipoliz değeri üzerine faktörlerin etkisini ifade eden polinomiyal denkleme göre;

$$Y_{lipoliz} = 2.0374 - 0.0836A + 0.0741B + 0.5045C - 0.5544A^2 - 0.0751AB + 0.5946B^2 - 0.1291AC - 0.0454BC - 0.1352C^2$$

biçiminde eşitlik açıklanmıştır. Tablo 4.2.6'da varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.2.6. Lipoliz oranı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	K.O.	F	
Model	9	4.2396	4.6196	
A (Sodyum nitrit)	1	0.0699	0.6854	
B (α -tokoferol)	1	0.0549	0.5387	
C (Potasyum sorbat)	1	2.5456	24.9642	**
A ²	1	0.8104	7.9468	*
AB	1	0.0451	0.4427	
B ²	1	0.9320	9.1401	*
AC	1	0.1333	1.3076	
BC	1	0.0165	0.1615	
C ²	1	0.0482	0.4725	
Uyum Eksikliği	5	0.6058	20.2345	
Genel	15	4.8514	0.0381	

*: P<0.05 **:P<0.01

Tablo 4.2.6'da görüldüğü üzere, fermentasyonun son gününde sucuğun serbest yağ asitliği değeri (ort. %2.04) üzerinde potasyum sorbatın hem lineer etkisinin istatistiksel olarak çok önemli (P<0.01) olduğu saptanmıştır. Sodyum nitritin ve α -tokoferolün kuadratik etkilerinin ise istatistiksel olarak önemli (P<0.05) olduğu tespit edilmiştir.

Et ve et ürünlerinin lipit oksidasyonunu en aza indirmek için nitrit, metal bağlayıcı ajanlar ve doğal/sentetik antioksidanlar (bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), E vitamini, askorbik asit) gibi yağ oksidasyonunu önleyici antioksidanlar kullanılmaktadır (151). Aksu (2007) kavurma örneklerine farklı konsantrasyonlarda α -tokoferol (0, 50, 100 ppm) ilave

edip +4°C ve 10°C’de depolanmasının lipid oksidasyonu üzerindeki etkisini araştırmıştır. α -tokoferol ilavesinin kontrol örneklerine kıyasla lipid oksidasyonuna karşı en yüksek stabilite gösterdiği ifade edilmiştir (152).

Nitritin indirgenme reaksiyonları sonucu oluşan NO molekülünün kendisi oksijen varlığında kolayca NO₂’ye oksitlenebilmektedir. Bu, oksijen bağlaması ve dolayısıyla nitritin et ürünlerinde antioksidan etki gösterdiği anlamına gelmektedir. Oksijen eksikliğinden dolayı, ransidite gelişimi veya aşırı ısınmış bir lezzet gecikmektedir. Nitrit bir antioksidan olarak bu şekilde davrandığından, bu reaksiyon et ürünlerinde oldukça önemlidir (153).

4.2.7 Peroksit Değeri

Fermantasyonun son gününde sucukların peroksit değeri üzerine faktörlerin etkisini ifade eden polinomiyal denkleme göre;

$$Y_{\text{peroksit}} = 0.5395 + 0.0494A + 0.0335B + 0.0092C - 0.0080A^2 - 0.0142AB + 0.0546B^2 + 0.0181AC + 0.0079BC - 0.0782C^2$$

biçiminde eşitlik açıklanmıştır. Tablo 4.2.7’de varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.2.7. Peroksit değeri üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	K.O.	F
Model	9	0.0612	2.5983
A (Sodyum nitrit)	1	0.0244	9.3093 *
B (α -tokoferol)	1	0.0112	4.2784
C (Potasyum sorbat)	1	0.0010	0.3250
A ²	1	0.0002	0.0641
AB	1	0.0016	0.6187
B ²	1	0.0079	3.0062
AC	1	0.0026	0.9996
BC	1	0.0005	0.1918
C ²	1	0.0161	6.1536 *
Uyum Eksikliği	5	0.0129	0.9335
Genel	15	0.0769	0.1288

*: P<0.05 **:P<0.01

Tablo 4.2.7’de görüldüğü üzere, fermantasyonun sonunda sucukların peroksit değerleri üzerinde sodyum nitritin lineer ve potasyum sorbatın kuadratik etkilerinin istatistiksel olarak önemli (P<0.05) olduğu tespit edilmiştir.

Wu vd. (2019) deniz taraklarında lipid oksidasyonu ve hidrolizin geciktirmek için %0.2 oranında antioksidan etkiye sahip bambu yaprakları ve %0.2 oranında potasyum sorbat içeren kitosan kaplama kullanmışlardır.

Örneklerin 8 günlük +4°C’de depolanmasının sonunda, kullanılan kaplamaların toplam bakteri sayısını, toplam uçucu bazik azot miktarını, peroksit değerini, tiyobarbütirik asit sayısını önemli ölçüde azalttığını belirtmişlerdir (154).

4.2.8 TBA Sayısı

Fermantasyonun son gününde sucukların TBA sayısı üzerine faktörlerin etkisini ifade eden polinomial denkleme göre;

$$Y_{TBA} = 0.1854 - 0.0445A - 0.0236B + 0.0025C + 0.0271A^2 + 0.0169AB + 0.0086B^2 + 0.0051AC - 0.0027BC - 0.0051C^2$$

biçiminde eşitlik açıklanmıştır. Tablo 4.2.8’de varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.2.8’de görüldüğü üzere, sucukların TBA değerleri üzerinde sodyum nitrit ve α -tokoferolün lineer etkilerinin istatistiksel olarak çok önemli ($P<0.01$) olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, nitritin kuadratik etkisi ve nitrit ile α -tokoferolün interaksiyon etkilerinin istatistiksel olarak çok önemli ($P<0.01$) olduğu saptanmıştır (Şekil 4.2.2).

Tablo 4.2.8. TBA sayısı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

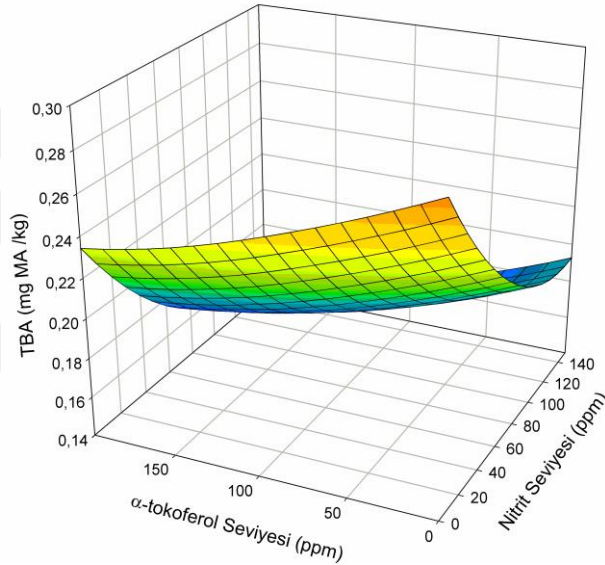
Varyans Kaynağı	SD	K.O.	F
Model	9	0.0312	32.6454
A (Sodyum nitrit)	1	0.0198	185.9424 **
B (α -tokoferol)	1	0.0056	52.3696 **
C (Potasyum sorbat)	1	0.0001	0.6045
A ²	1	0.0019	18.2108 **
AB	1	0.0023	21.2871 **
B ²	1	0.0002	1.8228
AC	1	0.0002	1.9718
BC	1	0.0001	0.5410
C ²	1	0.0001	0.6392
Uyum Eksikliği	5	0.0006	16.5742
Genel	15	0.0319	0.0002

*: $P<0.05$ **: $P<0.01$

TBA değeri artan nitrit seviyesi ile önemli derecede azalma göstermiştir (EK 16). Nitritin antioksidan etkisi büyük olasılıkla nitritin et işleme sırasında açığa çıkan hem olmayan demire karşı şelatlama etkisinden kaynaklanmaktadır (155).

Fermantasyonun son gününde sodyum nitrit ve α -tokoferolün sinerjistik etki göstererek çok önemli düzeyde antioksidan aktiviteye sahip olduklarından iki faktörün interaksiyon ilişkisinin de TBA değerinin düşmesine sebep olduğu

görülmektedir. Berardo vd. (2016) fermente sosislere sodyum nitrit ve sodyum askorbat ilavesinin lipit oksidasyonu üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Sodyum askorbat ve sodyum nitrit içermeyen bir kontrol örneği, sodyum nitrit olmadan 500 ppm eklenen sodyum askorbat, sodyum askorbat olmadan 150 ppm eklenen sodyum nitrit ve 500 ppm sodyum askorbat + 150 ppm sodyum nitrit ilavesi ile üretilen sosis örneklerinde 28 günlük olgunlaştırma işlemi uygulamışlardır. Çalışma sonunda, sodyum askorbat ve nitritin malondialdehit oluşumunu ayrı ayrı azaltabildiği; kombine kullanımında TBA değeri daha düşük olmasına rağmen, istatistiksel olarak önemli olmadığı ifade edilmiştir (155).



Şekil 4.2.2. TBA değeri üzerinde sodyum nitrit ve α -tokoferolün etkisi

4.2.9 Nitrozomiyoglobin Oranı

Fermantasyonun son gününde sucukların nitrozomiyoglobin miktarı üzerinde faktörlerin etkisini ifade eden polinomiyal denkleme göre;

$$Y_{NOMb} = 31.8803 + 10.7527A + 2.0246B + 0.7084C + 3.2396A^2 + 1.2368AB - 1.9984B^2 - 0.0004AC + 0.8762BC - 6.8306C^2$$

biçiminde eşitlik açıklanmıştır. Tablo 4.2.9'da varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.2.9. NOMb miktarı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	K.O.	F
Model	9	1397.5422	2.0862
A (Sodyum nitrit)	1	1156.1951	15.5334 **
B (α -tokoferol)	1	40.9890	0.5507
C (Potasyum sorbat)	1	5.0189	0.0674
A ²	1	27.6689	0.3717
AB	1	12.2365	0.1644
B ²	1	10.5285	0.1414
AC	1	0.0000	0.0000
BC	1	6.1417	0.0825
C ²	1	123.0032	1.6525
Uyum Eksikliği	5	442.8476	23.6273
Genel	15	1844.1384	0.1916

*: P<0.05 **:P<0.01

Tablo 4.2.9’da görüldüğü üzere, fermentasyonun son gününde sucuğun nitrozomiyogloblin miktarı üzerine sodyum nitritin lineer etkisinin istatistiksel olarak çok önemli (P<0.01) olduğu tespit edilmiştir.

Fermente sucukların karakteristik rengi, et pigmentlerinin (miyogloblin) sucuk üretimi sırasında ilave edilen sodyum nitrit ile etkileşimi sonucu oluşan nitrozomiyogloblin ile ilgilidir (156). Fermente sucuk örneklerine eklenen nitrit miktarı arttıkça NOMb oluşumunun da arttığı görülmektedir. Sosis üretimine farklı konsantrasyonlarda sodyum nitrit (0, 100, 125, 150 ppm) ilave edilmiş ve sosislerdeki NOMb oluşumları belirlenmiştir. 100 ppm nitrit ile hazırlanan sosislerde NOMb dönüşümü yaklaşık %45 iken, 125 ppm nitrit kullanıldığında dönüşüm oranının yaklaşık %60’a yükseldiği rapor edilmiştir (157).

4.2.10 Toplam Tokoferol Miktarı

Fermentasyonun son gününde sucuğun toplam tokoferol miktarı üzerine faktörlerin etkisini ifade eden polinomiyal denkleme göre;

$$Y_{tokoferol} = 65.4075 + 19.4765A + 35.9823B - 12.8758C - 8.2824A^2 + 14.2270AB + 43.8191B^2 + 11.8393AC - 10.4218BC - 0.4795C^2$$

biçiminde eşitlik açıklanmıştır. Tablo 4.2.10’da varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.2.10’da görüldüğü üzere, fermente sucuğun toplam tokoferol miktarı üzerinde sodium nitritin lineer etkisinin istatistiksel olarak önemli (P<0.05), α -tokoferolün hem lineer hem kuadratik etkilerinin ise çok önemli (P<0.01) olduğu tespit edilmiştir.

Toplam tokoferol miktarı lipid oksidasyonu sonucu birincil ve ikincil oksidasyon ürünlerinin artmasıyla azalma göstermiştir (158). Fermantasyonun son gününde sucukların toplam tokoferol miktarı sucuk üretiminde eklenen α -tokoferol konsantrasyonundan etkilenmiştir.

Tablo 4.2.10. Toplam tokoferol miktarı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	K.O.	F	
Model	9	28136.626	10.3225	
A (Sodyum nitrit)	1	3793.337	12.5250	*
B (α -tokoferol)	1	12947.254	42.7496	**
C (Potasyum sorbat)	1	1657.866	5.4740	
A ²	1	180.848	0.5971	
AB	1	1619.261	5.3465	
B ²	1	5062.121	16.7143	**
AC	1	1121.353	3.7025	
BC	1	868.904	2.8690	
C ²	1	0.606	0.0020	
Uyum Eksikliği	5	1376.820	0.6253	
Genel	15	29953.801	0.0051	

*: P<0.05 **:P<0.01

4.2.11 İyon Değerleri

Fermantasyonun son gününde fermente sucuğun iyon miktarları (NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^-) üzerinde faktörlerin etkisini ifade eden polinomiyal denklemlere göre;

$$Y_{\text{NH}_4^+} = 8.0836 + 3.6199A + 3.3365B - 3.2318C + 2.3400A^2 + 4.1706AB + 0.9228B^2 - 4.1706AC - 4.1706BC + 1.4461C^2$$

$$Y_{\text{NO}_2^-} = 0.7322 + 0.9029A - 0.2115B + 0.4799C + 0.6909A^2 - 0.4088AB + 0.0212B^2 + 0.1638AC + 0.0917BC + 0.7335C^2$$

$$Y_{\text{NO}_3^-} = 22.1702 + 8.9947A + 0.8124B + 4.19223C - 1.9971A^2 - 0.7991AB + 1.0548B^2 + 1.6522AC - 0.5031BC - 1.4745C^2$$

biçiminde eşitlikler açıklanmıştır. Tablo 4.2.11’de varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.2.11’de görüldüğü üzere, fermente sucukların amonyum miktarları üzerinde faktörlerin etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı ($P>0.05$) görülmektedir. Nitrit iyonu üzerinde faktörlerden sodyum nitritin lineer etkisinin istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) olduğu tespit edilmiştir. Sucuklara ilave edilen nitrit konsantrasyonu arttıkça örneklerdeki kalıntı nitrit miktarının da arttığı

görülmektedir. Nitrat oluşumu üzerinde ise faktörlerden sodyum nitritin ve potasyum sorbatın lineer etkilerinin istatistiksel olarak çok önemli ($P<0.01$) olduğu saptanmıştır.

Nitrit reaktivitesi yüksek olan bir bileşiktir (155). Nitrit kısmen nitrata oksitlenmekte, kısmen gaz olarak kaybolmakta ve diğer kısmı lipitler, proteinler ve metallerle reaksiyona girmektedir. Ayrıca nitrit, askorbat ile reaksiyona girerek kalıntı nitrit miktarının azalmasına sebep olmaktadır (153). Fermente sucuk örneklerinde belirlenen amonyum iyonunun etteki organik azot içeren bileşiklerin (protein, peptid, nükleik asit vb.) deaminasyonu ile de oluşabildiği belirtilmektedir (2).

Potasyum sorbatın 2000-2600 ppm seviyesinde kullanımı kanserojen *N*-nitrozamin oluşumunu azaltmak için nitrit konsantrasyonunu düşürmek amacıyla 20-80 ppm sodyum nitrit ile birlikte et ürünlerinde kullanılabileceği tespit edilmiştir. Ayrıca bu kombine kullanımın et rengini korumada ve *C. botulinum* gelişimini ve toksin üretimini kontrol etmede yeterli olduğu ifade edilmektedir (112,126).

İyon değerlerinin birbirleri arasındaki ilişkiye bakıldığında; nitrit iyonu ile nitrat iyonu arasındaki pozitif korelasyonun (0.581) istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) olduğu belirlenmiştir (EK 14). Sucuğa eklenen nitrit miktarı arttıkça fermentasyonun son gününde kalıntı nitrit miktarının daha yüksek olduğu, nitritin yükseltgenme reaksiyonlarına bağlı olarak nitratın miktarında artış olduğu görülmektedir.

Tablo 4.2.11. İyon miktarları üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	NH ₄ ⁺		NO ₂ ⁻		NO ₃ ⁻	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Model	9	819.8960	2.5337	18.2099	2.3460	1045.1393	23.6364
A (Sodyum nitrit)	1	131.0370	3.6444	8.1529	9.4530 *	809.0465	164.6730 **
B (α -tokoferol)	1	111.3205	3.0960	0.4475	0.5188	6.6000	1.3434
C (Potasyum sorbat)	1	104.4462	2.9048	2.3026	2.6698	175.7493	35.7719 **
A ²	1	14.4354	0.4015	1.2584	1.4590	10.5150	2.1402
AB	1	139.1506	3.8700	1.3368	1.5500	5.1090	1.0399
B ²	1	2.2451	0.0624	0.0012	0.0014	2.9330	0.5970
AC	1	139.1506	3.8700	0.2147	0.2490	21.8380	4.4449
BC	1	139.1506	3.8700	0.0672	0.0780	2.0246	0.4121
C ²	1	5.5132	0.1533	1.4183	1.6444	5.7317	1.1666
Uyum Eksikliği	5	215.7349		4.2778	0.9538	29.3852	63.1198
Genel	15	1035.6309	0.1351	23.3847	0.1558	1074.6176	0.0005

*: P<0.05 **:P<0.01

4.2.12 Renk Değerleri

Fermantasyonun son gününde sucukların iç kesit renk değerleri (L^* , a^* , b^*) üzerine faktörlerin etkisini ifade eden polinomiyal denklemlere göre;

$$Y_{L^*iç} = 50.3144 + 1.0952A - 0.1600B - 1.5413C - 0.5057A^2 + 1.0479AB + 1.1185B^2 + 1.8454AC - 0.7625BC - 2.7732C^2$$

$$Y_{a^*iç} = 18.6148 + 2.0948A + 1.0298B - 0.2251C - 1.0272A^2 - 0.3865AB - 0.9388B^2 + 0.6669AC + 0.2140BC - 0.2417C^2$$

$$Y_{b^*iç} = 13.1398 + 0.3042A + 0.4737B - 0.0547C + 0.5312A^2 + 0.2113AB - 0.5330B^2 - 0.0938AC - 0.0463BC - 0.2180C^2$$

biçiminde eşitlikler açıklanmıştır. Tablo 4.2.12’de varyans analiz sonuçları verilmiştir.

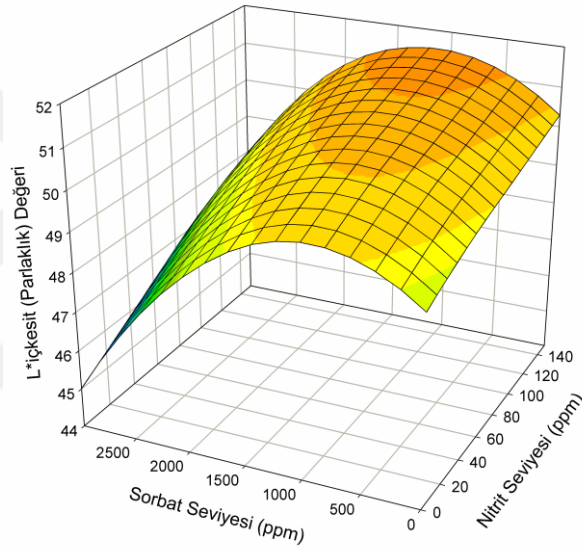
Tablo 4.2.12. İç kesit renk değerleri üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	L* _{iç}		a* _{iç}		b* _{iç}	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Model	9	103.2511	3.7495	72.6335	5.9206	4.9551	0.8724
A (Sodyum nitrit)	1	11.9939	3.9199	43.8833	32.1936	**	0.9252
B (α -tokoferol)	1	0.2560	0.0837	10.6056	7.7804	*	2.2436
C (Potasyum sorbat)	1	23.7571	7.7645	*	0.5066	0.3717	0.0299
A ²	1	0.6743	0.2204	2.7815	2.0406	0.7439	1.1786
AB	1	8.7850	2.8712	1.1948	0.8765	0.3570	0.5657
B ²	1	3.2979	1.0778	2.3237	1.7047	0.7489	1.1867
AC	1	27.2445	8.9042	*	3.5578	2.6101	0.0703
BC	1	4.6513	1.5202	0.3662	0.2687	0.0171	0.0271
C ²	1	20.2756	6.6266	*	0.1541	0.1130	0.1253
Uyum Eksikliği	5	15.8045	1.2377	8.1573	76.3949	3.7795	104.9847
Genel	15	121.6094	0.0609	80.8122	0.0211	3.7867	0.0740

*: P<0.05 **:P<0.01

Tablo 4.2.12’de görüldüğü üzere, fermantasyonun son gününde sucuğun iç kesitine ait L^* (parlaklık) değeri üzerinde potasyum sorbatın hem lineer hem kuadratik etkilerinin ve sodyum nitrit ile potasyum sorbatın interaksiyon etkisinin istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) olduğu tespit edilmiştir. Sucukların a^* (kırmızılık) değerleri üzerinde sodyum nitritin lineer etkisinin istatistiksel olarak çok önemli ($P<0.01$), α -tokoferolün lineer etkisinin ise önemli ($P<0.05$) olduğu saptanmıştır. Fermente sucuğun b^* (sarılık) değeri üzerinde faktörlerin etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı ($P>0.05$) tespit edilmiştir.

Potasyum sorbatın artan konsantrasyonlarının sucukların iç kesitine ait L* (parlaklık) değerini azalttığı görülmektedir (Şekil 4.2.3). Kurt ve Ceylan (2019) sucuk kılıflarını farklı konsantrasyonlarda potasyum sorbat çözeltisine (0, %5, %10, %20) daldırdıktan sonra sucuk üretimi gerçekleştirmiştir. Bu uygulamanın olgunlaştırma ve depolama süresince sucukların fizikokimyasal, mikrobiyolojik özellikleri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Araştırma sonuçlarına göre %20 potasyum sorbat uygulamasının olduğu sucuk örneklerinde L* değerinin önemli derecede azaldığını ifade etmişlerdir (64). L* değerindeki azalmanın sucuğun kurutulduktan sonra renginin koyulaşması ile ilgili olduğu belirtilmiştir (159).



Şekil 4.2.3. L* iç kesit değeri üzerine sodyum nitrit ve potasyum sorbatın etkisi

Huang vd. (2020) sosislerin a* (kırmızılık) değerinin kütleme sonucu oluşan nitrozomiyoglobinin tipik kırmızı rengini ifade ettiğini belirtmişlerdir. Ayrıca, sosise eklenen starter kültürlerin ya da sosisin doğal mikroflorasında bulunan bakterilerin NOMb oluşturma yeteneğine bağlı a* değerinin etkilendiği rapor edilmiştir (160).

Fermantasyonun son gününde sucukların dış yüzey renk değerleri (L*, a*, b*) üzerinde faktörlerin etkisini ifade eden polinomiyal denklemlere göre;

$$Y_{L^*_{dış}} = 35.6219 + 1.2310A + 0.3242B - 0.0893C - 1.1316A^2 - 0.1502AB - 1.5675B^2 + 0.0190AC - 0.2902BC + 0.8967C^2$$

$$Y_{a^*dış} = 15.4033 + 2.4510A - 0.2143B - 0.9862C - 0.8283A^2 + 0.0644AB - 0.7383B^2 + 0.4827AC - 0.2415BC + 0.3175C^2$$

$$Y_{b^*dış} = 8.1953 + 1.0762A + 0.1948B - 0.3383C - 0.2991A^2 - 0.1875AB - 1.0825B^2 + 0.1033AC - 0.0304BC + 0.7067C^2$$

biçiminde eşitlikler açıklanmıştır. Tablo 4.2.13'te varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.2.13'te görüldüğü üzere, sucukların dış yüzeyine ait L* ve a* değerleri üzerinde faktörlerin etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı (P>0.05) saptanmıştır. Fermantasyonun son gününde sucuğun b* değeri üzerinde sodyum nitrit ve potasyum sorbatın lineer etkilerinin istatistiksel olarak çok önemli (P<0.01) olduğu tespit edilmiştir. α-tokoferolün kuadratik etkisinin istatistiksel olarak çok önemli (P<0.01) ve potasyum sorbatın kuadratik etkisinin önemli (P<0.05) olduğu saptanmıştır.

Tablo 4.2.13. Dış yüzey renk değerleri üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	L*dış		a*dış		b*dış	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Model	9	31.9099	1.2952	78.0172	32.2673	17.7982	29.0887
A (Sodyum nitrit)	1	15.1536	5.5356	60.0740	223.6152	11.5814	170.3534 **
B (α-tokoferol)	1	1.0508	0.3839	0.4594	1.7100	0.3796	5.5837
C (Potasyum sorbat)	1	0.0798	0.0292	9.7253	36.2006	1.1447	16.8376 **
A ²	1	3.3761	1.2333	1.8089	6.7333	0.2359	3.4701
AB	1	0.1805	0.0659	0.0332	0.1234	0.2813	4.1370
B ²	1	6.4775	2.3662	1.4372	5.3496	3.0891	45.4391 **
AC	1	0.0029	0.0011	1.8641	6.9386	0.0854	1.2565
BC	1	0.6738	0.2461	0.4664	1.7362	0.0074	0.1089
C ²	1	2.1198	0.7744	0.2658	0.9893	1.3167	19.3670 *
Uyum Eksikliği	5	4.1157	0.0669	1.2919	0.8074	0.3351	0.9201
Genel	15	48.3346	0.3891	79.6291	0.0002	18.2061	0.0003

*: P<0.05 **:P<0.01

Fermantasyonun son gününde sucukların dış yüzeyine ait b* (sarılık) değeri üzerinde faktörlerin etkileri önemli bulunmuştur. Sodyum nitritin artan konsantrasyonları b* değerinde artışa sebep olurken, α-tokoferol ve sorbatın ilavesi bu değerde azalmaya sebep olmuştur (EK 18). Bu durum, mikroorganizmalar tarafından oksijen tüketimine sarı rengin katkıda bulunduğu oksimiyoglobindeki azalma ile ilişkilendirilebilmektedir (161).

4.2.13 Biyojen Amin Değerleri

Fermantasyonun son gününde sucukların biyojen amin (TRP, PhA, PUT, CAD, HIS, TyR, SPD ve SPM) değerleri üzerinde faktörlerin etkisini ifade eden polinomiyal denklemlere göre;

$$Y_{TRP} = 34.1039 + 0.4206A - 0.1039B - 3.7232C + 5.3792A^2 + 0.2255AB + 1.4370B^2 - 0.5408AC + 1.0017BC - 0.4921C^2$$

$$Y_{PhA} = 40.4862 + 0.2219A + 1.2497B + 0.3222C - 1.1379A^2 - 0.6388AB + 0.7355B^2 - 1.1705AC + 0.5271BC - 5.5389C^2$$

$$Y_{CAD} = 25.4074 - 4.7811A - 0.1874B - 9.3446C + 24.6776A^2 - 5.1722AB - 12.8059B^2 + 4.8921AC + 4.9474BC - 5.5814C^2$$

$$Y_{HIS} = 20.1090 + 0.6447A - 0.5055B - 2.1366C + 0.2643A^2 - 1.6860AB - 4.2372B^2 - 0.4992AC - 0.9767BC - 1.5216C^2$$

$$Y_{TyR} = 25.3709 - 6.25634A - 3.7777B + 3.1843C + 13.1534A^2 + 2.6691AB - 9.7735B^2 - 2.5125AC - 4.7338AB - 3.6155C^2$$

$$Y_{SPD} = 49.0745 + 1.2924A - 6.7424B - 12.4974C - 29.2742A^2 + 9.3769AB + 4.9111B^2 + 5.8521AC + 4.6064BC + 18.1926C^2$$

$$Y_{SPM} = 21.9219 - 1.15830A - 0.3345B + 0.1956C - 0.0099A^2 + 3.4716AB - 6.7206B^2 + 1.1405AC + 0.7435BC + 1.5385C^2$$

biçiminde eşitlikler açıklanmıştır. Tablo 4.2.14'te varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.2.14'te görüldüğü üzere sucuklarda TRP, PhA, PUT, HIS, SPM oluşumları üzerine faktörlerin etkilerinin istatistiksel olarak önemli olmadığı ($P>0.05$) tespit edilmiştir. Sodyum nitritin lineer etkisinin CAD miktarı üzerinde, sodyum nitritin kuadratik etkisinin ise TyR oluşumu üzerinde istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) olduğu saptanmıştır. Potasyum sorbatın lineer etkisinin ve sodyum nitritin kuadratik etkisinin SPD oluşumu üzerinde istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) oldukları tespit edilmiştir.

Potasyum sorbat ilavesinin SPD oluşumunu azaltmada etkili olabildiği görülmektedir (EK 20). Bir çalışmada, farklı konsantrasyonlarda potasyum sorbat (%0.02, %0.03, %0.04, %0.05 ve %0.06) ilave edilerek üretilen sosislerde SPD miktarının belirlenemediği belirtilmiştir (52). Faktörlerin etkisini gösteren 2 boyutlu grafiklere bakıldığında; potasyum sorbatın artan konsantrasyonları TRP, PhA ve CAD oluşumlarını azalttığı görülse de bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olmadığı ($P>0.05$) belirlenmiştir (EK 20).

HIS ve TyR toksisitesi en yüksek biyojen aminler olarak bilinmektedir. HIS sadece toksikolojik riski nedeniyle değil, aynı zamanda gıda kalitesinin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (162). Tespit edilen HIS miktarının 50-100 ppm aralığında olması ürünün “iyi üretim uygulamaları” ile üretildiğini göstermektedir (64,163). Genellikle, HIS içeriğinin diğer biyojen aminlerden ve 50 ppm’den az olduğu ifade edilmektedir (24,164). Bu çalışmada da belirlenen HIS içeriği diğer çalışmalarla benzerlik göstermektedir (EK 8).

Sodyum nitritin 75 ppm’e kadar artan konsantrasyonları CAD ve TyR bileşiklerinin azalmasına sebep olurken; bu seviyenin üzerinde kullanımı biyojen aminlerin oluşumunu artırmıştır. Sodyum nitritin SPD oluşumu üzerinde ise inhibe edici etkiye sahip olduğu görülmektedir (EK 20). Bunlar nitritin proteolitik organizmalar üzerindeki biyojen amin oluşumlarına neden olan antimikrobiyel etkisine bağlanabilir (165). Nitritin biyojen aminlerin oluşumlarını azaltabilmesinin bir sebebi de biyojen aminlerle reaksiyona girerek *N*-nitrozamin bileşiklerini oluşturmasıdır (166).

Fermantasyonun son gününde sucuk örneklerinde oluşan biyojen aminlerin birbirleri ile arasında korelasyon olmadığı tespit edilmiştir.

Tablo 4.2.14. Biyojen amin miktarları üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	TRP		PhA		PUT		CAD	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Model	9	283.7414	0.6257	160.3971	1.2194	39.1546	0.3886	3380.9435	2.5918
A (Sodyum nitrit)	1	1.7688	0.0351	0.4925	0.0337	3.6671	0.3276	228.5891	1.5771
B (α -tokoferol)	1	0.1080	0.0021	15.6161	1.0685	4.3785	0.3911	0.3512	0.0024
C (Potasyum sorbat)	1	138.6185	2.7512	1.0380	0.0710	0.0234	0.0021	873.2153	6.0245
A ²	1	76.2846	1.5140	3.4135	0.2335	2.0696	0.1849	1605.5034	11.0767 *
AB	1	0.4068	0.0081	3.2649	0.2234	11.5504	1.0318	214.0121	1.4765
B ²	1	5.4436	0.1080	1.4263	0.0976	13.2676	1.1852	432.3414	2.9828
AC	1	2.3399	0.0464	10.9604	0.7499	0.8697	0.0777	191.4610	1.3209
BC	1	8.0265	0.1593	2.2225	0.1521	0.3272	0.0292	195.8163	1.3510
C ²	1	0.6385	0.0127	80.8823	5.5340	0.7112	0.0635	82.1273	0.5666
Uyum Eksikliği	5	165.1690	0.2409	75.3793	1.2243	14.0071	0.0527	661.8138	0.6368
Genel	15	586.0542	0.7471	248.0905	0.4188	106.3225	0.9020	4250.6085	0.1294

*: P<0.05 **:P<0.01

(TRP: Triptamin; PhA: 2-feniletilamin; PUT: Putresin; CAD: Kadaverin).

Tablo 4.2.14. Biyojen amin miktarları üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları (Devamı)

Varyans Kaynağı	SD	HIS		TyR		SPD		SPM	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Model	9	178.2358	0.3278	1485.5945	2.2472	5671.0456	2.9044	268.4030	0.5882
A (Sodyum nitrit)	1	4.1564	0.0688	391.4180	5.3287	16.7025	0.0770	13.4167	0.2646
B (α -tokoferol)	1	2.5556	0.0423	142.7083	1.9428	454.5948	2.0954	1.1190	0.0221
C (Potasyum sorbat)	1	45.6486	0.7557	101.3993	1.3804	1561.8543	7.1991 *	0.3826	0.0075
A ²	1	0.1841	0.0030	456.1197	6.2096 *	2259.3079	10.4139 *	0.0003	0.0000
AB	1	22.7394	0.3764	56.9938	0.7759	703.4046	3.2422	96.41560	1.9016
B ²	1	47.3333	0.7836	251.8272	3.4283	63.5859	0.2931	119.0763	2.3485
AC	1	1.9937	0.0330	50.5010	0.6875	273.9748	1.2628	10.4052	0.2052
BC	1	7.63161	0.1263	179.2696	2.4406	169.7486	0.7824	4.4217	0.0872
C ²	1	6.1038	0.1010	34.4628	0.4692	872.5544	4.0219	6.2403	0.1231
Uyum Eksikliği	5	145.6223	0.1343	412.0942	2.8785	1136.0706	1.3717	242.0002	0.7779
Genel	15	540.6785	0.9351	1926.3211	0.1683	6972.7566	0.1037	572.6234	0.7725

*: P<0.05 **:P<0.01

(HIS: Histamin; TyR: Tiramin; SPD: Spermidin; SPM: Spermin).

4.2.14 N-Nitrozamin Değerleri

Fermantasyonun son gününde sucuğun *N*-nitrozamin (NDMA, NMEA, NDEA, NDPA, NMOR, NPYR, NPIP, NDBA ve NDPhA) miktarları üzerine faktörlerin etkisini ifade eden polinomiyal denklemlere göre;

$$Y_{NDMA} = 40.6278 + 4.8509A - 2.5462B + 1.23260C + 1.6967A^2 - 8.0399AB + 2.7104B^2 - 2.4685AC + 2.7666BC - 9.3188C^2$$

$$Y_{NMEA} = 5.1332 + 1.1950A + 0.0490B - 0.2359C - 0.2281A^2 - 0.9656AB + 1.8351B^2 + 0.2882AC - 0.8163BC - 1.6252C^2$$

$$Y_{NDEA} = 2.3223 + 0.9436A - 0.0321B + 1.4691C - 0.1254A^2 - 0.7813AB - 0.2433B^2 + 0.7716AC - 0.0638BC + 0.5279C^2$$

$$Y_{NDPA} = -2.7800 - 13.7413A - 13.1572B - 14.3300C + 10.4247A^2 + 20.8333AB + 9.4345B^2 + 22.4071AC + 20.9287BC + 8.5752C^2$$

$$Y_{NMOR} = 22.0893 + 2.5045A + 17.1418B - 2.4496C - 28.6524A^2 + 2.6901AB + 44.5695B^2 - 3.6701AC - 2.7415BC - 29.3021C^2$$

$$Y_{NPYR} = 4.4954 + 0.6611A + 0.9751B + 0.2291C - 0.1031A^2 - 0.0429AB + 1.6849B^2 - 0.2615AC + 1.10981BC - 1.4844C^2$$

$$Y_{NPIP} = 3.0094 + 1.6681A - 0.5661B + 1.1459C - 0.1808A^2 - 0.9702AB + 0.3990B^2 + 1.5044AC - 0.7717BC - 0.1923C^2$$

$$Y_{NDBA} = 7.6839 + 2.3551A + 0.4779B + 1.2358C + 2.4596A^2 - 0.0396AB - 1.4854B^2 + 1.9660AC + 1.9768BC + 1.1040C^2$$

$$Y_{NDPhA} = 0.0575 - 0.5419A + 0.7351B + 0.4923C + 0.1830A^2 - 0.8125AB + 0.4335B^2 - 0.9765AC + 0.8022BC + 0.4064C^2$$

biçiminde eşitlikler açıklanmıştır. Tablo 4.2.15'te varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Kanserojenik etkilerinden dolayı uçucu *N*-nitrozaminlerin gıdalarda bulunma limitleri ile alakalı bazı ülkeler yasal düzenlemeler belirlemişlerdir. Amerika Birleşik Devletleri ve Kanada maksimum VNA seviyesini 10 ppb olarak belirlemişken; Rusya ve Estonya gibi Doğu Avrupa ülkeleri, taze ve tütülenmiş gıdalarda 2-4 ppb arasında değişen daha katı sınırlar koymuştur (167).

Belirli koşullar altında, çeşitli antioksidanların (sodyum askorbat, askorbil palmitat, sistein, glutatyon, hidrokinon, α - tokoferol ve tersiyer bütihidrokinon), işlenmiş et ürünlerinde *N*-nitrozamin oluşumunu azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca, baharat ön karışımlarına nitrit eklenmesi, biberden NPIP ve kırmızı biberden NPYR oluşumuyla sonuçlandığı rapor edilmiştir (168).

Tablo 4.2.15. N-nitrozamin miktarları üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	NDMA		NMEA		NDEA		NDPA		NMOR	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Model	9	1178.7808	0.5784	40.43815	0.4868	40.9274	1.7111	18622.840	3.0939	10932.467	0.8326
A (Sodyum nitrit)	1	235.3141	1.0392	14.2813	1.5472	8.9028	3.3498	1888.2219	2.8232	62.7262	0.0430
B (α - tokoferol)	1	64.8313	0.2863	0.0240	0.0026	0.0103	0.0039	1731.1202	2.5884	2938.4175	2.0140
C (Potasyum sorbat)	1	15.1932	0.0671	0.5567	0.0603	21.5838	8.1213	2053.2505	3.0700	60.0074	0.0411
A ²	1	7.5898	0.0335	0.1372	0.0149	0.0415	0.0156	286.5030	0.4284	2164.3420	1.4834
AB	1	517.1141	2.2838	7.4586	0.8081	4.8839	1.8376	3472.2047	5.1916	57.8939	0.0397
B ²	1	19.3676	0.0855	8.8785	0.9619	0.1560	0.0587	234.6618	0.3509	5236.9735	3.5894
AC	1	48.7481	0.2153	0.6646	0.0720	4.7627	1.7920	4016.6297	6.0056	107.7571	0.0739
BC	1	61.2340	0.2704	5.3308	0.5775	0.0326	0.0123	3504.0848	5.2393	60.1261	0.0412
C ²	1	228.9398	1.0111	6.9629	0.7544	0.7346	0.2764	193.8616	0.2899	2263.6127	1.5515
Uyum Eksikliği	5	1310.5807	5.4617	52.7086	3.9440	11.2907	0.4851	4008.4479	181.1872	8744.1313	177.506
Genel	15	2537.3535	0.7791	95.8196	0.8406	56.8736	0.2642	22635.713	0.0913	19686.4510	0.6139

***: P<0.05 **:P<0.01** (NDMA: Nitrozodimetilamin; NMEA: Nitrozometiletilamin; NDEA: Nitrozodietilamin; NDPA: Nitrozodipropilamin; NMOR: Nitrozomorfolin).

Tablo 4.2.15. N-nitrozamin miktarları üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları (Devamı)

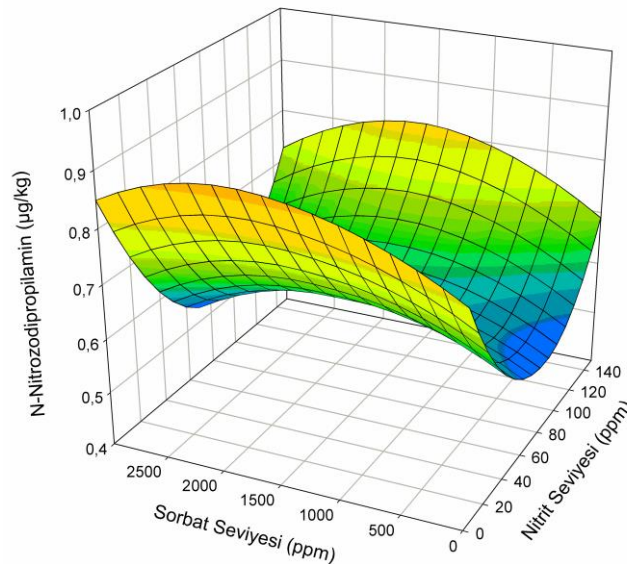
Varyans Kaynağı	SD	NPYR		NPIP		NDBA		NDPhA	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Model	9	34.9405	0.4640	75.0218	0.7921	161.7233	0.2993	31.4237	2.3117
A (Sodyum nitrit)	1	4.3706	0.5224	27.8266	2.6441	55.4631	0.9239	2.9361	1.9439
B (α - tokoferol)	1	9.5075	1.1363	3.2043	0.3045	2.2834	0.0380	5.4042	3.5780
C (Potasyum sorbat)	1	0.5249	0.0627	13.1300	1.2476	15.2715	0.2544	2.4233	1.6044
A ²	1	0.0280	0.0033	0.0862	0.0082	15.9487	0.2657	0.0882	0.0584
AB	1	0.0147	0.0018	7.5306	0.7156	0.0126	0.0002	5.2806	3.4962
B ²	1	7.4840	0.8945	0.4196	0.0399	5.8166	0.0969	0.4953	0.3279
AC	1	0.5471	0.0654	18.1068	1.7205	30.9221	0.5151	7.6285	5.0508
BC	1	9.8535	1.1777	4.7646	0.4527	31.2631	0.5208	5.1476	3.4082
C ²	1	5.8092	0.6943	0.0975	0.0093	3.2132	0.0535	0.4353	0.2882
Uyum Eksikliği	5	49.2736	10.6279	33.7275	0.2293	25.2899	2.6484	9.0621	13932.9
Genel	15	85.1414	0.8555	138.1658	0.6387	521.8956	0.9487	40.4859	0.1600

***: P<0.05 **:P<0.01** (NPYR: Nitrozopirolidin; NPIP: Nitrozopiperidin; NDBA: Nitrozodibütilamin; NDPhA: Nitrozodifenilamin).

Tablo 4.2.15'te görüldüğü üzere, fermente sucuktaki NDEA oluşumu üzerinde potasyum sorbatın lineer etkisinin ve NDPA oluşumu üzerinde ise sodyum nitrit ile potasyum sorbatın interaksiyon etkisinin istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) olduğu tespit edilmiştir. Nitritin orta seviyelerde ve sorbatın yüksek konsantrasyonlarda kullanımı NDPA'nın azalmasına sebep olmuştur (Şekil 4.2.4). Diğer *N*-nitrozamin bileşiklerinin (NDMA, NMEA, NMOR, NPYR, NPIP, NDBA ve NDPhA) miktarları üzerinde faktörlerin etkilerinin istatistiksel olarak önemli olmadığı ($P>0.05$) saptanmıştır.

Fermantasyonun son gününe ait 2 boyutlu grafiklere bakıldığında, istatistiksel olarak önemli olmamasına ($P>0.05$) rağmen sodyum nitritin NA bileşiklerinin oluşumunu artırdığı görülmektedir (EK 22). Birkaç çalışma, eklenen nitrit miktarı ile oluşan *N*-nitrozamin miktarı arasında doğrusal olmasa da pozitif bir korelasyon olduğunu göstermiştir (16,109,169).

Wang vd. (2015) yaptıkları bir çalışmada bitkisel polifenoller (yeşilçay polifenolü ve üzüm çekirdeği ekstraktı) ve α -tokoferolün kalıntı nitrit, *N*-nitrozamin ve biyojen amin oluşumları üzerindeki etkilerini ve birbirleriyle olan ilişkilerini araştırmışlardır. Domuz pastırmalarına (bacon) ilave edilen bu faktörlerin kontrol örneklerine kıyasla kalıntı nitrit miktarını önemli düzeyde düşürdüğünü rapor etmişlerdir. NDMA oluşumu kontrol örneklerinden sonra en yüksek α -tokoferol ilave edilen örneklerde, en düşük yeşilçay polifenol ilavesinin yapıldığı örneklerde belirlenmiştir (20).



Şekil 4.2.4. *N*-nitrozodipropilamin üzerine sodyum nitrit ve potasyum sorbatın etkisi

Fermente sucuğun fermantasyonun son gününde oluşan *N*-nitrozamin bileşikleri arasındaki ilişkiye bakıldığında; birçok pozitif korelasyonlar olduğu görülmektedir (EK 14). NPIP'in NDMA ile (0.682) ve NMEA ile (0.750) aralarındaki pozitif korelasyonun çok önemli ($P<0.01$) olduğu, NPIP ile NDEA arasındaki pozitif korelasyonun (0.518) istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) olduğu belirlenmiştir. NMOR ile NPYR arasındaki ilişkinin çok önemli (0.647, $P<0.01$), NMOR ile NMEA arasındaki ilişkinin önemli (0.524, $P<0.05$) olduğu tespit edilmiştir. NDMA ile NMEA arasında çok önemli (0.720, $P<0.01$), NDMA ile NDBA arasında önemli (0.504, $P<0.05$) düzeyde pozitif korelasyon olduğu saptanmıştır. NDEA ile NDBA arasında ise pozitif korelasyonun (0.542) istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) olduğu tespit edilmiştir.

Fermantasyonun son gününde sucuk örneklerinin belirlenen iyon miktarları (NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^-), biyojen amin ve *N*-nitrozamin bileşikleri arasındaki korelasyona bakıldığında; NH_4^+ ile SPM arasında önemli düzeyde ($P<0.05$) pozitif korelasyon (0.527) olduğu tespit edilmiştir. NO_2^- iyonu ile NDEA arasında, NO_2^- ile NDBA arasında çok önemli (sırasıyla, 0.711 ve 0.627; $P<0.01$) ve NO_2^- ile NMEA arasında önemli düzeyde (0.528, $P<0.05$) pozitif korelasyon olduğu saptanmıştır. NO_3^- iyonu ile NDEA arasında çok önemli (0.638, $P<0.01$) ve NO_3^- ile NPIP arasında önemli (0.524, $P<0.05$) pozitif korelasyonların olduğu belirlenmiştir.

Biyojen amin ile *N*-nitrozamin bileşikleri arasında negatif korelasyonların olduğu tespit edilmiştir. SPM oluşumunun NDMA ve NDBA arasında önemli düzeyde ($P<0.05$) negatif korelasyonlar (sırasıyla; -0.538, -0.570) olduğu saptanmıştır. TyR ile NMOR arasında (-0.618) ve TyR ile NDPhA arasında (-0.538) önemli düzeyde ($P<0.05$) ilişki olduğu belirlenmiştir. Son olarak, PUT ile NPIP arasındaki negatif korelasyon (-0.503) istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) bulunmuştur.

Wang vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada, NDMA ile nitrit arasında negatif korelasyon olduğu ve temel bileşen analizine göre PUT, CAD, HIS, TyR ve SPM ile NDMA arasında pozitif ilişkilerin olduğunu rapor etmişlerdir (20).

4.2.15 Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Fermantasyonun son gününde fermente sucuğun mikrobiyolojik analiz sonuçları (TAMB, LAB, Mikrokok/Stafilokok, Enterobakter, maya-küf) üzerinde faktörlerin etkisini ifade eden polinomiyal denklemlere göre;

$$Y_{TAMB} = 6.5294 - 0.0235A - 0.0576B - 0.1010C + 0.0269A^2 - 0.0151AB + 0.0121B^2 + 0.0534AC + 0.0330BC + 0.0310C^2$$

$$Y_{LAB} = 8.6888 - 0.0304A - 0.0640B - 0.0671C - 0.0346A^2 + 0.07412AB - 0.2077B^2 + 0.0724AC - 0.0396BC + 0.0574C^2$$

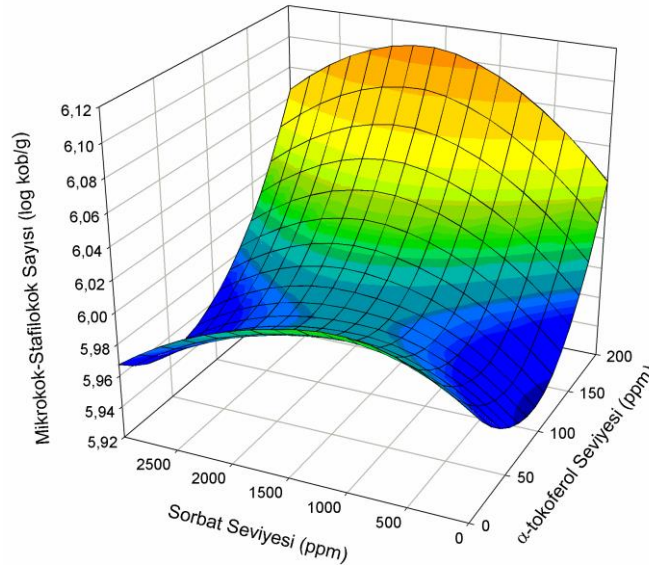
$$Y_{Mic/Staph} = 6.0168 + 0.0660A + 0.0376B + 0.0025C - 0.0921A^2 + 0.0132AB + 0.0919B^2 - 0.0282AC + 0.0636BC - 0.0156C^2$$

$$Y_{Enterobakter} = 1.93278 - 0.2999A + 0.6225B - 0.2115C + 1.36780A^2 + 0.51178AB + 0.1159B^2 - 0.1711AC + 0.4319BC - 0.7323C^2$$

$$Y_{Maya-Küf} = 0.7358 - 0.2355A + 0.4977B - 1.9631C - 0.6337A^2 - 0.2973AB + 0.5725B^2 - 0.2813AC + 0.2552BC + 1.7369C^2$$

biçiminde eşitlikler açıklanmıştır. Tablo 4.2.16’da varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.2.16’da görüldüğü üzere, sucuğun TAMB sayısı üzerinde potasyum sorbatın lineer etkisinin, LAB sayısı üzerinde α -tokoferolün kuadratik etkisinin istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) olduğu tespit edilmiştir. Mikrokok/Stafilokok sayısı üzerinde sodyum nitritin lineer, α -tokoferol ile potasyum sorbatın interaksiyon etkilerinin istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) olduğu saptanmıştır (Şekil 4.2.5). Enterobakter sayısı üzerinde α -tokoferolün lineer etkisi ve sodyum nitritin kuadratik etkisinin istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) olduğu tespit edilmiştir. Sucuklardaki maya-küf sayıları üzerinde potasyum sorbatın lineer etkisinin istatistiksel olarak çok önemli ($P<0.01$), kuadratik etkisinin ise önemli ($P<0.05$) olduğu saptanmıştır.



Şekil 4.2.5. Mikrokok/Stafilokok sayısı üzerine α -tokoferol ve potasyum sorbatın etkisi

LAB ve *Micrococcus-Staphylococcus*, sucuğun olgunlaşma döneminde arzu edilen özelliklerinin geliştirilmesinde önemli rol oynamaktadır. Ancak; olgunlaşma döneminden

sonra, depolama sırasında sucuk güvenliğini ve raf ömrünü etkileyebilecekleri için yüksek sayıda mikroorganizmalardan kaçınılmaktadır (170).

Potasyum sorbat ilave edilerek üretilen sucuk örneklerinde ilave edilmeyen örneklerle kıyasla daha düşük maya-küf sayıları tespit edilmiştir (EK 12). Birçok maya türü %0.01-0.2 oranında sorbat ile inhibe edilebilmektedir. Sorbat, küflerin gelişme döngüsünün tüm aşamalarını; spor çimlenmesi, aşırı gelişme ve misel artışı etkilemektedir (171).

Vakum ambalajlı inci kefalı filetolarının raf ömrü üzerinde potasyum sorbatın etkisinin belirlendiği bir çalışmada, örnekler farklı konsantrasyonlarda potasyum sorbat çözeltilerine (0, %1, %3 ve %5) daldırılmıştır. Potasyum sorbatın, filetoların TAMB, psikrotrofik bakteriler, *Enterobacteriaceae*, küf-maya sayıları, toplam uçucu bazik azot değerleri, PhA, PUT ve TRP içerikleri ve pH değeri üzerinde önemli derecede etkileri olduğu belirlenmiştir. Potasyum sorbatın artan konsantrasyonunun sadece antifungal etki değil, aynı zamanda antibakteriyel etki gösterdiği de ifade edilmiştir (172).

Bu çalışmada artan nitrit seviyeleri TAMB sayısını azaltmıştır. Sucukta TAMB sayılarının nitrit seviyesine bağlı olarak azalma gösterdiği çeşitli çalışmalarda da tespit edilmiştir (90,170,173).

Tablo 4.2.16. Mikrobiyolojik analiz sonuçları üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	TAMB		LAB		Mik/Staph		Enterobakter		Maya-Küf	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Model	9	0.1863	2.0760	0.3488	2.6131	0.1327	3.3401	14.8745	3.0915	55.8380	8.5637
A (Sodyum nitrit)	1	0.0055	0.5534	0.0093	0.6237	0.0436	9.8674 *	0.8993	1.6821	0.5547	0.7657
B (α -tokoferol)	1	0.0331	3.3252	0.0409	2.7587	0.0142	3.2091	3.8756	7.2494 *	2.4767	3.4186
C(Potasyum sorbat)	1	0.1021	10.2365 *	0.0450	3.0350	0.0001	0.0139	0.4474	0.8369	38.5389	53.1953 **
A ²	1	0.0019	0.1914	0.0032	0.2124	0.0224	5.0647	4.9334	9.2282 *	1.0587	1.4614
AB	1	0.0018	0.1835	0.0440	2.9693	0.0014	0.3156	2.0952	3.9192	0.7072	0.9762
B ²	1	0.0004	0.0385	0.1138	7.6703 *	0.0223	5.0406	0.0354	0.0662	0.8640	1.1926
AC	1	0.0228	2.2877	0.0419	2.8276	0.0064	1.4416	0.2342	0.4380	0.6331	0.8739
BC	1	0.0087	0.8714	0.0126	0.8458	0.0324	7.3382 *	1.4925	2.7917	0.5210	0.7191
C ²	1	0.0025	0.2540	0.0087	0.5858	0.0006	0.1449	1.4139	2.6447	7.9536	10.9784 *
Uyum Eksikliği	5	0.0570	4.0282	0.0859	5.5245	0.0259	8.7515	3.1402	9.3083	2.5800	0.2920
Genel	15	0.2461	0.1932	0.4378	0.1274	0.1592	0.0779	18.0821	0.0914	60.1849	0.0083

*: P<0.05 **:P<0.01 (TAMB: Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri; LAB: Laktik Asit Bakterisi).

4.3 Depolamanın Son Gününe ait Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Analiz Bulguları

Depolamanın son gününe (90. gün) ait istatistik analiz sonuçları tablolar halinde yer almaktadır.

4.3.1 pH Değeri

Depolamanın son gününde fermente sucuğun pH değeri üzerine faktörlerin etkisini ifade eden polinomiyal denkleme göre;

$$Y_{pH} = 4.9547 + 0.0913A + 0.0383B - 0.5349C - 0.0164A^2 - 0.0990AB - 0.0364B^2 - 0.0435AC - 0.0505BC + 0.6369C^2$$

biçiminde eşitlik açıklanmıştır. Tablo 4.3.1’de varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.3.1. pH değeri üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	K.O.	F	
Model	9	4.4848	48.8619	
A (Sodyum nitrit)	1	0.0833	8.1646	*
B (α - tokoferol)	1	0.0146	1.4346	
C (Potasyum sorbat)	1	2.8612	280.5540	**
A ²	1	0.0007	0.0691	
AB	1	0.0784	7.6883	*
B ²	1	0.0035	0.3415	
AC	1	0.0151	1.4844	
BC	1	0.0204	2.0005	
C ²	1	1.0694	104.8639	**
Uyum Eksikliği	5	0.0610	79.7216	
Genel	15	4.5460	<.0001	

*: P<0.05 **:P<0.01

Tablo 4.3.1’de görüldüğü üzere, sucukların pH değeri üzerinde sodyum nitritin lineer etkisinin ve sodyum nitrit ile α - tokoferolün interaksiyon etkisinin istatistiksel olarak önemli (P<0.05) olduğu, potasyum sorbatın hem lineer hem kuadratik etkisinin istatistiksel olarak çok anlamlı (P<0.01) olduğu saptanmıştır.

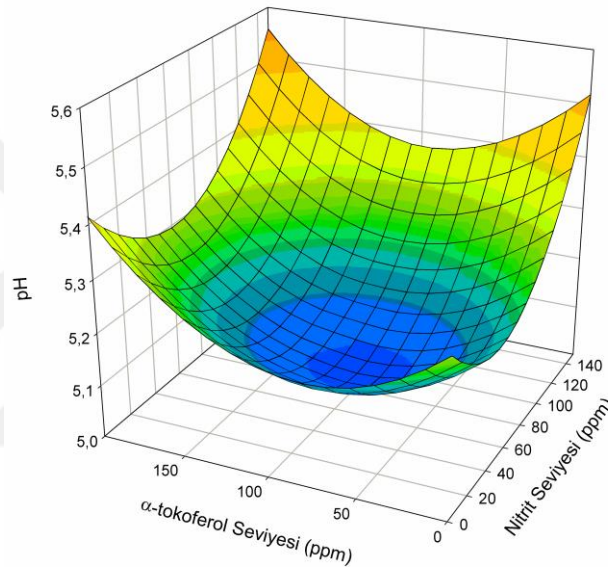
Potasyum sorbat seviyeleri, mikrobiyel gelişim, oksidasyon veya gıda bileşenleri ile reaksiyonlar nedeniyle depolama sırasında düşebilmektedir. Stabilitesi, ürün tipine göre değişir ve büyük ölçüde gıda bileşimine (pH, organik asitler, diğer katkı maddeleri, su aktivitesi, nemlendiriciler, mikrobiyel yük vb.) ve ayrıca depolama sıcaklığı ve ambalajlamaya bağlıdır (171).

Depolamanın son gününde örneklerin pH değerleri 4.90-6.25 (ortalama 5.32) arasında değişim göstermektedir (EK 5). Yüksek kalitede sucuklar için, pH değeri Gökalp vd.

(2010)'ne göre 5.1- 5.2, TSE'ye göre 5.4-5.8 değerinde olmalı ve Türk Gıda Kodeksi'ne (2013) göre pH değeri maksimum 5.4 olmalıdır (3,40,175).

Bozkurt (2002) α -tokoferol, askorbik asit, potasyum sorbat, potasyum pirofosfat ve dipotasyum hidrojen fosfatın sucuk kalitesine etkilerini olgunlaşma ve depolama dönemlerinde araştırmıştır. Bu katkı maddelerinin pH değeri üzerinde nitrit ve nitrat ilavesine göre daha fazla etkisi ($P<0.05$) olduğunu bildirmişlerdir (176).

Fermantasyon işleminin sonunda pH değerindeki düşüş proteinlerin denatürasyonuna neden olmakta ve depolama esnasında pH değerinin artmasına sebep olabilmektedir (177).



Şekil 4.3.1. pH değeri üzerine sodyum nitrit ve α -tokoferolün etkisi

4.3.2 Nem Oranı

Depolamanın son gününde fermente sucuğun nem oranı üzerine faktörlerin etkisini ifade eden polinomiyal denkleme göre;

$$Y_{nem} = 38.8163 - 0.2974A + 0.5603B + 1.3834C + 0.2520A^2 - 0.5028AB - 0.0657B^2 + 0.8937AC - 0.1196BC - 0.2102C^2$$

biçiminde eşitlik açıklanmıştır. Tablo 4.3.2'de varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.3.2'de görüldüğü üzere, sucukların nem oranları üzerinde potasyum sorbatın lineer etkisinin istatistiksel olarak çok önemli ($P<0.01$) olduğu, diğer faktörlerin etkisinin sucukların nem değeri üzerinde istatistiksel olarak önemli olmadığı ($P>0.05$) tespit edilmiştir.

Tablo 4.3.2. Nem oranı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	K.O.	F
Model	9	31.9125	3.2205
A (Sodyum nitrit)	1	0.8845	0.8033
B (α -tokoferol)	1	3.1395	2.8514
C (Potasyum sorbat)	1	19.1378	17.3817 **
A ²	1	0.1674	0.1520
AB	1	2.0224	1.8369
B ²	1	0.0114	0.0103
AC	1	6.3889	5.8026
BC	1	0.1144	0.1039
C ²	1	0.1164	0.1057
Uyum Eksikliği	5	5.90878	1.6945
Genel	15	38.5187	0.0841

*: P<0.05 **:P<0.01

Depolamanın son gününde sucuk örneklerine ait nem oranları %36.04-41.07 (ortalama %38.80) arasında değişim göstermektedir (EK 5). Türk Gıda Kodeksi Et Ürünleri Tebliği (40)'ne göre tüketime hazır sucuklarda nem oranı en fazla %40 olarak sınırlandırılmıştır. Çalışmada bazı örneklerin nem miktarlarının tebliğde belirtilen sınırı kısmen geçmiş olmasına rağmen çoğu sucuk örneğinin tebliğe uygun olduğu görülmüştür.

Kurt (2006) sucuk gibi fermente et ürünlerinde nem içeriğinde görülen azalmanın, pH ile proteinlerin su tutma kapasitesi arasındaki ilişkiden kaynaklanmış olabileceğini bildirmiştir (1).

Sucuk üretim aşamalarında laktik asit bakterilerinin çalışmasına bağlı olarak pH'nın 5.3'ün altına düşmesiyle birlikte kas proteinlerinde kısmi denatürasyon görülmekte ve pH'nın izoelektrik noktaya yaklaşmasına bağlı olarak proteinlerin su tutma kapasitesi düşmekte ve sucuklarda kuruma gerçekleşmektedir (3,178).

4.3.3 Yağ Oranı

Depolamanın son gününde fermente sucuğun yağ oranı üzerine faktörlerin etkisini ifade eden polinomiyal denkleme göre;

$$Y_{yağ} = 29.4390 - 2.7047A - 1.5108B - 1.1837C - 0.3423A^2 + 0.0081AB + 1.5249B^2 + 0.0244AC - 0.0063BC - 0.1086C^2$$

biçiminde eşitlik açıklanmıştır. Tablo 4.3.3'te varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.3.3'te görüldüğü üzere, her faktörün yağ oranını belli oranda düşürdüğü ancak potasyum sorbatın etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı (P>0.05) tespit edilmiştir (EK 5). Sodyum nitritin lineer etkisinin istatistiksel olarak çok önemli (P<0.01) ve α -tokoferolün lineer etkisinin istatistiksel olarak önemli (P<0.05) olduğu saptanmıştır.

Tablo 4.3.3. Yağ oranı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	K.O.	F	
Model	9	116.9220	5.4735	
A (Sodyum nitrit)	1	73.1541	30.8210	**
B (α-tokoferol)	1	22.8246	9.6164	*
C (Potasyum sorbat)	1	14.0106	5.9029	
A ²	1	0.3090	0.1302	
AB	1	0.0005	0.0002	
B ²	1	6.1303	2.5828	
AC	1	0.0048	0.0020	
BC	1	0.0003	0.0001	
C ²	1	0.0311	0.0131	
Uyum Eksikliği	5	14.0616	15.6682	
Genel	15	131.1631	0.0256	

*: P<0.05 **:P<0.01

Depolamanın son gününde sucuk örneklerine ait yağ oranları %26.36-34.66 (ortalama %30.11) arasında değişim göstermektedir (EK 5). Depolama sonunda tüm örneklerin % yağ içerikleri Türk Gıda Kodeksi Et Ürünleri Tebliği (174)'ne ve sucuk standardı TSE 1070'nin (40) belirlediği %40 yağ sınırının altındadır.

4.3.4 Protein Oranı

Depolamanın son gününde fermente sucuğun protein oranı üzerine faktörlerin etkisini ifade eden polinomiyal denkleme göre;

$$Y_{protein} = 24.0069 + 0.2853A - 0.6386B - 1.3280C + 0.2404A^2 + 0.1479AB + 1.0840B^2 - 1.0055AC + 0.2560BC - 0.2546C^2$$

biçiminde eşitlik açıklanmıştır. Tablo 4.3.4'te varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.3.4'te görüldüğü üzere, sucukların protein oranı üzerinde sadece potasyum sorbatın lineer etkisinin istatistiksel olarak önemli (P<0.05) olduğu, diğer faktörlerin ve kombinasyonlarının etkilerinin istatistiksel olarak önemli olmadığı (P>0.05) tespit edilmiştir.

Depolamanın son gününde sucuk örneklerine ait protein oranları %22.28-28.53 (ortalama %24.68) arasında değişim göstermektedir (EK 5).

Kurt (2006) fermantasyon işleminden önce sucuk hamurunun protein oranının %18.64, fermantasyon ve olgunlaşma sonunda ise bu oranın %27.07'ye ulaştığını rapor etmiştir. Bu durum proteinin kuru madde oranının artışından dolayı kaynaklanmış olabileceği şeklinde açıklanmıştır (1).

Tablo 4.3.4. Protein oranı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	K.O.	F
Model	9	35.9144	2.5728
A (Sodyum nitrit)	1	0.8141	0.5249
B (α -tokoferol)	1	4.0781	2.6292
C (Potasyum sorbat)	1	17.6367	11.3708 *
A ²	1	0.1524	0.0982
AB	1	0.1750	0.1128
B ²	1	3.0976	1.9971
AC	1	8.0883	5.2147
BC	1	0.5245	0.3382
C ²	1	0.1709	0.1102
Uyum Eksikliği	5	9.1048	9.0353
Genel	15	45.2207	0.1313

*: P<0.05 **:P<0.01

4.3.5 Proteoliz Oranı

Depolamanın son gününde fermente sucuğun proteoliz oranı üzerine faktörlerin etkisini ifade eden polinomiyal denkleme göre;

$$Y_{\text{proteoliz}} = 62.5326 + 13.8462A + 2.2491B + 8.1766C - 16.7355A^2 - 6.1112AB + 8.1705B^2 - 6.0757AC - 5.8146BC - 14.6031C^2$$

biçiminde eşitlik açıklanmıştır. Tablo 4.3.5’de varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.3.5. Proteoliz oranı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	K.O.	F
Model	9	5560.4070	0.5211
A (Sodyum nitrit)	1	1917.1594	1.6169
B (α -tokoferol)	1	50.5823	0.0427
C (Potasyum sorbat)	1	668.5656	0.5639
A ²	1	738.3817	0.6227
AB	1	298.8197	0.2520
B ²	1	176.0021	0.1484
AC	1	295.3081	0.2491
BC	1	270.4772	0.2281
C ²	1	562.2094	0.4742
Uyum Eksikliği	5	5479.4619	0.6704
Genel	15	12674.554	0.8178

*: P<0.05 **:P<0.01

Tablo 4.3.5’de görüldüğü üzere, sucukların proteoliz oranları üzerinde faktörlerin istatistiksel olarak etkisinin önemsiz (P>0.05) olduğu saptanmıştır. Depolamanın son gününde sucuk örneklerine ait protein tabiatında olmayan azot oranları %15.48-91.46 (ortalama %48.05) arasında değişim göstermektedir (EK 5).

Fermente et ürünlerin olgunlaştırılması sırasında proteolitik aktivitenin bir sonucu olarak NPN miktarının arttığı tespit edilmiştir (58). Diaz vd. (1997), 3 ticari proteaz (*Streptomyces griseus*'tan elde edilen pronaz E, *Aspergillus oryzae*'den elde edilen aspartil proteinaz ve papain) ilave ederek ürettikleri kuru fermente sosislerde proteoliz ile yüksek molekül ağırlıklı miyofibriler ve sarkoplazmik proteinlerin etkilendiğini; özellikle fermentasyon süresince bütün azot fraksiyonlarında (suda çözünür azot, protein yapısında olmayan azot NPN, fosfofungustik asitte çözünür azot, sülfosalisilikasitte çözünür azot ve toplam uçucu azot) artış olduğunu ortaya koymuşlardır (49).

4.3.6 Lipoliz Oranı

Depolamanın son gününde fermente sucuğun lipoliz değeri üzerine faktörlerin etkisini ifade eden polinomiyal denkleme göre;

$$Y_{lipoliz} = 1.7941 + 0.1313A + 0.0384B + 0.32367C - 0.0362A^2 - 0.0196AB - 0.0605B^2 - 0.0021AC + 0.0503BC + 0.0657C^2$$

biçiminde eşitlik açıklanmıştır. Tablo 4.3.6'da varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.3.6. Lipoliz oranı üzerinde faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	KO	F
Model	9	1.2781	1.1231
A (Sodyum nitrit)	1	0.1723	1.3622
B (α -tokoferol)	1	0.0148	0.1168
C (Potasyum sorbat)	1	1.0475	8.2837
A ²	1	0.0035	0.0273
AB	1	0.0031	0.0242
B ²	1	0.0097	0.0764
AC	1	0.0001	0.0003
BC	1	0.0202	0.1601
C ²	1	0.0114	0.0901
Uyum Eksikliği	5	0.4387	0.2742
Genel	15	2.0368	0.4604

*: P<0.05 **:P<0.01

Tablo 4.3.6'da görüldüğü üzere, sucukların lipoliz değerleri üzerinde tüm faktörler bir artışa sebep olsa da bu farkın etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı (P>0.05) tespit edilmiştir (EK 5).

Depolamanın son gününde sucuk örneklerine ait serbest yağ asitliği oranları %1.18-2.44 (ortalama %1.77) arasında değişim göstermektedir (EK 5).

Gök (2006) yaptığı çalışmada doğal antioksidanlar olan biberiye, biberiye ekstraktı ve α -tokoferolün Türk sucuklarının bazı kalite özellikleri üzerine etkilerini incelemiştir. Sucukların serbest yağ asidi değerleri olgunlaştırma ve depolama boyunca artmış ve en düşük değer 3.94

mg KOH/g yağ ile 500 ppm biberiye ekstraktı ile 500 ppm α - tokoferol karışımı ile üretilen örnekte olduğunu rapor etmişlerdir (179).

Lipolizin artışı üzerinde endojen et enzimleri ve bakteri enzimlerinin etkili olduğu ifade edilebilir. Fermantasyon sırasında lipazlar trigliseridleri, fosfolipazlar da fosfolipitleri parçalayarak yağ asitlerinin serbest hale geçmesine neden olmaktadır (178).

4.3.7 Peroksit Değeri

Depolamanın son gününde fermente sucuğun peroksit değeri üzerine faktörlerin etkisini ifade eden polinomiyal denkleme göre;

$$Y_{\text{peroksit}} = 0.7841 - 0.0440A - 0.0383B - 0.0271C - 0.1165A^2 - 0.0217AB + 0.0123B^2 - 0.0058AC + 0.0244BC + 0.0121C^2$$

biçiminde eşitlik açıklanmıştır. Tablo 4.3.7’de varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.3.7. Peroksit değeri üzerinde faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	K.O.	F
Model	9	0.0927	1.2220
A (Sodyum nitrit)	1	0.0194	2.2965
B (α -tokoferol)	1	0.0147	1.7401
C (Potasyum sorbat)	1	0.0073	0.8697
A ²	1	0.0358	4.2434
AB	1	0.0038	0.4452
B ²	1	0.0004	0.0470
AC	1	0.0003	0.0322
BC	1	0.0048	0.5640
C ²	1	0.0004	0.0459
Uyum Eksikliği	5	0.0474	2.9655
Genel	15	0.1433	0.4177

*: P<0.05 **:P<0.01

Tablo 4.3.7’de görüldüğü üzere, sucukların peroksit değerleri üzerinde faktörlerin etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı (P>0.05) saptanmıştır.

Depolamanın son gününde sucuk örneklerine ait peroksit değerleri 0.59-0.89 (ortalama 0.73) meq O₂/kg yağ arasında değişim göstermektedir (EK 5). Benedict vd. (1975) α -tokoferol, askorbik asit, 1-askorbil stearat, sitrik asit ve sodyum bikarbonat içeren etleri 10 gün boyunca depolamışlardır. Depolama sonunda α -tokoferol içeren etlerin en yüksek antioksidan aktivitesine sahip olduğu saptanmıştır (180).

Wada ve Fang (1992) yaptıkları model sistemde, sardulya yağına ayrı ayrı %0.05 α -tokoferol ve %0.02 biberiye ilavesi ve ikili karışım ilave edilmesinin, karışımın antioksidanlar arasında en güçlü antioksidatif etkiye sahip olduğunu saptamışlardır. Ayrıca, araştırmacılar

%0.05 oranında α -tokoferol kullanımının peroksit oluşumunu engellediğini tespit etmişlerdir (181).

4.3.8 TBA Sayısı

Depolamanın son gününde fermente sucuğun TBA sayısı üzerine faktörlerin etkisini ifade eden polinomiyal denkleme göre;

$$Y_{TBA} = 1.6670 - 0.1303A - 0.0550B + 0.0459C + 0.1965A^2 - 0.0012AB - 0.1916B^2 - 0.0222AC + 0.0100BC + 0.1078C^2$$

biçiminde eşitlik açıklanmıştır. Tablo 4.3.8’de varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.3.8. TBA sayısı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	K.O.	F
Model	9	0.4281	1.4497
A (Sodyum nitrit)	1	0.1697	5.1714
B (α -tokoferol)	1	0.0302	0.9216
C (Potasyum sorbat)	1	0.0210	0.6400
A ²	1	0.1018	3.1019
AB	1	0.0001	0.0004
B ²	1	0.0968	2.9488
AC	1	0.0039	0.1200
BC	1	0.0072	0.2192
C ²	1	0.0306	0.9330
Uyum Eksikliği	5	0.1952	22.8099
Genel	15	0.6250	0.3357

*: P<0.05 **:P<0.01

Tablo 4.3.8’de görüldüğü üzere, sucukların TBA sayısı üzerine faktörlerin etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı (P>0.05) tespit edilmiştir.

Depolamanın son gününde sucuk örneklerine ait TBA sayısı değerleri 1.12-2.04 (ortalama 1.74) mg MA/kg sucuk arasında değişim göstermektedir (EK 5). Bozkurt ve Erkmen (2002) sucuklara α -tokoferol ve askorbik asit ilavesinin örneklerin lipit oksidasyonu ve duyusal değerlendirme sonuçları üzerine etkilerini incelemiştir. Örneklerin TBA değerlerinin bu katkı maddelerinin ilave edildiği örneklerde daha az olduğunu saptamıştır (173).

Yapılan çalışmalarda E vitamini düzeyinin artmasıyla lipit peroksidasyonu için gösterge olan TBA değerinin düştüğü belirtilmiştir. Faustman vd. (1989) sığır eti örneklerinde lipit oksidasyonu üzerinde α -tokoferolün etkisini incelemişler ve α -tokoferolün TBA değerini 1.75 mg/kg’dan 1.5 mg/kg’a düşürdüğünü belirtmişlerdir (182).

Al-Shuibi ve Al-Abdullah (2002) kürlenmiş et ürünü Mortadella üzerinde yaptıkları bir çalışmada potasyum sorbatın etkisini araştırmak istemişlerdir. Yalnızca sodyum nitrit (120

ppm), yalnızca potasyum sorbat (1000-2600 ppm) ve farklı konsantrasyonlarda sodyum nitrit:potasyum sorbat kombinasyonu ile Mortadella üretimi gerçekleştirmişlerdir. Buzdolabı koşullarında (+4°C) 14 haftalık depolama sonunda en düşük TBA değerinin sodyum nitrit:potasyum sorbat (80:2600 ppm) kombinasyonunda olduğunu rapor etmişlerdir (29).

4.3.9 Nitrozomiyoglobin Oranı

Depolamanın son gününde fermente sucuğun NOMb miktarı üzerine faktörlerin etkisini ifade eden polinomiyal denkleme göre;

$$Y_{NOMb} = 13.0970 + 1.9954A - 0.7929B + 0.1552C - 1.5643A^2 - 0.2971AB - 0.5647B^2 + 0.3072AC + 0.4856BC - 2.8706C^2$$

biçiminde eşitlik açıklanmıştır. Tablo 4.3.9’da varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.3.9. NOMb miktarı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	K.O.	F
Model	9	115.4481	3.4351
A (Sodyum nitrit)	1	39.8173	10.6628 *
B (α -tokoferol)	1	6.2867	1.6835
C (Potasyum sorbat)	1	0.2410	0.0645
A ²	1	6.4510	1.7275
AB	1	0.7062	0.1891
B ²	1	0.8407	0.2251
AC	1	0.7547	0.2021
BC	1	1.8866	0.5052
C ²	1	21.7250	5.8178
Uyum Eksikliği	5	22.3920	333.0379
Genel	15	137.8536	0.0735

*: P<0.05 **:P<0.01

Tablo 4.3.9’da görüldüğü üzere, sucukların NOMb miktarları üzerine sodyum nitritin lineer etkisinin istatistiksel olarak önemli (P<0.05) olduğu saptanmıştır.

Depolamanın son gününde sucuk örneklerine ait NOMb oranları %5.49-12.23 (ortalama %9.97) arasında değişim göstermektedir (EK 5). Elde edilen sonuçların literatür bulgularından düşük çıkmasının sebebinin sucuk üretimi sırasında uygulanan yonteme ve faktörlere bağlı olarak sucukta mevcut olan miyoglobin ve nitrozomiyoglobinin kısmi denatürasyona maruz kalmasından kaynaklanmış olabileceği ve proteoliz reaksiyonlarıyla ilgili olabileceği düşünülmektedir (183).

Fermentasyon başlangıcında sucuk hamuruna ilave edilen nitrit, miyoglobin ile reaksiyona girmekte ve bu arada ortam pH değeri ve redoks potansiyelinin düşmesi ile reaksiyon hızlanmakta ve nitrozomiyoglobin oluşumu artış göstermektedir. pH değerindeki ve redoks potansiyelindeki düşmenin durması ile birlikte reaksiyon yavaşlamaktadır. Bu

aşamadan sonra ortamda bulunan nitrozomiyogloblin, mikrobiyel nitrit redüktaz enzimi ile parçalanarak azalmaktadır (156,184).

4.3.10 Toplam Tokoferol Miktarı

Fermente sucuğun toplam tokoferol miktarı üzerine faktörlerin etkisini ifade eden polinomiyal denkleme göre;

$$Y_{\text{tokoferol}} = 6.8798 - 0.1901A + 0.2865B + 0.0022C + 0.0011A^2 - 0.0005AB - 0.0010B^2 + 0.001AC - 2.1e^{-05}BC - 1.36e^{-06}C^2$$

biçiminde eşitlik açıklanmıştır. Tablo 4.3.10'da varyans analiz sonuçları verilmiştir.

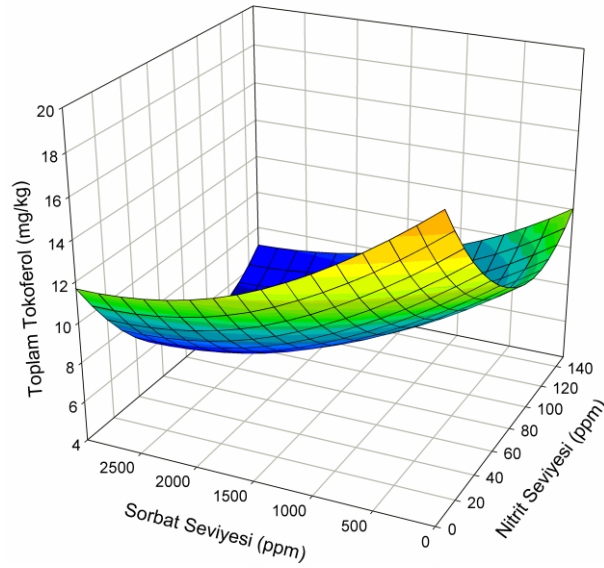
Tablo 4.3.10. Toplam tokoferol miktarı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	K.O.	F	
Model	9	787.5200	7.6200	
A (Sodyum nitrit)	1	20.1300	1.7500	
B (α -tokoferol)	1	58.0000	5.0500	
C (Potasyum sorbat)	1	59.3900	5.1700	
A ²	1	106.3100	9.2600	*
AB	1	97.8800	8.5200	*
B ²	1	251.5000	21.9000	**
AC	1	105.8600	9.2200	*
BC	1	82.2900	7.1700	*
C ²	1	24.8600	2.1700	
Uyum Eksikliği	5	68.8900	6822.3200	
Genel	15	856.4100		

*: P<0.05 **:P<0.01

Tablo 4.3.10'da görüldüğü üzere, sucukların toplam tokoferol miktarları üzerinde sodyum nitrit, α -tokoferol ve potasyum sorbatın birbirleriyle olan interaksiyon etkilerinin istatistiksel olarak önemli (P<0.05) olduğu saptanmıştır. Sodyum nitritin kuadratik etkisinin istatistiksel olarak önemli (P<0.05) olduğu, α -tokoferolün kuadratik etkisinin ise istatistiksel olarak çok önemli (P<0.01) olduğu tespit edilmiştir.

Depolamanın son gününde sucuk örneklerine ait toplam tokoferol miktarı 1.8-24.87 (ortalama 10.93) mg/kg arasında değişim göstermektedir (EK 5). Toplam tokoferol miktarı depolama süresince artan lipid oksidasyonuna bağlı olarak azalmıştır (EK 17).



Şekil 4.3.2. Toplam tokoferol miktarı üzerine sodyum nitrit ve potasyum sorbatın etkisi

4.3.11 İyon Değerleri

Depolamanın son gününde fermente sucuğun NO_3^- iyon değeri üzerinde faktörlerin etkisini ifade eden polinomiyal denkleme göre;

$$Y_{\text{NO}_3^-} = 3.0945 - 1.7499A - 0.1860B + 0.2909C - 1.2334A^2 + 0.1295AB + 1.0074B^2 + 0.0743AC - 0.0408BC - 1.1279C^2$$

biçiminde eşitlik açıklanmıştır. Tablo 4.3.11’de varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.3.11’de görüldüğü üzere, sodyum nitritin lineer etkisinin nitrat iyonu oluşumu üzerinde istatistiksel olarak çok önemli ($P < 0.01$) olduğu tespit edilmiştir. NO_3^- iyonu için sucuk örneklerine ait değerler 0.01-4.31 (ortalama 2.25) mg/kg arasında değişim göstermektedir (EK 5).

Depolamanın son gününde sucuk örneklerine ait NH_4^+ ve NO_2^- iyonlarının miktarları tespit edilebilir limit (LOD) altında, sırasıyla 0.87 ve 0.001 mg/L olarak belirlendiği için istatistiksel analiz yapılmamıştır.

Nitrit kısmen nitrata oksitlenir, belirli bir kısmı indirgenerek diğer tepkimelere katılır, bir bölümü de gaz olarak kaybolur. Sebranek vd. (1973) yaptıkları bir çalışmada bu reaksiyonları oranlarıyla rapor etmişlerdir. Et ürünlerine eklenen nitritin %20-30’unun proteinler ile, özellikle %5-15’inin miyogloblin ile, %5-15’inin sülfidril gruplar ile ve %1-5’inin lipitler ile reaksiyona girdiğini, %1-10’unun nitrata yükseltgendini, %5-20’sinin nitrit olarak kaldığını, %1-5’inin gaz formuna dönüştüğünü bildirmişlerdir (80).

Tablo 4.3.11. Nitrat miktarı üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	K.O.	F
Model	9	42.8282	4.6289
A (Sodyum nitrit)	1	30.6110	29.7844 **
B (α - tokoferol)	1	0.3461	0.3367
C (Potasyum sorbat)	1	0.8462	0.8231
A ²	1	4.0107	3.9013
AB	1	0.1341	0.1304
B ²	1	2.6757	2.6027
AC	1	0.0442	0.0430
BC	1	0.0133	0.0129
C ²	1	3.3540	3.2625
Uyum Eksikliği	5	6.0833	14.3107
Genel	15	48.9965	0.0379

*: P<0.05 **:P<0.01

Depolama sırasında, kalıntı nitrit içeriği, muamelelerden bağımsız olarak azalmıştır. Bu, kas matriksindeki azot bileşiklerinin dinamik dönüşümü ile ilgili de olabilmektedir (11).

Zanardi vd. (2002) 80 ppm nitrit ekledikleri sosis hamurunda kalıntı nitrit miktarını 66 ppm olarak saptamışlar, 40 günlük olgunlaştırma süresi sonunda ise kalıntı nitrit tespit edemediklerini ifade etmişlerdir (185).

4.3.12 Renk Değerleri

Depolamanın son gününde fermente sucuğun iç kesitine ait renk değerleri (L*, a*, b*) üzerine faktörlerin etkisini ifade eden polinomiyal denklemlere göre;

$$Y_{L*_{iç}} = 50.7286 + 1.2080A - 0.6923B - 1.3191C + 0.0391A^2 + 2.1408AB - 1.4468B^2 + 1.3024AC - 0.3397BC - 0.4285C^2$$

$$Y_{a*_{iç}} = 16.1236 + 2.3133A + 1.1542B - 0.0871C - 3.1960A^2 - 1.6178AB + 0.9803B^2 + 0.7647AC - 0.1280BC + 0.8116C^2$$

$$Y_{b*_{iç}} = 11.5910 + 0.3246A + 0.4587B - 0.2372C - 0.4356A^2 - 0.2315AB + 0.3540B^2 + 0.1550AC - 0.0619BC + 0.5819C^2$$

biçiminde eşitlikler açıklanmıştır. Tablo 4.3.12’de varyans analiz sonuçları verilmiştir.

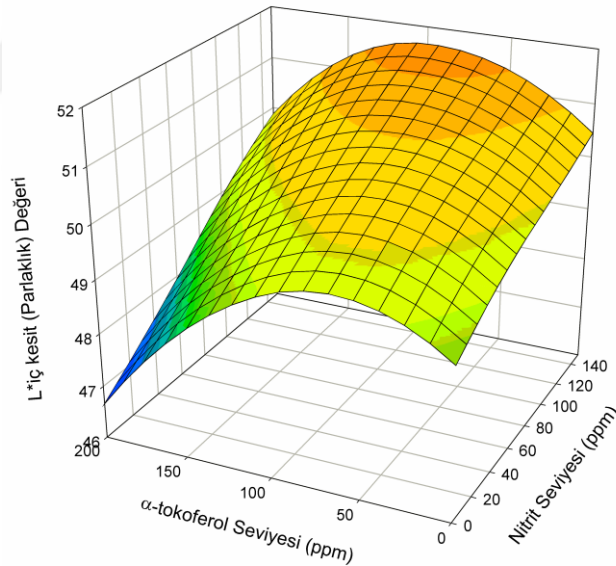
Tablo 4.3.12’de görüldüğü üzere, sucukların iç kesitine ait L* değeri üzerinde sodyum nitritin ve potasyum sorbatın lineer etkilerinin istatistiksel olarak çok önemli (P<0.01) olduğu, α - tokoferolün lineer etkisinin ise önemli (P<0.05) olduğu saptanmıştır. Sodyum nitrit ile α - tokoferol ve sodyum nitrit ile potasyum sorbatın interaksiyon etkilerinin istatistiksel olarak çok önemli (P<0.01), α - tokoferolün kuadratik etkisinin istatistiksel olarak önemli (P<0.05) olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.3.3). Depolamanın son gününde sucuk örneklerinin iç kesitine ait L* değeri 41.51-52.34 (ortalama 49.58) arasında değişim göstermektedir (EK 7).

Tablo 4.3.12. İç kesit renk değerleri üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	L* _{iç}		a* _{iç}		b* _{iç}	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Model	9	98.3940	23.1656	119.7732	7.2174	6.1170	3.5080
A (Sodyum Nitrit)	1	14.5906	30.9166 **	53.5113	29.0206 **	1.0535	5.4378
B (α -tokoferol)	1	4.7921	10.1542 *	13.3210	7.2243 *	2.1038	10.8583 *
C (Potasyum Sorbat)	1	17.3998	36.8691 **	0.0759	0.0411	0.5629	2.9052
A ²	1	0.0040	0.0085	26.9280	14.6038 **	0.5002	2.5818
AB	1	36.6618	77.6839 **	20.9385	11.3555 *	0.4286	2.2121
B ²	1	5.5184	11.6931 *	2.5335	1.3740	0.3304	1.7052
AC	1	13.5699	28.7537 **	4.6780	2.5370	0.1922	0.9920
BC	1	0.9231	1.9560	0.1311	0.0711	0.03062	0.1581
C ²	1	0.4840	1.0255	1.7364	0.9417	0.89272	4.6077
Uyum Eksikliği	5	1.9192	0.4207	8.6011	0.6986	0.8249	0.4887
Genel	15	101.2257	0.0005	130.8366	0.0129	7.2795	0.0703

*: P<0.05 **:P<0.01

Yapılan bazı çalışmalarda, fermente sosislerin L* değerinin ortalama 40.75 (186); “chorizo” sosis örneklerinin L* değerinin 46.87-52.32 (187) arasında olduğu bildirilmiştir.

**Şekil 4.3.3.** L*_{iç} kesit değeri üzerine sodyum nitrit ve α -tokoferolün etkisi

Sucukların iç kesitine ait a* değeri üzerinde sodyum nitritin lineer ve kuadratik etkilerinin istatistiksel olarak çok önemli (P<0.01) olduğu saptanmıştır. α -tokoferolün lineer etkisi ve sodyum nitrit ile α -tokoferolün interaksiyon etkisinin istatistiksel olarak anlamlı (P<0.05) olduğu tespit edilmiştir. Depolamanın son gününde sucuk örneklerinin iç kesitine ait a* değeri 8.85-17.77 (ortalama 15.25) arasında değişim göstermektedir (EK 7).

Sucukların iç kesitine ait b* değeri üzerinde α -tokoferolün lineer etkisinin istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) olduğu saptanmıştır. Depolamanın son gününde sucuk örneklerinin iç kesitine ait b* değeri 10.54-13.00 (ortalama 11.90) arasında değişim göstermektedir (EK 7).

Uzun yıllardır uygulanan yem katkı maddesine 500 ppm α -tokoferol takviyesinin eklenmesi, taze sığır etinin a* (kırmızılık) değerini koruyabildiği belirtilmiştir. Bu koruyucu etkinin, oksimiyoglobinin geciken oksidasyonu ve çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunun engellenmesi yoluyla gerçekleşebildiği ifade edilmiştir (182).

Depolamanın son gününde fermente sucuğun dış yüzeyine ait renk değerleri (L^* , a^* , b^*) üzerinde faktörlerin etkisini ifade eden polinomial denklemlere göre;

$$Y_{L^*dış} = 39.1819 - 0.3094A + 0.9143B - 1.1616C - 1.0350A^2 - 0.6459AB - 0.0024B^2 + 0.4414AC - 0.3872BC + 0.5376C^2$$

$$Y_{a^*dış} = 11.5046 + 2.3812A + 0.1134B - 0.3602C - 2.0716A^2 - 0.0449AB + 0.0196B^2 - 0.2417AC - 0.1418BC - 0.164957C^2$$

$$Y_{b^*dış} = 10.7725 + 0.3722A + 0.3268B + 0.0550C - 0.6564A^2 - 0.2931AB - 0.3010B^2 - 0.5256AC - 0.2781BC + 0.1815C^2$$

biçiminde eşitlikler açıklanmıştır. Tablo 4.3.13'te varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.3.13. Dış yüzey renk değerleri üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	L^* dış		a^* dış		b^* dış	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Model	9	32.0615	2.8632	76.0086	12.8060	8.1615	2.3614
A (Sodyum Nitrit)	1	0.9574	0.7695	56.6996	85.9752	**	1.3851
B (α -tokoferol)	1	8.3585	6.7180	*	0.1286	0.1951	**
C (Potasyum Sorbat)	1	13.4928	10.8446	*	1.2972	1.9670	
A^2	1	2.8238	2.2695	11.3143	17.1562	**	1.1359
AB	1	3.3379	2.6828	0.0161	0.0245		0.6874
B^2	1	0.0001	0.0000	0.0010	0.0015		0.2388
AC	1	1.5584	1.2525	0.4668	0.7079		2.2103
BC	1	1.1993	0.9639	0.1608	0.2438		0.6188
C^2	1	0.7619	0.6123	0.0717	0.1088		0.0869
Uyum Eksikliği	5	6.1985	0.9787	3.7754	4.1602		1.4796
Genel	15	39.5267	0.1067	79.9655	0.0028		10.4657

*: $P<0.05$ **: $P<0.01$

Tablo 4.3.13'te görüldüğü üzere, sucukların dış yüzeyine ait L^* değeri üzerinde α -tokoferolün ve potasyum sorbatın lineer etkilerinin istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) olduğu saptanmıştır. Depolamanın son gününde sucuk örneklerinin dış yüzeyine ait L^* değeri 36.33-43.37 (ortalama 38.87) arasında değişim göstermektedir (EK 7).

Gimeno vd. (2000) et ve et ürünlerinde renk değişimi için en iyi göstergenin parlaklık değeri olduğunu bildirmiş, parlaklık değerinde oluşabilecek azalmanın oksidasyona bağlı bir

takım reaksiyonlar ile ilgili olduğunu ifade etmiştir (187). Üren ve Babayiğit (1996) sucukların renk özelliklerini inceledikleri çalışmada, örneklerin ortalama parlaklık değerlerinin 35.87-45.92 arasında değiştiğini bildirmişlerdir (159).

Sucukların dış yüzeyine ait a^* değeri üzerinde sodyum nitritin lineer ve kuadratik etkilerinin istatistiksel olarak çok önemli ($P<0.01$) olduğu tespit edilmiştir. Depolamanın son gününde sucuk örneklerinin dış yüzeyine ait a^* değeri 6.18-12.79 (ortalama 10.12) arasında, b^* değeri 7.76-11.35 (ortalama 10.29) arasında değişim göstermektedir (EK 7).

Sucuğun parlak kırmızı renginin nitritin azot okside dönüşmesi ve bu bileşiğin miyogloblin ile birleşerek nitrozomiyogloblin kompleksi oluşturmamasından kaynaklandığı bildirilmektedir (3).

Kayaardı ve Gök (2004) Türk sucuğunun sarılığın göstergesi olan b^* değerinin olgunlaştırma boyunca düştüğünü bildirmişlerdir. Başlangıçta 12-14 arasında değişen b^* değerinin olgunlaştırma sonunda 8-10'a düştüğünü belirtmişlerdir (149).

4.3.13 Biyojen Amin Değerleri

Depolamanın son gününde fermente sucuğun biyojen amin miktarları (TRP, PhA, PUT, CAD, HIS, TyR, SPD ve SPM) üzerine faktörlerin etkisini ifade eden polinomiyal denklemlere göre;

$$Y_{TRP} = 40.1311 - 3.6367A - 2.7458B + 2.7150C + 7.4131A^2 - 1.2693AB + 1.3028B^2 - 0.8997AC + 1.8578BC - 4.6808C^2$$

$$Y_{PhA} = 34.4061 - 1.1680A - 1.5771B + 2.8311C + 2.0269A^2 - 0.0026AB - 0.0706B^2 + 2.2599AC - 2.3073BC - 2.3054C^2$$

$$Y_{PUT} = 12.9163 + 0.32685A + 1.19284B + 1.9901C - 0.8921A^2 - 2.0261AB + 1.3379C^2 + 2.2725AC + 1.0511BC - 0.8888C^2$$

$$Y_{CAD} = 10.8776 + 3.1745A - 3.5281B + 2.3841C + 2.7946A^2 - 6.5855AB + 2.6141B^2 + 3.4866AC - 3.2327BC + 1.6134C^2$$

$$Y_{HIS} = 13.3054 - 0.81051A - 0.7061B + 2.14349C + 2.1868A^2 + 1.4374AB - 1.5517B^2 - 1.2192AC + 0.8033BC + 1.3696C^2$$

$$Y_{TyR} = 21.8100 + 1.0447A + 0.3240B + 1.0940C + 1.1492A^2 + 0.7305B - 2.9764B^2 - 0.2639AC + 1.3520BC + 1.0181C^2$$

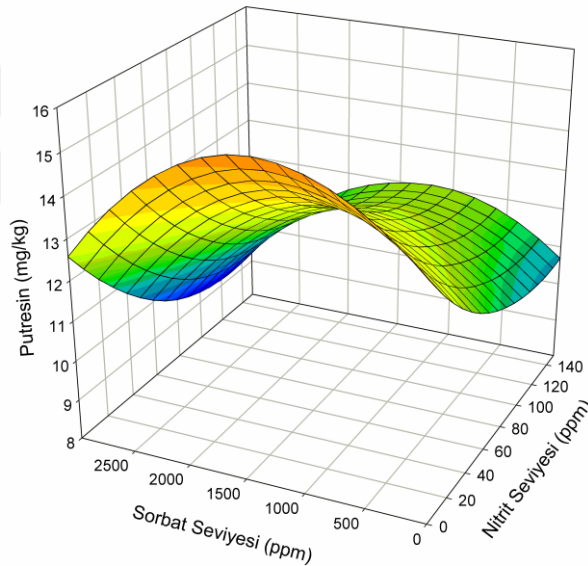
$$Y_{SPD} = 76.0282 + 6.4850A + 5.4968B - 15.2098C - 24.2995A^2 - 2.6094AB + 4.0027B^2 - 7.8510AC - 4.5313BC + 16.5699C^2$$

$$Y_{SPM} = 26.9903 - 1.5433A + 1.5520B + 0.0579C + 0.7406A^2 + 2.3253AB + 4.0661B^2 + 0.4137AC - 5.2025BC - 3.4697C^2$$

biçiminde eşitlikler açıklanmıştır. Tablo 4.3.14'te varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.3.14’te görüldüğü üzere, sucukların TRP ve PhA değerleri üzerinde faktörlerin etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı ($P>0.05$) saptanmıştır. PUT değeri üzerinde potasyum sorbatın lineer etkisi ve sodyum nitrit ile potasyum sorbatın interaksiyon etkisinin istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) olduğu tespit edilmiştir. CAD değeri üzerinde ise sodyum nitrit ile α -tokoferolün interaksiyon etkisinin istatistiksel olarak anlamlı ($P<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Depolamanın son gününde sucuk örneklerine ait TRP miktarı 31.76-57.62 (ortalama 47.65), PhA miktarı 23.28-45.30 (ortalama 34.19), PUT miktarı 7.15-18.44 (ortalama 12.64) ve CAD miktarı 7.82-46.08 (ortalama 15.27) mg/kg sucuk arasında değişim göstermektedir (EK 9). Ten-Brink vd. (1990), fermente sucuklardaki PhA miktarını 5-45 mg/kg aralığında bulmuşlardır (188).



Şekil 4.3.4. Putresin değeri üzerine sodyum nitrit ve potasyum sorbatın etkisi

Bover-Cid ve Holzapfel (1999) yaptıkları çalışmada sucuk örneklerini 3 gruba ayırmışlar birinci gruptaki örneklerde starter kültür kullanmazken, ikinci gruptaki örneklerde *S. xylosus* starter kültürünü, üçüncü gruptaki örneklerde ise *S. carnosus* starter kültürünü kullanmışlar. 20°C’de 21 gün olgunlaştırma sonrasında CAD miktarını 1.grupta 35 mg/kg, 2. grupta 30 mg/kg, 3. grupta ise 25 mg/kg olarak belirlemişlerdir (189).

Tablo 4.3.14. Biyojen amin miktarları üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	TRP		PhA		PUT		CAD	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Model	9	513.9558	1.3924	221.1802	0.4530	144.9907	2.6356	930.6750	3.2497
A (Sodyum nitrit)	1	132.2574	3.2247	13.6410	0.2514	1.0683	0.1748	100.7713	3.1669
B (α -tokoferol)	1	75.3938	1.8383	24.8731	0.4585	14.2287	2.3278	124.4755	3.9118
C (Potasyum sorbat)	1	73.7141	1.7973	80.1490	1.4774	39.6050	6.4793 *	56.8390	1.7862
A ²	1	144.8782	3.5324	10.8315	0.1997	2.0980	0.3432	20.5898	0.6471
AB	1	12.8889	0.3143	0.0001	0.0000	32.8411	5.3727	346.9526	10.9034 *
B ²	1	4.4743	0.1091	0.01316	0.0002	4.7189	0.7720	18.0150	0.5661
AC	1	6.47536	0.1579	40.8577	0.7531	41.3144	6.7589 *	97.2515	3.0562
BC	1	27.6118	0.6732	42.5894	0.7850	8.8384	1.4459	83.6003	2.6272
C ²	1	57.7623	1.4084	14.0120	0.2583	2.0827	0.3407	6.8628	0.2157
Uyum Eksikliği	5	239.3643	7.1262	324.6210	73.5327	34.1100	2.6592	169.8194	1.6093
Genel	15	760.0380	0.3544	546.6840	0.8625	181.6662	0.1254	1121.5986	0.0825

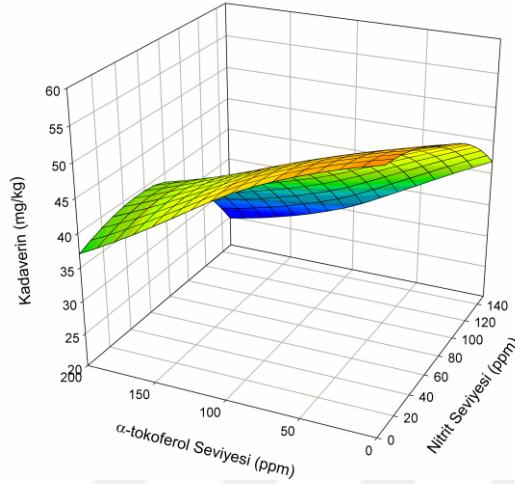
*: P<0.05 **:P<0.01 (TRP:Triptamin; PhA:2-feniletilamin; PUT:Putresin; CAD:Kadaverin).

Tablo 4.3.14. Biyojen amin miktarları üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları (Devamı)

Varyans Kaynağı	SD	HIS		TyR		SPD		SPM	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Model	9	116.2471	1.2333	66.9573	1.4490	5534.3087	5.4994	370.4589	0.8680
A (Sodyum nitrit)	1	6.5692	0.6272	10.9133	2.1256	420.5476	3.7610	23.8163	0.5022
B (α -tokoferol)	1	4.9869	0.4762	1.0496	0.2044	302.1476	2.7022	24.0850	0.5079
C (Potasyum sorbat)	1	45.9456	4.3870	11.9675	2.3309	2313.3796	20.6890 **	0.0335	0.0007
A ²	1	12.6071	1.2038	3.4819	0.6782	1556.6787	13.9217 **	1.4461	0.0305
AB	1	16.5285	1.5782	4.2691	0.8315	54.4724	0.4872	43.2558	0.9121
B ²	1	6.3481	0.6061	23.3549	4.5489	42.2381	0.3777	43.5880	0.9191
AC	1	11.8911	1.1354	0.5570	0.1085	493.0991	4.4099	1.36886	0.0289
BC	1	5.1617	0.4929	14.6234	2.8482	164.2590	1.4690	216.5298	4.5660
C ²	1	4.9454	0.4722	2.7326	0.5322	723.8470	6.4735 *	31.7383	0.6693
Uyum Eksikliği	5	22.2297	0.1095	9.8179	0.0936	669.5927	102.4227	244.5714	1.2240
Genel	15	179.0855	0.4132	97.7625	0.3359	6205.2089	0.0253	654.9936	0.5929

*: P<0.05 **:P<0.01 (HIS:Histamin; TyR:Tiramin; SPD:Spermidin; SPM:Spermin).

CAD genellikle fermentasyon sırasında tamamen inhibe edilemeyen Enterobakter gibi dekarboksilaz pozitif kontaminant mikrobiyatanın aktivitesiyle ilgili olabilmektedir (190).



Şekil 4.3.5. Kadaverin değeri üzerine sodyum nitrit ve α -tokoferolün etkisi

Sucukların HIS, TyR ve SPM değerleri üzerinde faktörlerin etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı ($P>0.05$) tespit edilmiştir. SPD değeri üzerinde potasyum sorbatın lineer etkisi ve sodyum nitrit ve potasyum sorbatın kuadratik etkilerinin istatistiksel olarak çok anlamlı ($P<0.01$) olduğu saptanmıştır.

Depolamanın son gününde sucuk örneklerine ait HIS miktarı 9.90-20.67 (ortalama 14.56), TyR miktarı 17.05-25.94 (ortalama 21.30), SPD miktarı 51.91-116.71 (ortalama 73.70) ve SPM miktarı 18.59-40.62 (ortalama 27.83) mg/kg sucuk arasında değişim göstermektedir (EK 9).

Biyojen amin bileşikleri arasındaki ilişkiye bakıldığında; TRP'in HIS ile arasında pozitif korelasyon (0.560; $P<0.05$), SPD ile negatif korelasyon (-0.655; $P<0.01$) olduğu tespit edilmiştir. TyR'in HIS ile arasında pozitif korelasyon (0.642; $P<0.01$), SPM ile arasında ise negatif korelasyon (-0.592; $P<0.05$) olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, PhA ile SPD arasında negatif korelasyon (-0.546; $P<0.05$) olduğu saptanmıştır (EK 9).

Bozkurt ve Erkmen (2002) potasyum sorbat kullanımıyla ilgili yaptıkları bir çalışmada, 1.25 mg/kg'dan fazla potasyum sorbat ilavesinin biyojen amin oluşumunu önlediğini gözlemlemişlerdir (68).

Yapılan başka bir çalışmada araştırmacılar starter kültür (*Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus plantarum* ve *Staphylococcus carnosus*) ilavesi ile birlikte yüksek konsantrasyondaki katkı maddeleri (nitrat, nitrit, α -tokoferol, askorbik asit, potasyum sorbat,

potasyum pirofosfat ve dipotasyum hidrojen fosfat) kullanarak sucuk üretmişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre kullanılan katkıların üründe koruyucu özellik gösterdiklerini ve toksik bileşikler olan biyojen amin oluşumunu azalttığını belirtmişlerdir (173) .

Bozkurt ve Erkmén (2004) çalışmalarında piyasadan analize aldıkları 50 sucuk örneğinde biyojen amin miktarlarını belirlemişlerdir. Araştırmacılar TRP 0-126.9 mg/kg, PhA 0-31.9 mg/kg, PUT 0-918.9 mg/kg, CAD 0-6.7 mg/kg, HIS 1.5-478.2 mg/kg, serotonin 0-12.4 mg/kg, TyR 1.2- 316.3 mg/kg, SPM 0.1- 50.0 mg/kg aralığında saptamışlardır (191).

Lorenzo vd. (2007) farklı katkı maddeleri (glukoz, sodyum nitrit, sodyum nitrat, sodyum askorbat ve sodyum sitrat) kullanarak fermente et ürünü (lacón) üretmişlerdir. Çalışma sonucuna göre bu katkı maddeleri eklenmesiyle üretilen fermente et ürünlerinde biyojen amin miktarlarının düşük olduğunu belirtmişlerdir (192).

4.3.14 N-Nitrozamin Değerleri

Depolamanın son gününde fermente sucuğun N-nitrozamin değerleri (NDMA, NMEA, NDEA, NDPA, NMOR, NPYR, NPIP, NDBA ve NDPhA) üzerine faktörlerin etkisini ifade eden polinomiyal denklemlere göre;

$$Y_{NDMA} = 38.9286 + 4.0837A + 4.03632B - 2.8788C + 14.5752A^2 + 3.5188AB - 8.8499B^2 + 0.3112AC - 3.3041BC - 5.1829C^2$$

$$Y_{NMEA} = 11.6229 - 5.8810A + 0.6595B + 3.1805C - 1.5571A^2 - 5.4884AB + 10.8377B^2 - 4.9225AC + 3.7586BC - 10.1787C^2$$

$$Y_{NDEA} = 4.9231 - 2.1037A - 0.0863B + 0.7628C + 2.1336A^2 + 0.2465AB - 1.9177B^2 - 0.4567AC - 0.3099BC - 1.1616C^2$$

$$Y_{NDPA} = 13.0030 - 0.6234A + 0.5716B + 2.1614C - 6.7284A^2 - 0.7065AB - 1.1644B^2 - 0.8618AC + 1.7782BC - 3.6225C^2$$

$$Y_{NMOR} = 30.4381 + 0.5912A - 6.5846B - 11.4759C - 37.7891A^2 + 0.1357AB - 5.6716B^2 + 0.1942AC + 0.5875BC + 19.6070C^2$$

$$Y_{NPYR} = 3.7229 + 0.5180A + 0.3491B + 0.0752C + 0.6517A^2 + 0.1954AB - 0.7252B^2 - 0.4160AC + 0.3864BC - 1.4163C^2$$

$$Y_{NPIP} = 1.3435 + 1.1983A + 1.8447B - 1.0537C + 0.8368A^2 + 1.5459AB + 1.0951B^2 - 1.2289AC - 1.5137BC - 0.1720C^2$$

$$Y_{NDBA} = 14.0566 + 0.8227A + 6.8329B + 1.3645C - 1.9747A^2 + 0.8218AB - 0.2322B^2 - 2.3587AC + 2.1368BC - 0.6712C^2$$

$$Y_{NDPhA} = 5.2458 + 0.3988A - 2.3134B + 0.1092C + 7.8149A^2 - 0.7438AB - 3.1006B^2 - 1.3215AC + 0.1045BC - 4.1084C^2$$

biçiminde eşitlikler açıklanmıştır. Tablo 4.3.15'te varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.3.15. N-nitrozamin miktarları üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	NDMA		NMEA		NDEA		NDPA		NMOR	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Model	9	1235.4681	1.2550	1447.5869	0.6795	73.7933	1.7828	440.6475	0.2021	6442.2310	0.4383
A (Sodyum nitrit)	1	166.7627	1.5246	345.8599	1.4611	44.2552	9.6229 *	3.8861	0.0160	3.4955	0.0021
B (α -tokoferol)	1	162.9188	1.4895	4.3491	0.0184	0.0746	0.0162	3.2670	0.0135	433.5722	0.2655
C (Potasyum sorbat)	1	82.8739	0.7577	101.1553	0.4273	5.8181	1.2651	46.7147	0.1929	1316.9694	0.8064
A ²	1	560.0560	5.1203	6.3921	0.0270	12.0016	2.6096	119.3512	0.4928	3764.7733	2.3053
AB	1	99.0511	0.9056	240.9775	1.0180	0.4860	0.1057	3.9930	0.0165	0.1473	0.0001
B ²	1	206.4813	1.8878	309.6545	1.3082	9.6947	2.1080	3.5743	0.0148	84.8032	0.0519
AC	1	0.7747	0.0071	193.8467	0.8189	1.6687	0.3628	5.9419	0.0245	0.3016	0.0002
BC	1	87.3362	0.7985	113.0139	0.4774	0.7678	0.1669	25.2955	0.1044	2.7607	0.0017
C ²	1	70.8192	0.6475	273.1449	1.1539	3.5575	0.7735	34.5951	0.1428	1013.5106	0.6206
Uyum Eksikliği	5	526.4692	0.8112	1419.2818	295.1339	19.7674	0.5051	472.4725	0.0963	9789.0846	204.2066
Genel	15	1891.7416	0.4045	2867.8305	0.7111	101.3871	0.2479	1893.9158	0.9834	16240.903	0.8718

*: P<0.05 **:P<0.01 (NDMA: Nitrozodimetilamin; NMEA: Nitrozometiletilamin; NDEA: Nitrozodietilamin; NDPA: Nitrozodipropilamin; NMOR: Nitrozomorfolin).

Tablo 4.3.15. N-nitrozamin miktarları üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları (Devamı)

Varyans Kaynağı	SD	NPYR		NPIP		NDBA		NDPhA	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Model	9	16.6396	0.6108	118.2972	3.3492	602.0159	2.3300	249.4851	0.9650
A (Sodyum nitrit)	1	2.68367	0.8865	14.3584	3.6586	6.7677	0.2357	1.5904	0.0554
B (α -tokoferol)	1	1.2187	0.4026	34.0277	8.6704 *	466.8884	16.2630 **	53.5200	1.8630
C (Potasyum sorbat)	1	0.0565	0.0187	11.1033	2.8292	18.6182	0.6485	0.1192	0.0041
A ²	1	1.1198	0.3699	1.8461	0.4704	10.2798	0.3581	161.0082	5.6047
AB	1	0.3053	0.1008	19.1179	4.8713	5.4026	0.1882	4.4259	0.1541
B ²	1	1.3865	0.4580	3.1615	0.8056	0.1422	0.0050	25.3458	0.8823
AC	1	1.3842	0.4573	12.0816	3.0784	44.5100	1.5504	13.9700	0.4863
BC	1	1.1947	0.3947	18.3303	4.6706	36.5267	1.2723	0.0874	0.0030
C ²	1	5.2880	1.7468	0.0780	0.0199	1.1877	0.0414	44.4990	1.5490
Uyum Eksikliği	5	17.1172	3.2741	23.4879	78.8087	136.0286	0.7511	166.5973	5.7777
Genel	15	34.8024	0.7572	141.8447	0.0775	774.2676	0.1577	421.8493	0.5386

*: P<0.05 **:P<0.01 (NPYR: Nitrozopirolidin; NPIP: Nitrozopiperidin; NDBA: Nitrozodibütilamin; NDPhA: Nitrozodifenilamin).

Tablo 4.3.15'te görüldüğü üzere, sucukların NDMA, NMEA, NDEA, NDPA ve NMOR değerleri üzerinde faktörlerin etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı ($P>0.05$) tespit edilmiştir.

Depolamanın son gününde sucuk örneklerine ait NDMA miktarı 20.40-64.13 (ortalama 39.27), NMEA miktarı 2.06-45.57 (ortalama 11.06), NDEA miktarı 0.87-11.17 (ortalama 4.33), NDPA miktarı 0.55-45.76 (ortalama 5.81) ve NMOR miktarı 1.03-122.52 (ortalama 15.53) $\mu\text{g} / \text{kg}$ sucuk arasında değişim göstermektedir (EK 11).

Sucukların NPYR ve NDPhA değerleri üzerinde faktörlerin etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı ($P>0.05$) saptanmıştır. α -tokoferolün lineer etkisinin NPIP değeri üzerinde istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) olduğu, NDBA değeri üzerinde ise istatistiksel olarak çok önemli ($P<0.01$) olduğu tespit edilmiştir.

Depolamanın son gününde sucuk örneklerine ait NPYR miktarı 1.16-7.08 (ortalama 2.79), NPIP miktarı 0.60-13.32 (ortalama 2.44), NDBA miktarı 3.14-24.06 (ortalama 12.26) ve NDPhA miktarı 0.52-21.91 (ortalama 5.62) $\mu\text{g}/\text{kg}$ sucuk arasında değişim göstermektedir (EK 11). Yapılan bir çalışmada kür edilmiş bir et ürününde 1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ düzeyinde olan NPYR kızartma işlemi sonucunda 15.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 'a kadar çıktığı rapor edilmiştir (193).

N-nitrozaminlerin birbirleri arasındaki ilişkiye bakıldığında NPIP ile NDMA arasında ve NPIP ile NDBA arasında pozitif korelasyon (sırasıyla 0.726; $P<0.01$, 0.562; $P<0.05$) olduğu bulunmuştur. Ayrıca, NMEA ile NDEA arasında da pozitif ilişki (0.624; $P<0.01$) tespit edilmiştir (EK 14).

Et ürünlerine tat ve lezzet vermesi amacıyla katılan baharatların *N*-nitrozamin oluşumuna öncü etkilerinin olduğu belirtilmektedir. Nitekim karabiberde bulunan piperin ve piperidin NPIP oluşumunda rol oynamaktadır (11).

Paprikada bulunan prolidinin ise NPYR oluşumunda etkili olduğu bildirilmektedir (11). NPYR oluşumunda prolin, prolidin, kolajen, PUT, SPM, SPD, CAD, ornitin olmak üzere çeşitli prekürsörler etkili olabilmektedir (26,109,194).

Ayanaba ve Alexander (1973), mikroorganizmaların *N*-nitrozamin oluşumunda nitratların nitritlere indirgenmesi, proteinlerin aminlere ve amino asitlere parçalanması, nitrozasyon gerçekleştiren enzimlerin üretimi ve nitrozasyon için uygun pH oluşumu gibi farklı şekillerde rol alabileceğini bildirmektedir (111).

2 boyutlu grafik incelendiğinde; NDMA bileşiğinin eklenen nitrit miktarına bağlı olarak arttığı görülmektedir. 100 ppm veya daha fazla nitrit seviyesinin NDMA miktarı üzerinde daha etkili olduğu rapor edilmiştir (96) (EK 18).

Biyojen amin ve *N*-nitrozamin ilişkisine bakıldığında NPYR ile TyR arasında pozitif korelasyon (0.510; $P<0.01$) ve TRP ile NDEA arasında da pozitif korelasyon (0.499; $P<0.05$) olduğu tespit edilmiştir.

Kurt ve Zorba (2009), PUT ve CAD bileşiklerinin nitritle reaksiyona girerek *N*-nitrozamin oluşturduğunu (5), Jira (2004) et ürünlerindeki NPYR miktarının biyojen amin miktarına bağlı olarak arttığını belirtmiştir (195).

Robach ve Sofos (1982) yaptıkları bir çalışmada, pastırmada nitrit oranında azaltılmaya gidilmesi ve potasyum sorbat ile kombine edilmesinin, pastırmalarda *N*-nitrozaminin azalmasını sağladığını ortaya koymuşlardır (128).

Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı (USDA) tarafından yapılan ticari bacon çalışmaları sonucu 40 ppm nitrit ve %0.26 potasyum sorbat kombinasyonu ile üretilen baconda 120 ppm nitrit ile üretilen bacona göre daha düşük seviyelerde NPYR olduğu tespit edilmiştir (196).

4.3.15 Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Depolamanın son gününde fermente sucuğun mikrobiyolojik analiz sonuçları (TAMB, LAB, Mikrokok/Stafilokok, Enterobakter, maya-küf) üzerine faktörlerin etkisini ifade eden polinomiyal denklemlere göre;

$$Y_{TAMB} = 6.6906 - 0.4074A - 0.0026B - 0.1472C + 0.7482A^2 + 0.1181AB - 0.8406B^2 - 0.0087AC - 0.0422BC + 0.0575C^2$$

$$Y_{LAB} = 7.8997 + 0.2522A + 0.0753B + 0.1018C - 0.1558A^2 + 0.0141AB - 0.1616B^2 + 0.0253AC - 0.0500BC + 0.2141C^2$$

$$Y_{Mic/Staph} = 5.8434 + 0.1868A + 0.0222B - 0.2656C - 0.5923A^2 - 0.0512AB + 0.2628B^2 + 0.1163AC + 0.0967BC + 0.3092C^2$$

$$Y_{Enterobakter} = -0.0030 - 0.4350A + 0.1496B - 0.1588C + 0.1295A^2 - 0.2108AB + 0.1295B^2 + 0.0597AC - 0.1643BC + 0.7800C^2$$

$$Y_{Maya-Küf} = 4.4630 - 0.3878A - 0.0097B - 0.8882C + 0.1834A^2 + 0.1811AB - 0.4931B^2 + 0.1642AC - 0.1227BC + 1.1853C^2$$

biçiminde eşitlikler açıklanmıştır. Tablo 4.3.16'da varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.3.16'da görüldüğü üzere, sucukların Mikrokok/Stafilokok ve Enterobakter sayıları üzerinde faktörlerin etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı ($P>0.05$) tespit edilmiştir. Depolamanın son gününde sucuk örneklerine ait Mikrokok/Stafilokok sayısı 4.15-6.32 (ortalama 5.83) ve Enterobakter sayısı 0.00-2.11 (ortalama 0.65) log kob/g sucuk arasında değişim göstermektedir (EK 13). Mikrobiyel gelişim sucuktaki su oranına ve pH değerine bağlıdır. Yüksek nem içeriği ve pH değerlerinde mikroorganizma sayıları daha fazla

olurken, kurutma, fermentasyon ve olgunlaştırmının etkisiyle mikrobiyel gelişme azalmaktadır (176).

TAMB sayısı üzerinde sodyum nitritin lineer ve kuadratik etkileri ve α -tokoferolün kuadratik etkisinin istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) olduğu saptanmıştır. Sucukların LAB sayısı üzerinde sadece sodyum nitritin lineer etkisinin istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) olduğu tespit edilmiştir. Depolamanın son gününde sucuk örneklerine ait TAMB sayısı 5.74-8.31 (ortalama 6.67) log kob/g ve LAB sayısı 7.38-8.31 (ortalama 7.84) log kob/g sucuk arasında değişim göstermektedir (EK 13). Laktik asit bakterilerinin birçoğunun nitrite karşı dirençli oldukları ifade edilmektedir (197). Çolak ve Uğur (2002) starter kültür ilavesi yapılmış sucuk örneklerinin LAB sayılarını olgunlaşmadan önce 6.57 log kob/g, olgunlaşmanın sonunda ise 7.95 log kob/g olarak saptamışlardır (60).

Blesa vd. (2008) tarafından yapılan çalışmada α -tokoferolün antimikrobiyel özellikleri olmamasına rağmen, α -tokoferol içeren baconların 3 haftalık depolamadan sonra kontrolden daha düşük TAMB sayısına sahip olduğunu rapor etmişlerdir (198).

Sucukların maya-küf sayıları üzerinde sodyum nitrit ve potasyum sorbatın lineer etkileri ve α -tokoferol ve potasyum sorbatın kuadratik etkilerinin istatistiksel olarak çok önemli ($P<0.01$) olduğu saptanmıştır.

Depolamanın son gününde sucuk örneklerine ait maya-küf sayısı 3.83-6.71 (ortalama 5.01) log kob/g sucuk arasında değişim göstermektedir (EK 13). Sorbik asit ve tuzlarının küf ve maya faaliyetlerini engelleyici özelliğinden dolayı, potasyum sorbatın maya-küf değerlerini düşürdüğü görülmektedir.

pH değerinin düşmesiyle üründe patojen ve saprofit mikroorganizmaların gelişimi engellenmektedir. Aynı zamanda artan laktik aside bağlı olarak et pH'sının izoelektrik noktaya yaklaşması nedeniyle ürünün kuruması kolaylaşmaktadır. Laktik asit ayrıca fermente et ürünlerine özgü lezzetin gelişmesi üzerine de etkili olmaktadır (199).

Gençcelep vd. (2014) inci kefalı (*Chalcalburnus tarichi* Pallas) filetolarını farklı konsantrasyonlarda potasyum sorbat (%0, %1, %3 ve %5) ile muamele ettikten sonra vakum altında paketlemişlerdir. Araştırmada mikrobiyolojik (TAMB, psikrotrofik bakteri, LAB, Enterobakter, maya-küf sayımı) ve fiziksel-kimyasal (pH değeri, TBA tayini, TVB-N analizi, a_w değeri ve biyojen amin miktarı) analizler yapılmıştır. Potasyum sorbatın analiz sonuçlarını olumlu yönde etkilediğini ve depolama sürecinde bakteriyel gelişimi inhibe ettiğini bildirmişlerdir (172).

Tablo 4.3.16. Mikrobiyolojik analiz sonuçları üzerine faktörlerin etkisinin varyans analiz sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	TAMB			LAB			Mik/Staph			Enterobakter			Maya-Küf	
		K.O.	F		K.O.	F		K.O.	F		K.O.	F		K.O.	F
Model	9	4.5441	2.2636		1.0340	2.2786		2.2950	0.7122		6.1406	1.6216		14.6963	29.9692
A (Sodyum nitrit)	1	1.6596	7.4402	*	0.6360	12.6124	*	0.3490	0.9745		1.8921	4.4972		1.5035	27.5943
B (α - tokoferol)	1	0.0001	0.0003		0.0566	1.1232		0.0049	0.0138		0.2239	0.5320		0.0010	0.0173
C(Potasyum sorbat)	1	0.2166	0.9712		0.1037	2.0562		0.7057	1.9709		0.2523	0.5996		7.8885	144.7779
A ²	1	1.4758	6.6164	*	0.0640	1.2694		0.9249	2.5833		0.0442	0.1050		0.0887	1.6280
AB	1	0.1116	0.5003		0.0016	0.0315		0.0210	0.0586		0.3555	0.8450		0.2624	4.8160
B ²	1	1.8628	8.3514	*	0.0688	1.3646		0.1820	0.5084		0.0442	0.1050		0.6410	11.7645
AC	1	0.0006	0.0027		0.0051	0.1016		0.1082	0.3021		0.0285	0.0678		0.2156	3.9564
BC	1	0.0142	0.0638		0.1000	0.3967		0.0747	0.2087		0.2159	0.5131		0.1204	2.2100
C ²	1	0.0087	0.0391		0.1208	2.3957		0.2520	0.7039		1.6038	3.8119		3.7037	67.9747
Uyum Eksikliği	5	1.0628	0.7716		0.2864	3.5591		2.1180	14.0297		2.3994	3.8391		0.2571	0.7371
Genel	15	5.8824	0.1661		1.3365	0.1642		4.4431	0.6896		8.6650	0.2863		15.0232	0.0003

*: P<0.05 **:P<0.01 (TAMB; Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri, LAB; Laktik Asit Bakterisi).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Türk tipi fermente sucuğun fermantasyon sonunda ve 90 günlük depolanmasının son gününde sucuğun fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerinde sodyum nitrit, α - tokoferol ve potasyum sorbatın etkili olduğu tespit edilmiştir. Merkezi Birleşik Desenli Yanıt Yüzey Yöntemi metoduna göre farklı konsantrasyonlarda (sodyum nitrit: 0,75,150 ppm; α - tokoferol: 0, 100, 200 ppm; potasyum sorbat: 0, 1500, 3000 ppm) kombinasyonları oluşturulan faktörlerin ayrıca iyon değerleri (NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^-), biyojen amin ve N-nitrozamin bileşiklerinin birbirleriyle ilişkileri üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

5.1 Fermantasyonun Son Gününde Türk Tipi Fermente Sucuğun Analiz Sonuçları

Fermantasyonun son gününde pH değeri üzerinde tüm faktörlerin lineer etkilerinin çok önemli ($P<0.01$) olduğu tespit edilmiştir. Potasyum sorbatın artan konsantrasyonlarının pH değerinde büyük bir artışa sebep olduğu görülmektedir.

Faktörlerin nem, yağ, protein oranları ve proteoliz değeri üzerinde önemli bir etkilerinin olmadığı ($P>0.05$) belirlenmiştir. Sucuğun lipoliz değeri üzerinde sodyum nitrit ve α -tokoferolün kuadratik etkilerinin önemli ($P<0.05$), potasyum sorbatın lineer etkisinin ise çok önemli ($P<0.01$) olduğu saptanmıştır. Sodyum nitrit seviyesi lipoliz değerinde bir miktar artışa sebep olmuş; 75 ppm üzerinde kullanımı bu değer üzerinde olumlu etki göstererek serbest yağ asitliği değerini düşürmüştür. Peroksit değeri üzerinde potasyum sorbatın kuadratik etkisi önemli ($P<0.05$) bulunmuştur. TBA sayısı üzerinde sodyum nitrit ve α -tokoferolün lineer ve interaksiyon etkilerinin çok önemli ($P<0.01$) olduğu saptanmıştır. Özellikle nitrit kullanımının artan seviyeleri TBA değerinde bir düşüşe sebep olmuştur.

Sodyum nitritin artan konsantrasyonlarında nitrozomiyogloblin oluşumunun arttığı ve faktörün etkisinin bu parametre üzerinde çok önemli ($P<0.01$) olduğu tespit edilmiştir. Toplam tokoferol miktarı üzerinde α -tokoferolün lineer ve kuadratik etkilerinin çok önemli ($P<0.01$), sodyum nitritin lineer etkisinin önemli ($P<0.05$) olduğu belirlenmiştir. Fermantasyon sonunda sucuğun iyon değerlerine bakıldığında; amonyum iyonu üzerinde faktörlerin etkisinin önemli olmadığı ($P>0.05$) ve nitrit iyonu üzerinde eklenen sodyum nitritin artan seviyesinin önemli ($P<0.05$) olduğu tespit edilmiştir. Nitrit ve sorbatın lineer etkilerinin nitrat oluşumu üzerinde çok önemli ($P<0.01$) etkilere sahip olduğu saptanmıştır. Her iki faktörün de artan konsantrasyonlarının nitrat oluşumunu artırdığı belirlenmiştir. İyon değerlerinden nitrat ile nitrit iyonları arasında önemli derecede ($P<0.05$) pozitif korelasyon (0.581) bulunmuştur.

Fermente sucukların iç kesitlerine ait renk değerlerinden L* (parlaklık) değeri üzerinde sorbatın lineer, kuadratik etkileri ve sorbat ile nitrit interaksiyonunun etkileri önemli ($P<0.05$) bulunmuştur. a* (kırmızılık) değeri üzerinde ise sodyum nitritin ($P<0.01$) ve α - tokoferolün ($P<0.05$) lineer etkileri önemli bulunmuştur. Nitrit ilavesi fermente sucuğun kırmızılık değerinde artışa sebep olmaktadır. Sucuğun dış yüzey renk değerlerine bakıldığında faktörlerin etkilerinin b* değeri üzerinde çok önemli ($P<0.01$) olduğu saptanmıştır.

Fermantasyonun son gününde sucukta belirlenen biyojen aminler üzerinde faktörlerin etkilerinin önemli olduğu belirlenmiştir. CAD ve TyR oluşumları üzerinde sodyum nitritin kuadratik etkisi önemli ($P<0.05$) bulunmuş ve nitrit konsantrasyonu arttıkça bu biyojen aminlerin oluşumlarında artış gözlemlenmiştir. Potasyum sorbatın lineer ve nitritin kuadratik etkilerinin SPD oluşumu üzerinde önemli ($P<0.05$) oldukları tespit edilmiştir. Bu faktörlerin artan seviyelerinin SPD oluşumunu azalttığı saptanmıştır. Fermantasyonun son gününde sucuklardaki biyojen amin bileşikleri arasında korelasyonların önemli olmadığı ($P>0.05$) tespit edilmiştir.

Fermente sucuktaki N-nitrozamin oluşumları faktörlerden kısmen etkilenmiştir. NDEA oluşumu üzerinde sorbatın lineer etkisinin önemli ($P<0.05$) olduğu saptanmış ve sorbat konsantrasyonu arttıkça NDEA oluşumu artırmıştır. NDPA oluşumu üzerinde ise sodyum nitrit ile potasyum sorbatın interaksiyon etkisinin önemli ($P<0.05$) olduğu tespit edilmiştir. Bu faktörlerin artan konsantrasyonlarda kullanımının NDPA oluşumunu azalttığı belirlenmiştir.

N-nitrozamin bileşikleri arasındaki ilişkiye bakıldığında; NPIP'in NDMA ile arasındaki pozitif korelasyon (0.682), NMEA ile arasındaki pozitif korelasyon (0.750) çok önemli ($P<0.01$) ve NDEA ile arasındaki pozitif korelasyon (0.518) ise önemli ($P<0.05$) bulunmuştur. NMOR ile NMEA arasında önemli derecede ($P<0.05$) pozitif korelasyon ve NPYR ile arasında çok önemli ($P<0.01$) pozitif korelasyon (0.647) olduğu tespit edilmiştir. NDMA'nın NMEA ile arasındaki pozitif korelasyonun (0.720) çok önemli ($P<0.01$), NDBA ile arasındaki pozitif korelasyonun (0.504) önemli ($P<0.05$) olduğu saptanmıştır. NDEA ile NDBA arasında ise önemli derecede ($P<0.05$) pozitif korelasyon (0.542) olduğu bulunmuştur.

Farklı kombinasyonlar ve konsantrasyonlarda sodyum nitrit, α -tokoferol ve potasyum sorbat ilave edilerek üretilen Türk tipi fermente sucuğun, fermantasyonun son gününde elde edilen iyon (NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^-) değerleri, biyojen amin ve N-nitrozamin bileşiklerinin bazıları arasında korelasyonlar tespit edilmiştir. SPM'nin NDMA ile arasındaki (-0.538) ve NDBA ile arasındaki (-0.570) negatif korelasyonun önemli ($P<0.05$) olduğu saptanmıştır. TyR ile NMOR arasında (-0.618) ve TyR ile NDPhA arasında (-0.538) belirlenen negatif korelasyonların önemli ($P<0.05$) olduğu bulunmuştur. PUT ile NPIP arasında önemli

($P<0.05$) derecede negatif korelasyon (-0.503) olduğu tespit edilmiştir. NH_4^+ ile SPM arasında önemli derecede ($P<0.05$) pozitif korelasyon (0.527) olduğu belirlenmiştir. NO_3^- 'nin NDEA ile arasında (0.638) çok önemli ($P<0.01$), NPIP arasında (0.524) önemli ($P<0.05$) derecede pozitif korelasyon olduğu belirlenmiştir. NO_2^- ile NDBA arasında (0.627) ve NO_2^- ile NDEA arasında (0.711) saptanan pozitif korelasyon çok önemli ($P<0.01$) ve NO_2^- ile NMEA arasında (0.528) pozitif korelasyon önemli ($P<0.05$) bulunmuştur.

Fermantasyonun son günü Türk tipi fermente sucuğun mikrobiyolojik analiz sonuçlarında bakıldığında, genel olarak faktörlerin etkileri önemli ($P<0.05$) bulunmuştur. Fermente sucuğun TAMB sayısı üzerinde sorbatın lineer etkisinin önemli ($P<0.05$) olduğu tespit edilmiştir. Sorbat ilavesinin TAMB sayısını azalttığı görülmüştür. LAB sayısı üzerinde α -tokoferolün kuadratik etkisinin önemli ($P<0.05$) olduğu saptanmıştır. Mikrokok/Stafilokok sayısı üzerinde nitritin lineer etkisi ve α -tokoferol ile sorbatın interaksiyon etkilerinin önemli ($P<0.05$) olduğu tespit edilmiştir. Enterobakter sayısı üzerinde α -tokoferolün lineer ve sodyum nitritin kuadratik etkilerinin önemli ($P<0.05$) olduğu saptanmıştır. Maya-küf sayısı üzerinde ise potasyum sorbatın etkisi çok önemli ($P<0.01$) bulunmuştur. Potasyum sorbatın artan konsantrasyonu maya-küf sayısında önemli bir düşüşe sebep olmuştur.

5.2 Depolamanın Son Gününde Türk Tipi Fermente Sucuğun Analiz Sonuçları

Depolamanın son gününde tüm parametrelerin sonuçlarına sırasıyla bakıldığında; pH değeri üzerinde sodyum nitritin etkisinin önemli ($P<0.05$), potasyum sorbatın etkisinin ise çok önemli ($P<0.01$) olduğu tespit edilmiştir. Sodyum nitrit pH değeri üzerinde artışa sebep olmuşken, potasyum sorbatın önemli bir düşüşe sebep olduğu saptanmıştır. Sucukların nem değeri üzerinde potasyum sorbatın etkisinin çok önemli ($P<0.01$) olduğu saptanmış ve nem oranında belirgin bir artışa sebep olmuştur. Protein oranı üzerinde de potasyum sorbatın etkisinin önemli ($P<0.05$) olduğu ve yağ oranları üzerinde ise sodyum nitritin etkisinin çok önemli ($P<0.01$), α -tokoferolün etkisinin önemli ($P<0.05$) olduğu tespit edilmiştir.

Faktörlerin sucuğun proteoliz, serbest yağ asitliği değerleri, peroksit değeri ve TBA sayısı üzerinde önemli bir etkilerinin olmadığı ($P>0.05$) belirlenmiştir. Sodyum nitritin artan konsantrasyonlarında nitrozomiyogloblin oluşumunun arttığı ve faktörün etkisinin bu parametre üzerinde çok önemli ($P<0.01$) olduğu tespit edilmiştir. Toplam tokoferol miktarı üzerinde ise sodyum nitrit konsantrasyonunun artmasıyla bu değer üzerinde belli bir düşüş gözlenmiş ve sodyum nitritin etkisinin önemli ($P<0.05$) olduğu saptanmıştır. Depolamanın son gününde sucuktaki oksidasyon tepkimeleriyle azalan bu parametre üzerinde eklenen α -tokoferolün yüksek konsantrasyonlarının etkisinin çok önemli ($P<0.01$) olduğu belirlenmiştir.

Türk tipi fermente sucuğun iyon miktarlarına bakıldığında; amonyum ve nitrit iyonları üzerinde faktörlerin etkisinin önemli olmadığı ($P>0.05$), nitrat oluşumunu üzerinde ise sodyum nitrit konsantrasyonunun çok önemli ($P<0.01$) olduğu tespit edilmiştir.

Depolamanın son gününde sucukların iç kesitindeki renk değerleri üzerinde tüm faktörlerin etkilerinin olduğu saptanmıştır. Genel olarak, sodyum nitritin artmasıyla L^* , a^* , b^* değerlerinde bir artış gözlenmiştir. α -tokoferol sucuğun iç kesit a^* ve b^* değerlerini önemli ($P<0.05$) düzeyde artırırken, L^* değerinde bir azalmaya sebep olduğu tespit edilmiştir. Sucukların dış yüzeyinde ölçülen renk değerlerinin istatistiksel analiz sonuçlarına göre L^* değeri üzerinde α -tokoferol ve potasyum sorbatın etkilerinin önemli ($P<0.05$) olduğu belirlenmiştir. Faktörlerin b^* değeri üzerinde etkilerinin önemli olmadığı ($P>0.05$) saptanmışken, a^* değeri sodyum nitrit miktarının artmasıyla artış göstermiş ve etkisinin istatistiksel olarak çok önemli ($P<0.01$) olduğu bulunmuştur.

Depolamanın son gününde sucukta oluşan biyojen amin değerleri üzerinde faktörlerin kısmen etkisi olduğu belirlenmiştir. TRP, PhA, HIS, TyR ve SPM bileşikleri üzerinde faktörlerin etkilerinin önemli bir farklılığa sebep olmadığı ($P>0.05$) saptanmıştır. PUT ve potasyum sorbat arasında pozitif bir ilişki söz konusu olduğu, artan potasyum sorbat miktarına bağlı olarak PUT oluşumunun arttığı ve faktörün bu parametre üzerinde etkisinin önemli ($P<0.05$) olduğu tespit edilmiştir. CAD üzerinde sodyum nitrit ile α -tokoferol interaksiyonunun önemli ($P<0.05$) olduğu saptanmıştır. Sodyum nitrit ve potasyum sorbatın artan konsantrasyonlarının SPD oluşumunu azalttığı ve faktörlerin bu parametre üzerinde etkilerinin çok önemli ($P<0.01$) olduğu tespit edilmiştir.

Biyojen amin bileşiklerinin birbirleri arasındaki ilişkiye bakıldığında; TRP ile HIS arasında pozitif korelasyon (0.560) varken PhA ile SPD arasında (-0.546) ve TyR ile SPM arasında (-0.592) negatif korelasyon olduğu ve bu ilişkilerin önemli ($P<0.05$) olduğu saptanmıştır. HIS ile TyR arasındaki ilişki çok önemli ($P<0.01$) pozitif korelasyon (0.642) gösterirken; TRP ile SPD arasında negatif bir ilişki (-0.655) olduğu ve bu korelasyonun çok önemli ($P<0.01$) olduğu tespit edilmiştir.

Türk tipi fermente sucuklarda depolamanın son gününde oluşan *N*-nitrozamin bileşiklerinin miktarlarını faktörler belirli bir düzeyde etkilemiştir. NDMA, NMEA, NDPA, NMOR, NPYR ve NDPhA bileşiklerinin oluşumu üzerinde faktörlerin etkilerinin önemli olmadığı bulunmuştur. NDEA üzerinde sodyum nitritin etkisinin önemli ($P<0.05$) olduğu ve sodyum nitritin artan konsantrasyonunun NDEA oluşumunu azalttığı tespit edilmiştir. α -tokoferol NPIP üzerinde önemli ($P<0.05$) bir etkiye sahipken, NDBA oluşumu üzerinde çok önemli ($P<0.01$) bir etkiye olduğu saptanmıştır.

N-nitrozamin bileşiklerinin birbirlerinin oluşumu üzerindeki etkisi göz önüne alındığında; NMEA ile NDEA arasında (0.624) ve NPIP ile NDMA arasında pozitif korelasyon (0.726) olduğu ve bu ilişkilerin çok önemli ($P<0.01$) olduğu tespit edilmiştir. NPIP ve NDBA arasında ise pozitif korelasyonun (0.562) önemli ($P<0.05$) olduğu saptanmıştır.

Farklı kombinasyonlar ve konsantrasyonlarda sodyum nitrit, α -tokoferol ve potasyum sorbat ilave edilerek üretilen Türk tipi fermente sucuğun 3 aylık depolamanın son gününde elde edilen iyon (NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^-) değerleri ile biyojen amin ve *N*-nitrozamin bileşiklerinin oluşumları arasında bir ilişki olmadığı tespit edilmiştir. Biyojen amin *N*-nitrozamin ilişkisine bakıldığında ise TyR ile NPYR arasındaki (0.510) ve TRP ile NDEA arasındaki (0.499) pozitif korelasyonun önemli ($P<0.05$) olduğu saptanmıştır.

Sucuğun mikrobiyolojik özellikleri ile ilgili yapılan analiz sonucunda; Mikrokok/Stafilokok ve Enterobakter sayıları üzerinde faktörlerin önemli bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Sodyum nitrit ve α -tokoferol miktarlarındaki artış TAMB sayısını önemli ($P<0.05$) düzeyde düşürmüştür. LAB üzerinde sodyum nitritin etkisinin önemli ($P<0.05$) olduğu saptanmıştır. Maya-küf sayısı üzerinde ise sodyum nitrit ve potasyum sorbatın etkilerinin çok önemli ($P<0.01$) olduğu, bu faktörlerin konsantrasyonlarındaki artış maya-küf sayısında önemli bir azalmaya sebep olmuştur.

Elde edilen tüm bu sonuçlara dayanarak, 3 ay depolanan Türk tipi fermente sucuk örneklerinin tümünde kalıntı nitrit miktarının tespit edilebilir limit (LOD) değerinin altında olduğu, oluşan nitrat miktarının ise son üründe maksimum olmasına izin verilen 50 ppm nitrit değerinden de daha az olduğu saptanmıştır. Uzun süre piyasada kalması planlanan fermente sucuklar için nitrat/nitrit güvenilirliği açısından bu çalışmanın yol gösterebileceği düşünülmektedir.

Biyojen aminlerden toksisitesi yüksek olan HIS, TRP, PhA bileşiklerinin oluşumu üzerinde faktörlerin etkisi istatistiksel bir farklılığa sebep olmamasına karşın, tüm kombinasyonlarda belirtilen toksik dozun altında oldukları tespit edilmiştir.

Uçucu *N*-nitrozaminlere insan maruziyetinin tolerans düzeyinin 5–10 $\mu\text{g/kg}$ vücut ağırlığı aralığında olduğu belirtilmiş olup karsinojenik etkisi en fazla olan NDMA bileşiğinin 20 ppm seviyelerine maruz kalmanın karaciğer kanserine sebep olabileceği bildirilmiştir. Bu çalışmada elde edilen *N*-nitrozamin bileşiklerinin oluşumu değerlendirildiğinde; tüm bileşikler için karsinojenik dozun altında olduğu belirlenmiştir. *N*-nitrozamin oluşumunu yüksek sıcaklıklarda ısıtma işlemi uygulaması artırdığı için ısıtma işlemi sonrası değişimlerin de değerlendirilmesi tavsiye edilmektedir.

Son olarak; genellikle güvenli olarak kabul edilen (GRAS) katkı maddelerinden potasyum sorbat ve doğal antioksidan α - tokoferolün fermente sucuk üretiminde sodyum nitrit ile kombinasyon halinde kullanımının kalıntı nitrit miktarını önemli düzeyde azaltabileceği kanaatine varılmıştır. Bu çalışmanın kalıntı nitrit, biyojen amin, *N*-nitrozamin oluşumlarının azaltılabilmesi için yapılacak çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.



6. KAYNAKLAR

(Bu tez çalışmasında Vancouver atıf sistemi kullanılmıştır.)

1. Kurt Ş. Sucuğun Bazı Özellikleri ve Biyogen Amin Oluşumu Üzerinde Fermentasyon Süresi, Nitrit ve Isıl İşlem Sıcaklığı Etkisi. [Van]: Danışman: Prof. Dr. Ömer Zorba, Yüzüncü Yıl Üniversitesi; 2006.
2. Öziş G. Bazı Organik Asit ve Tuzlarının Fermente Sucuğun Bazı Özellikleri Üzerindeki Etkileri. [Bolu]: Danışman: Prof. Dr. Ömer Zorba, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi; 2014.
3. Gökalp HY, Kaya M, Zorba Ö. Et Ürünleri İşleme Mühendisliği. Erzurum: Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi; 2010. 203–238 p.
4. Parthasarathy DK, Bryan NS. Sodium nitrite: The “cure” for nitric oxide insufficiency. *Meat Sci.* 2012;92(3):274–9.
5. Kurt Ş, Zorba Ö. The effects of ripening period, nitrite level and heat treatment on biogenic amine formation of “sucuk” - A Turkish dry fermented sausage. *Meat Sci.* 2009 Jun;82(2):179–84.
6. Lundberg JO, Larsen FJ, Weitzberg E. Supplementation with nitrate and nitrite salts in exercise: A word of caution. *J Appl Physiol.* 2011;111(2):616–7.
7. Hammes WP. Metabolism of nitrate in fermented meats: The characteristic feature of a specific group of fermented foods. *Food Microbiol.* 2012 Apr;29(2):151–6.
8. Sindelar JJ, Milkowski AL. Human safety controversies surrounding nitrate and nitrite in the diet. In: *Nitric Oxide - Biology and Chemistry.* 2012. p. 259–66.
9. Archer DL. Evidence that Ingested Nitrate and Nitrite Are Beneficial to Health †. Vol. 65, *Journal of Food Protection.* 2002.
10. Byun MW, Ahn HJ, Kim JH, Lee JW, Yook HS, Han SB. Determination of volatile N-nitrosamines in irradiated fermented sausage by gas chromatography coupled to a thermal energy analyzer. *J Chromatogr A.* 2004;1054:403–7.
11. De Mey E, De Klerck K, De Maere H, Dewulf L, Derdelinckx G, Peeters MC, et al. The occurrence of N-nitrosamines, residual nitrite and biogenic amines in commercial dry fermented sausages and evaluation of their occasional relation. *Meat Sci.* 2014;96(1):821–8.
12. Özel MZ, Gogus F, Yagci S, Hamilton JF, Lewis AC. Determination of volatile nitrosamines in various meat products using comprehensive gas chromatography-nitrogen chemiluminescence detection. *Food Chem Toxicol.* 2010;48:3268–73.
13. Domańska-Blicharz K, Rachubik J, Kowalski B. Occurrence of volatile N-nitrosamines in Polish tinned foods. *Bull Vet Inst Pulawy.* 2005;49(3):319–22.
14. Anonim. International Agency for Research on Cancer (IARC): Some N-nitroso compounds. Lyon: World Health Organization; 1978. 1–350 p.
15. Li X, Bei E, Qiu Y, Xiao H, Wang J, Lin P, et al. Intake of volatile nitrosamines by Chinese residents in different provinces via food and drinking water. *Sci Total Environ.* 2021;754:142121.
16. Herrmann SS, Duedahl-Olesen L, Granby K. Occurrence of volatile and non-volatile N-nitrosamines in processed meat products and the role of heat treatment. *Food Control.* 2015;48:163–9.
17. De Mey E, De Maere H, Paelinck H, Fraeye I. Volatile N-nitrosamines in meat products: Potential precursors, influence of processing, and mitigation strategies. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2017;57(13):2909–23.
18. Campillo N, Viñas P, Martínez-Castillo N, Hernández-Córdoba M. Determination of volatile

- nitrosamines in meat products by microwave-assisted extraction and dispersive liquid-liquid microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2011;1218(14):1815–21.
19. Sun F, Kong B, Chen Q, Han Q, Diao X. N-nitrosoamine inhibition and quality preservation of Harbin dry sausages by inoculated with *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus curvatus* and *Lactobacillus sake*. *Food Control*. 2017;73:1514–21.
 20. Wang Y, Li F, Zhuang H, Chen X, Li L, Qiao W, et al. Effects of plant polyphenols and α -tocopherol on lipid oxidation, residual nitrites, biogenic amines, and N-nitrosamines formation during ripening and storage of dry-cured bacon. *LWT - Food Sci Technol*. 2015;60(1):199–206.
 21. Wei F, Xu X, Zhou G, Zhao G, Li C, Zhang Y, et al. Irradiated Chinese Rugao ham: Changes in volatile N-nitrosamine, biogenic amine and residual nitrite during ripening and post-ripening. *Meat Sci*. 2009;81(3):451–5.
 22. Warthesen JJ, Scanlan RA, Bills DD, Libbey LM. Formation of Heterocyclic JV-Nitrosamines from the Reaction of Nitrite and Selected Primary Diamines and Amino Acids. *J Agric Food Chem*. 1975;23(5):898–902.
 23. Suzzi G, Gardini F. Biogenic amines in dry fermented sausages: A review. *Int J Food Microbiol*. 2003;88(1):41–54.
 24. Latorre-Moratalla ML, Bover-Cid S, Aymerich T, Marcos B, Vidal-Carou MC, Garriga M. Aminogenesis control in fermented sausages manufactured with pressurized meat batter and starter culture. *Meat Sci*. 2007;75(3):460–9.
 25. Bardocz S. Polyamines in food and their consequences for food quality and human health. 1995;6:2–7.
 26. Drabik-markiewicz G, Dejaegher B, Mey E De, Kowalska T, Paelinck H, Heyden Y Vander. Influence of putrescine, cadaverine, spermidine or spermine on the formation of N-nitrosamine in heated cured pork meat. *Food Chem*. 2011;126(4):1539–45.
 27. Hernández-Jover T, Izquierdo-Pulido M, Veciana-Nogués MT, Mariné-Font A, Vidal-Carou MC. Biogenic Amine and Polyamine Contents in Meat and Meat Products. *J Agric Food Chem*. 1997;45(6):2098–102.
 28. Herrmann SS, Granby K, Duedahl-Olesen L. Formation and mitigation of N-nitrosamines in nitrite preserved cooked sausages. *Food Chem*. 2015;174:516–26.
 29. Al-Shuibi AM, Al-Abdullah BM. Substitution of nitrite by sorbate and the effect on properties of Mortadella. *Meat Sci*. 2002;62(4):473–8.
 30. Radcliffe CE, Lamb R, Blinkhorn AS, Drucker DB. Effect of sodium nitrite and ascorbic acid on the growth and acid production of *Streptococcus mutans*. *J Dent*. 2003;31(5):367–70.
 31. Anonim. The World Health Organization (WHO) “Q&A on the carcinogenicity of the consumption of red meat and processed meat” [Internet]. 2015. Available from: <https://www.who.int/features/qa/cancer-red-meat/en/>
 32. Anonim. GB/T 5009.26-Determination of N-nitrosamines in foods [Internet]. Criterion of the People’s Republic of China; 2003. Available from: <https://www.codeofchina.com/standard/GB5009.26-2016.html>
 33. Anonim. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) “Yıllık Sanayi Ürün İstatistikleri” [Internet]. 2020. Available from: <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=63&locale=tr>
 34. Lafarga T, Hayes M. Bioactive peptides from meat muscle and by-products: Generation, functionality and application as functional ingredients. *Meat Sci*. 2014;98:227–39.
 35. Wolk A. Potential health hazards of eating red meat. *J Intern Med*. 2017;281(2):106–22.
 36. Godfray HCJ, Aveyard P, Garnett T, Hall JW, Key TJ, Lorimer J, et al. Meat consumption, health, and the environment. *Science* (80-). 2018;361(243):1–8.

37. Bouvard V, Loomis D, Guyton KZ, Grosse Y, Ghissassi F El, Benbrahim-Tallaa L, et al. Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. *Lancet Oncol.* 2015;16:1599–600.
38. Boada LD, Henríquez-Hernández LA, Luzardo OP. The impact of red and processed meat consumption on cancer and other health outcomes: Epidemiological evidences. *Food Chem Toxicol.* 2016;92:236–44.
39. Kılıç B. Current trends in traditional Turkish meat products and cuisine. *LWT - Food Sci Technol.* 2009;42(10):1581–9.
40. Anonim. TS 1070; Türk Sucuğu. Türk Standartları Enstitüsü Necatibey Caddesi No.112 Bakanlıklar-Ankara; 2012.
41. Lücke FK. Utilization of microbes to process and preserve meat. *Meat Sci.* 2000;56(2):105–15.
42. Caplice E, Fitzgerald GF. Food fermentations: Role of microorganisms in food production and preservation. *Int J Food Microbiol.* 1999;50(1–2):131–49.
43. Şanes A. Kalorisi ve Yağ Miktarı Alatılmış Fonksiyonel (Diyet) Sucuk Üretimi. Danışman : Yrd. Doç. Dr. Beraat Özçelik. İstanbul Teknik Üniversitesi; 2006.
44. Ammor S, Dufour E, Zagorec M, Chaillou S, Chevallier I. Characterization and selection of *Lactobacillus sakei* strains isolated from traditional dry sausage for their potential use as starter cultures. *Food Microbiol.* 2005;22(6):529–38.
45. Leuschner RGK, Hammes WP. Tyramine degradation by micrococci during ripening of fermented sausage. *Meat Sci.* 1998;49(3):289–96.
46. Hammes WP, Hertel C. New developments in meat starter cultures. *Meat Sci.* 1998;49(SUPPL. 1):125–38.
47. Casaburi A, Di Monaco R, Cavella S, Toldrá F, Ercolini D, Villani F. Proteolytic and lipolytic starter cultures and their effect on traditional fermented sausages ripening and sensory traits. *Food Microbiol.* 2008;25:335–47.
48. Lizaso G, Chasco J, Beriain MJ. Microbiological and biochemical changes during ripening of salchichon, a Spanish dry cured sausage. *Food Microbiol.* 1999;16(3):219–28.
49. Díaz O, Fernandez M, Garcia De Fernando GD, De La Hoz L, Ordoñez JA. Proteolysis in dry fermented sausages: The effect of selected exogenous proteases. *Meat Sci.* 1997;46(1):115–28.
50. Doeun D, Davaatseren M, Chung MS. Biogenic amines in foods. *Food Sci Biotechnol.* 2017;26(6):1463–74.
51. Pereira CI, Crespo MTB, Romão MVS. Evidence for proteolytic activity and biogenic amines production in *Lactobacillus curvatus* and *L. homohiochii*. *Int J Food Microbiol.* 2001;68(3):211–6.
52. Shalaby AR, El-Rahman HAA. Effect of potassium sorbate on development of biogenic amines during sausage fermentation. *Nahrung.* 1995;39(4):308–15.
53. Ruiz-Capillas C, Jiménez-Colmenero F. Biogenic amines in meat and meat products. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2005;44(7–8):489–599.
54. Halasz, Barath, Simon-Sarkadi, Holzapfel. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends Food Sci Technol.* 1994;51:42–9.
55. Kalac P. Biologically active polyamines in beef , pork and meat products : A review. *Meat Sci.* 2006;73:1–11.
56. Rice SL, Eitenmiller RR, Koehler PE. Biologically Active Amines in Food : A Review. *J Milk Food Technol.* 1976;39(5):353–8.
57. Vinci G, Antonelli ML. Biogenic amines: Quality index of freshness in red and white meat. *Food Control.* 2002;13(8):519–24.

58. Genççelep H. Sucuk Üretiminde Değişik Starter Kültürler ve Farklı Nitrit Seviyelerinin Biyojen Amin Oluşumu Üzerine Etkileri. Danışman: Prof. Dr. Mükerrrem Kaya. Atatürk Üniversitesi; 2006.
59. Santos MHS. Biogenic amines : their importance in foods. *Int J Food Microbiol.* 1996;29:213–31.
60. Çolak H, Uğur M. Farklı muhafaza sıcaklığı ve süresinin fermente sucuklarda biyojen aminlerin oluşumu üzerine etkisi. *Turkish J Vet Anim Sci.* 2002;26(4):779–84.
61. Komprda T, Sládková P, Petirová E, Dohnal V, Burdychová R. Tyrosine- and histidine-decarboxylase positive lactic acid bacteria and enterococci in dry fermented sausages. *Meat Sci.* 2010;86(3):870–7.
62. Baka AM, Papavergou EJ, Pragalaki T, Bloukas JG, Kotzekidou P. Effect of selected autochthonous starter cultures on processing and quality characteristics of Greek fermented sausages. *LWT - Food Sci Technol.* 2011;44(1):54–61.
63. Bruna JM, Fernández M, Hierro EM, Ordóñez JA, De La Hoz L. Combined use of Pronase E and a fungal extract (*Penicillium aurantiogriseum*) to potentiate the sensory characteristics of dry fermented sausages. *Meat Sci.* 2000;54(2):135–45.
64. Kurt Ş, Ceylan HG. The effects of sausage casing with potassium sorbate on colour, microbiological properties and formation of biogenic amines of dry fermented sausage (s). *Carpathian J Food Sci Technol.* 2019;11(1):178–92.
65. Bodmer S, Imark C, Kneubühl M. Biogenic amines in foods: Histamine and food processing. *Inflamm Res.* 1999;48:296–300.
66. Ikonić P, Tasić T, Petrović L, Škaljac S, Jokanović M, Mandić A, et al. Proteolysis and biogenic amines formation during the ripening of Petrovska klobása, traditional dry-fermented sausage from Northern Serbia. *Food Control.* 2013;30(1):69–75.
67. Jastrzębska A, Kowalska S, Szłyk E. Studies of levels of biogenic amines in meat samples in relation to the content of additives. *Food Addit Contam - Part A.* 2016;33(1):27–40.
68. Bozkurt H, Erkmen O. Formations of biogenic amines in Turkish style sausage during ripening and storage periods. *J Food Qual.* 2002;25(4):317–32.
69. Mah JH, Kim YJ, Hwang HJ. Inhibitory effects of garlic and other spices on biogenic amine production in Myeolchi-jeot, Korean salted and fermented anchovy product. *Food Control.* 2009;20(5):449–54.
70. Govari M, Pexara A. Nitrates and nitrites in meat products. *J Hell Vet Med Soc.* 2015;66(3):127–40.
71. Pierson MD, Smoot LA. Nitrite, nitrite alternatives, and the control of clostridium botulinum in cured meats. *C R C Crit Rev Food Sci Nutr.* 1983;17(2):141–87.
72. Tarr BHLA. The Action of Nitrites Bacteria. *J Fish Res Bd Can.* 1941;5(3):265–75.
73. Tarr BHLA. The Action of Nitrites on Bacteria: Further Experiments. *Anal pendapatan dan tingkat Kesejaht rumah tangga petani.* 1942;53(9):1689–99.
74. Markus ZH, Silverman GJ. Factors affecting the secretion of staphylococcal enterotoxin A. *Appl Microbiol.* 1970;20(3):492–6.
75. Fox JB. The Chemistry of Meat Pigments. *J Agric Food Chem.* 1966;14(3):207–10.
76. Fox JB, Nicholas RA. Nitrite in Meat. Effect of Various Compounds on Loss of Nitrite. *J Agric Food Chem.* 1974;22(2):302–6.
77. Gøtterup J, Olsen K, Knøchel S, Tjener K, Stahnke LH, Møller JKS. Colour formation in fermented sausages by meat-associated staphylococci with different nitrite- and nitrate-reductase activities. *Meat Sci.* 2008;78:492–501.
78. Kobayashi J. Effect of diet and gut environment on the gastrointestinal formation of N-nitroso compounds: A review. *Nitric Oxide - Biol Chem.* 2018;73:66–73.

79. Cassens RG. Nitrite-Cured Meat. A Food Safety Issue in Perspective. *Meat Sci.* 1991;30:385–6.
80. Sebranek JG, Cassens RG, Hoekstra WG, Winder WC, Podebradsky E V., Kielsmeier EW. 15N Tracer Studies of Nitrite Added To a Comminuted Meat Product. *J Food Sci.* 1973;38:1220–3.
81. Herz, K O, Chang SS. Meat Flavor. In New Jersey: Department of Food Science, The State University; 1970. p. 1–83.
82. Gray JI, Macdonald B, Pearson AM, Morton ID. Role of Nitrite in Cured Meat Flavor: A Review. *J Food Prot.* 1981;44(4):302–12.
83. Brooks J, Haines RB, Moran T, Pace J. The function of nitrate, nitrite and bacteria in the curing of bacon and hams. In: Regulation of Food Additives and Medicated Animal Feeds. Washington: U.S. Government Printing Office; 1940. p. 281–6.
84. Wasserman AE, Talley F. The Effect of Sodium Nitrite on the Flavor of Frankfurters. *J Food Sci.* 1972;37:536–8.
85. Sales CA, Bowers JA, Kropp D. Consumer Acceptability of Turkey Frankfurters With 0, 40, and 100 ppm Nitrite. *J Food Sci.* 1980;45(4):1060–1.
86. Watts BM. Oxidative Rancidity and Discoloration in Meat. *Adv Food Res.* 1954;5(C):1–52.
87. Tarladgis BG. An hypothesis for the mechanism of the heme catalyzed lipid oxidation in animal tissues. *J Am Oil Chem Soc.* 1961;38(9):479–83.
88. Park JE, Seo JE, Lee JY, Kwon H. Distribution of Seven N-Nitrosamines in Food. *Toxicol Res.* 2015;31(3):279–88.
89. Cassens RG. Composition and safety of cured meats in the USA. *Food Chem.* 1997;59(4):561–6.
90. Bozkurt H, Erkmen O. Effect of nitrate/nitrite on the quality of sausage (sucuk) during ripening and storage. *J Sci Food Agric.* 2004;84(3):279–86.
91. Jo C, Ahn HJ, Son JH, Lee JW, Byun MW. Packaging and irradiation effect on lipid oxidation, color, residual nitrite content, and nitrosamine formation in cooked pork sausage. *Food Control.* 2003;14(1):7–12.
92. Shahidi F, Pegg RB. Nitrite alternatives for processed meats. *Dev Food Sci.* 1995;37(C):1223–41.
93. Mirvish SS. Role of N-nitroso compounds (NOC) and N-nitrosation in etiology of gastric, esophageal, nasopharyngeal and bladder cancer and contribution to cancer of known exposures to NOC. Vol. 93, *Cancer Letters.* 1995.
94. Lopez-Moreno C, Perez IV, Urbano AM. Development and validation of an ionic chromatography method for the determination of nitrate, nitrite and chloride in meat. *Food Chem.* 2016;194:687–94.
95. Scanlan RA. Volatile nitrosamines in foods-an update. *Dev Food Sci.* 1995;37:685–704.
96. Sallan S. Fermente Sucukta Nitrozamin Oluşumuna Karabiber Seviyesi, Sodyum Askorbat Kullanımı ve Pişirme Derecesinin Etkileri. Danışman: Prof. Dr. Mükerrrem Kaya, Atatürk Üniversitesi; 2018.
97. Miller BJ, Billedeau SM, Miller DW. Formation of N-nitrosamines in microwaved versus skillet-fried bacon containing nitrite. *Food Chem Toxicol.* 1989;27(5):295–9.
98. Beatriz M, Glória A, Barbour JF, Scanlan RA. Volatile Nitrosamines in Fried Bacon. *J Agric Food Chem.* 1997;45:1816–8.
99. Wuana R, Ogbodo C. Nitrite, Nitrate and Nitrosamine Concentrations in Common Wine Brands, Malt Drinks and Fruit Juices in Makurdi, Benue State. *FUW Trends Sci Technol J.* 2017;2:543–9.
100. Herrmann SS. N-nitrosamines in processed meat products-analysis, occurrence, formation, mitigation and exposure. Technical University of Denmark; 2014.

101. Qiu Y, Chen JH, Yu W, Wang P, Rong M, Deng H. Contamination of Chinese salted fish with volatile N-nitrosamines as determined by QuEChERS and gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Food Chem.* 2017;232:763–9.
102. Crews C. The determination of N- nitrosamines in food. *Qual Assur Saf Crop Foods.* 2010;(1975):2–12.
103. Molognoni L, Daguer H, Motta GE, Merlo TC, Lindner JDD. Interactions of preservatives in meat processing: Formation of carcinogenic compounds, analytical methods, and inhibitory agents. *Food Res Int.* 2019;125:1–17.
104. Sen NP, Miles WF, Donaldson B, Panalays T, İyengar JR. Formation of Nitrosamines in Meat Curing Mixture. *Nature.* 1973;245:104–5.
105. Mottram DS, Patterson RLS, Rhodes DN, Gough TA. Influence of Ascorbic Acid and pH on the Formation of N-nitrosodimethylamine in Cured Pork Containing Added Dimethylamine. *J Sci Fd Agric.* 1975;26:47–53.
106. Lijinsky W, Epstein SS. Nitrosamines as Environmental Carcinogens. *Nature.* 1970;225:21–3.
107. Behnlian D, Butz P, Greiner R, Lautenschlaeger R. Process-induced undesirable compounds : Chances of non-thermal approaches. *Meat Sci.* 2014;98(3):392–403.
108. Crews C. Processing Contaminants: N-Nitrosamines. *Encycl Food Saf.* 2014;2:409–15.
109. Drabik-Markiewicz G, Van den Maagdenberg K, De Mey E, Deprez S, Kowalska T, Paelinck H. Role of proline and hydroxyproline in N-nitrosamine formation during heating in cured meat. *Meat Sci.* 2009;81(3):479–86.
110. Andrée S, Jira W, Schwind K, Wagner H, Schwägele F. Chemical safety of meat and meat products. *Meat Sci.* 2010;86(1):38–48.
111. Ayanaba A, Alexander M. Microbial Formation of Nitrosamines In Vitro. *Appl Microbiol.* 1973;25(6):862–8.
112. Robach MC, Owens JL, Paquette hf W, Sofos JN, Busta FF. Effects of Various Concentrations of Sodium Nitrite and Potassium Sorbate on Nitrosamine Formation in Commercially Prepared Bacon. *J Food Sci.* 1980;45:1280–4.
113. Xiao Y, Li P, Zhou Y, Ma F, Chen C. Effect of inoculating *Lactobacillus pentosus* R3 on N-nitrosamines and bacterial communities in dry fermented sausages. *Food Control.* 2018;87:126–34.
114. Yurchenko S, Mölder U. The occurrence of volatile N-nitrosamines in Estonian meat products. *Food Chem.* 2007;100(4):1713–21.
115. Akan S, Demirağ MK. The factors affecting biogenic amines formation in the foods and transformation of biogenic amines to other compounds. *Pamukkale Univ J Eng Sci.* 2018;24(7):1388–92.
116. Scanlan RA. Nitrosamines. In: *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition.* Second Edi. Maryland; 2003. p. 4142–7.
117. Jiang J, Xiong YL. Natural antioxidants as food and feed additives to promote health benefits and quality of meat products: A review. *Meat Sci.* 2016;120:107–17.
118. Järvinen R, Erkkilä AT. Tocopherols: Physiology and Health Effects. *Encycl Food Heal.* 2015;303–8.
119. De Camargo AC, Franchin M, Shahidi F. Tocopherols and tocotrienols: Sources, analytical methods, and effects in food and biological systems. *Encycl Food Chem.* 2018;3:561–70.
120. Nassu RT, Gonçalves LAG, Da Silva MAAP, Beserra FJ. Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant. *Meat Sci.* 2003;63(1):43–9.
121. Sallan S, Kaban G, Şişik Oğraş Ş, Çelik M, Kaya M. Nitrosamine formation in a semi-dry fermented sausage: Effects of nitrite, ascorbate and starter culture and role of cooking. *Meat Sci.* 2020;159:107917.

122. Fiddler W, Pensabene JW, Piotrowski EG, Phillips JG, Keating J, Mergens WJ, et al. Inhibition of Formation of Volatile Nitrosamines in Fried Bacon by the Use of Cure-Solubilized α -Tocopherol. Vol. 5, Annu. Rev. Phytopathol. Academic Press; 1974.
123. Pourazrang H, Moazzami AA, Fazly Bazzaz BS. Inhibition of mutagenic N-nitroso compound formation in sausage samples by using L-ascorbic acid and α -tocopherol. Meat Sci. 2002;62(4):479–83.
124. Pierre FH, Martin OC, Santarelli RL, Tache S, Naud N, Gueraud F, et al. Calcium and α -tocopherol suppress cured-meat promotion of chemically induced colon carcinogenesis in rats and reduce associated biomarkers in human volunteers 1 – 3. Am Soc Nutr. 2013;98:1255–62.
125. Fiddler W, Pensabene JW, Piotrowski EG, Phillips JG, Keating J, Mergens WJ. Inhibition of Formation of Volatile Nitrosamines in Fried Bacon by the Use of. J Agric Food Chem. 1978;26(3):653–6.
126. Binstok G, Campos C, Varela O, Gerschenson LN. Sorbate-nitrite reactions in meat products. Food Res Int. 1998;31(8):581–5.
127. Bozkurt H, Erkmen O. Food Chemistry Effects of some commercial additives on the quality of sucuk (Turkish dry-fermented sausage). Food Che. 2007;101:1465–73.
128. Robach MC, Sofos JN. Use of Sorbates in Meat Products, Fresh Poultry and Poultry Products: A Review. Vol. 45, Journal of Food Protection. 1982.
129. Sini TK, Santhosh S, Joseph AC, Ravisankar CN. Changes in the characteristics of Rohu fish (Labeo rohita) sausage during storage at different temperatures. J Food Process Preserv. 2008;32(3):429–42.
130. Klein D, Lafont P, Keshawarz A. Influence des Microorganismes Sur la Formation Des Nitrosamines. 1978;32(2):425–35.
131. Harada K. Microbial Degradation of Nitrosamines-II Effect of the Conditions of Growth and Enzymic Reaction on the Nitrosamine Breakdown. Bull Japanese Soc Sci Fish. 1980;46(6):723–6.
132. Rywotycki R. The influence of environment, mode of nutrition and animal species on level of nitrosamine contamination in venison. Meat Sci. 2003;65(3):1045–53.
133. Ruiz-Capillas C, Jiménez Colmenero F, Carrascosa A V., Muñoz R. Biogenic amine production in Spanish dry-cured “chorizo” sausage treated with high-pressure and kept in chilled storage. Meat Sci. 2007;77(3):365–71.
134. Bloukas JG, Paneras ED, Fournitzis GC. Effect of replacing pork backfat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausages. Meat Sci. 1997;45(2):133–44.
135. Rywotycki R. Meat nitrosamine contamination level depending on animal breeding factors. Meat Sci. 2003;65(1):669–76.
136. Spiegelhalter B, Preussmann R. Contamination of Toiletries and Cosmetic Products with Volatile and Nonvolatile N-Nitroso Carcinogens *. J Cancer Res Clin Oncol. 1984;108:160–3.
137. Gökalp HY, Kaya M, Tülek Y, Zorba Ö. Et ve Et Ürünlerinde Kalite Kontrolü ve Labotaruvar Uygulama Klavuzu. Erzurum: Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi; 2010. 81–181 p.
138. Hess J, editor. Meat and Meat Products. In: AOAC International. U.S.D.A.; 2000. p. 1–24.
139. Anonim. Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach 35 LMBG. Untersuchung von Leb Bestimmung des Gehaltes an Nichtprotein- Stickstoffsubstanz Fleischerzeugnissen. 1989;
140. Sallam KI, Ishioroshi M, Samejima K. Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chicken sausage. LWT - Food Sci Technol. 2004;37(8):849–55.
141. Bligh EG, Dyer WJ. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology. Can J Biochem Physiol. 1959;37(8):911–7.
142. Wong ML, Tim RE, Goh EM. Colorimetric determination of total tocopherols in palm oil, olein and

- stearin. *J Am Oil Chem Soc.* 1988;65(2):258–61.
143. Hunt RWG. Revised colour-Appearance model for related and unrelated colours. *Color Res Appl.* 1991;16(3):146–65.
 144. Eerola S, Riitta H, Erja L, Timo H. Liquid Chromatographic Determination of Biogenic Amines in Dry Sausages. *J AOAC Int.* 1993;76(3):575–577.
 145. APHA. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Third Edit. Washington: American Public Health Association; 1992.
 146. Rödel W, Stiebing A, Lüche FK, Schillinger U. Entwicklung eines Standars für die Herstellung von Salami nach Italienischer und Französischer Art. Unter Einsatz von Microorganismen. Kulmbach: Teilprojekt S. Bundesanstalt für Fleischforschung.; 1989. 40 p.
 147. Harrigan W F. Laboratory Methods in Food Microbiology. Third Edit. U.S.A: Academic Press Ltd.; 1988.
 148. Hussein MA, El-Ghareeb WR, Lotfy OO. Shelf life improvement of camel meat treated with potassium sorbate 0.3%. *J Am Sci.* 2012;8(4):507–11.
 149. Kayaardı S, Gök V. Effect of replacing beef fat with olive oil on quality characteristics of Turkish soudjouk (sucuk). *Meat Sci.* 2004;66(1):249–57.
 150. Kurt Ş. The effects of grape seed flour on the quality of Turkish dry fermented sausage (Sucuk) during ripening and refrigerated storage. *Korean J Food Sci Anim Resour.* 2016;36(3):300–8.
 151. Köseoğlu İE. Çeşitli Et Ürünlerinde Üretim Aşamalarının Yağ Asidi Bileşimi ve Yağ Oksidasyonu Üzerine Etkisi. danışman: Prof. Dr. Suzan Yalçın, Selçuk Üniversitesi; 2014.
 152. Aksu Mİ. The Effect of a-tocopherol, Storage Time and Storage Temperature on Peroxide Value, Free Fatty Acids and pH of Kavurma, a Cooked Meat Product. 2007;18:370–9.
 153. Honikel KO. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Sci.* 2008;78(1–2):68–76.
 154. Wu Z-X, Liu Y-X, Yu M-M, Yin F-W, Liu Z-Q, Li A, et al. Effect of chitosan coatings incorporated with antioxidant of bamboo leaves and potassium sorbate on lipid oxidation and hydrolysis of scallop (*Chlamys farreri*) during refrigerated storage. *J Food Bioact.* 2019;8:66–73.
 155. Berardo A, De Maere H, Stavropoulou DA, Rysman T, Leroy F, De Smet S. Effect of sodium ascorbate and sodium nitrite on protein and lipid oxidation in dry fermented sausages. *Meat Sci.* 2016 Nov 1;121:359–64.
 156. Ordóñez JA, Hierro EM, Bruna JM, De La Hoz L. Changes in the components of dry-fermented sausages during ripening. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 1999;39(4):329–67.
 157. Öztan A, Vural H, Helvacı R. Sosis Üretiminde Nitrosomyoglobin ve Kalıntı Nitrit Miktarını Etkileyen Faktörler. 1991. p. 117–21.
 158. Yıldız Ş. Timokinonun Rafine Ayçiçek ve Mısırozü Yağlarının Oksidatif Stabiliteleri Üzerine Etkileri. Danışman: Doç. Dr. Semra Turan. Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi; 2019.
 159. Üren A, Babayiğit D. Determination of Turkish-type fermented sausage colour by a reflectance method. *Food Chem.* 1996;57(4):561–7.
 160. Huang L, Zeng X, Sun Z, Wu A, He J, Dang Y, et al. Production of a safe cured meat with low residual nitrite using nitrite substitutes. *Meat Sci.* 2020;162(May 2019):108027.
 161. Pérez-Alvarez JA, Sayas-Barberá ME, Fernández-López J, Aranda-Catalá V. Physicochemical characteristics of Spanish-type dry-cured sausage. *Food Res Int.* 1999;32(9):599–607.
 162. Ekici K, Şekeroğlu R, Sancak YC, Noyan T. A note on histamine levels in Turkish style fermented

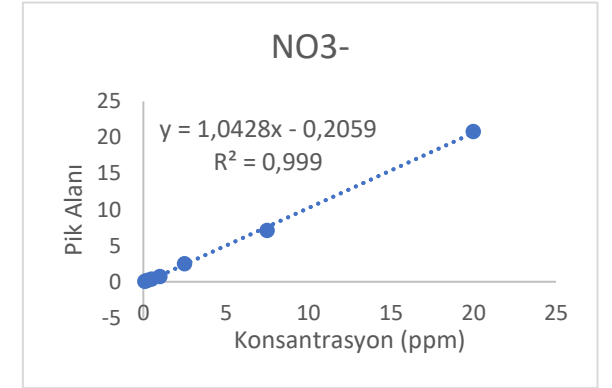
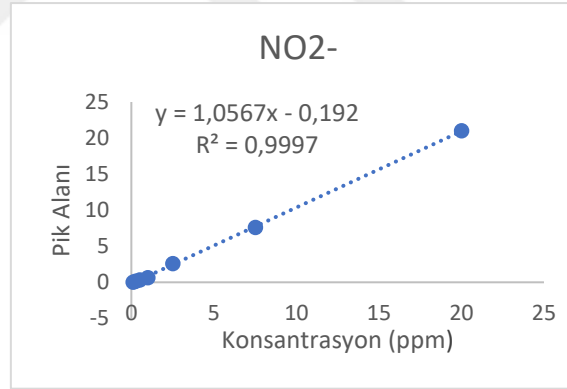
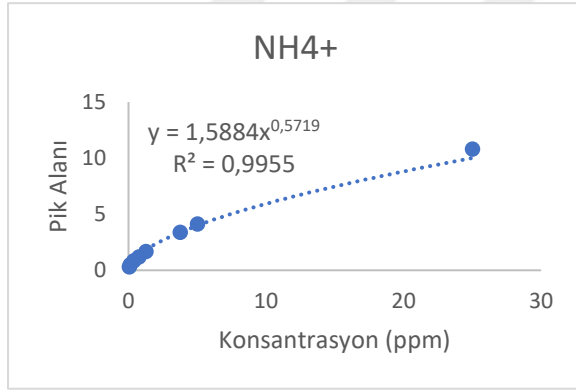
- sausages. *Meat Sci.* 2004;68(1):123–5.
163. Ekici K, Coskun H. Histamine Contents of Some Commercial Vegetable Pickles. *Pakistan J Nutr.* 2004;3(3):197–8.
164. Genççelep H. Fermente Et Ürünlerinde Kullanılan Starter Kültürlerin Biyojen Amin Oluşturma Özellikleri. *Teknol Araştırmalar GTED.* 2008;3:21–9.
165. Genççelep H, Kaban G, Kaya M. Effects of starter cultures and nitrite levels on formation of biogenic amines in sucuk. *Meat Sci.* 2007;77(3):424–30.
166. Taşçı F. Effects of Consumption of Meat and Processed Meat on Public Health. *Bilge Int J Sci Technol Res.* 2019 Sep 30;3(2):231–45.
167. Molognoni L, Daguer H, Motta GE, Merlo TC, Lindner JDD. Interactions of preservatives in meat processing: Formation of carcinogenic compounds, analytical methods, and inhibitory agents. *Food Res Int.* 2019 Nov 1;125:1–17.
168. Sofos JN, Busta FF, Allen CE. Botulism Control by Nitrite and Sorbate in Cured Meats: A Review1. *J Food Prot.* 1979;42(9):739–70.
169. Yurchenko S, Mölder U. The occurrence of volatile N-nitrosamines in Estonian meat products. *Food Chem.* 2007;100:1713–21.
170. Kurt Ş, Zorba Ö. The Microbiological Quality of Turkish Dry Fermented Sausage (Sucuk), as Affected by Ripening Period, Nitrite Level and Heat Treatment. Vol. 16, *Food Sci. Technol. Res.* 2010.
171. Thomas L V., Delves-Broughton J. Preservatives: Permitted Preservatives - Sorbic Acid. Second Edi. Vol. 3, *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition.* Elsevier; 2014. 102–107 p.
172. Genççelep H, Andiç S, Köse Ş. Effects of potassium sorbate application on shelf life and biogenic amines of pearl mullet (*Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811) Fillets packaged with vacuum. *J Aquat Food Prod Technol.* 2014;23(4):347–57.
173. Bozkurt H, Erkmen O. Effects of starter cultures and additives on the quality of Turkish style sausage (sucuk). *Meat Sci.* 2002;61:149–56.
174. Anonim. Türk Gıda Kodeksi (TGK) Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği [Internet]. 2013. Available from: <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2013/06/20130630-4.htm>
175. Başyigit G, Karahan AG, Kılıç B. Fermente Et Ürünlerinde Fonksiyonel Starter Kültürler ve probiyotikler. *Türk Hij ve Deney Biyol Derg.* 2007;64(2):60–9.
176. Bozkurt H. Effects of Some Storage Conditions and Additives on Quality and Stability of Sucuk (Turkish Dry-Fermented Sausage). Danışman: Prof. Dr. Osman Erkmen, Gaziantep Üniversitesi; 2002.
177. Ercoşkun H. Isıl İşlem Uygulanarak Üretilen Sucukların Bazı Kalite Özelliklerine Fermentasyon Süresinin Etkileri. Danışman: Prof. Dr. A. Hamdi Ertaş. Ankara Üniversitesi; 2006.
178. Toldrá F. The role of muscle enzymes in dry-cured meat products with different drying conditions. *Trends Food Sci Technol.* 2006;17(4):164–8.
179. Gök V. Antioksidan Kullanımının Fermente Sucukların Bazı Kalite Özellikleri Üzerine Etkileri. Danışman: Prof. Dr. M. Ekin Şahin, Ankara Üniversitesi; 2006.
180. Benedict RC, Strange ED, Swift CE. Effect of Lipid Antioxidants on the Stability of Meat during Storage. *J Agric Food Chem.* 1975;23(2):167–73.
181. Wada S, Fang X. The Synergistic Antioxidant Effect of Rosemary Extract and α -tocopherol in Sardine Oil Model System and Frozen-Crushed Fish Meat. *J Food Process Preserv.* 1992;16:1–12.
182. Faustman C, Cassens RG, Schaefer DM, Buege DR, Williams SN, Scheller KK. Improvement of Pigment and Lipid Stability in Holstein Steer Beef by Dietary Supplementation with Vitamin E. *J Food*

Sci. 1989;54(4):858–62.

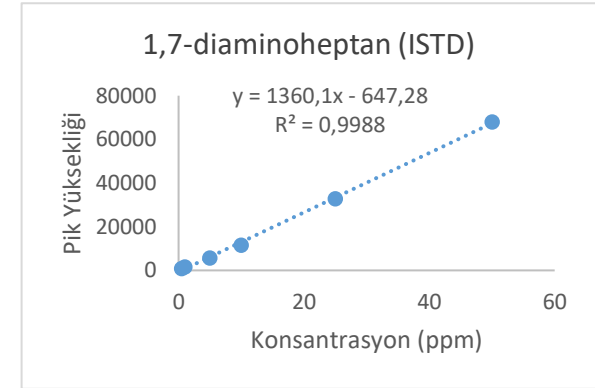
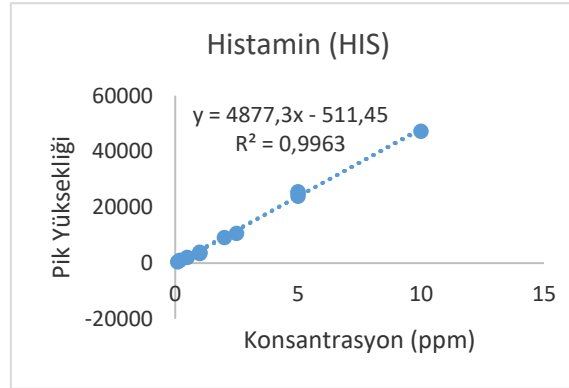
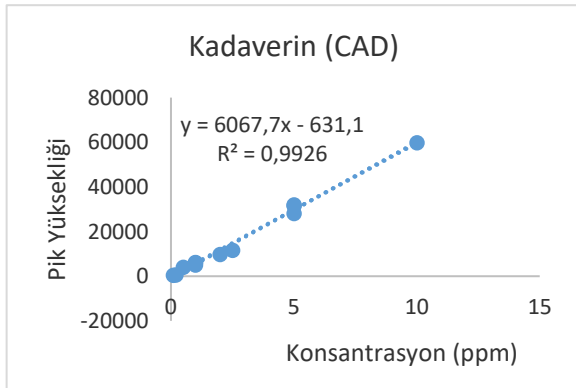
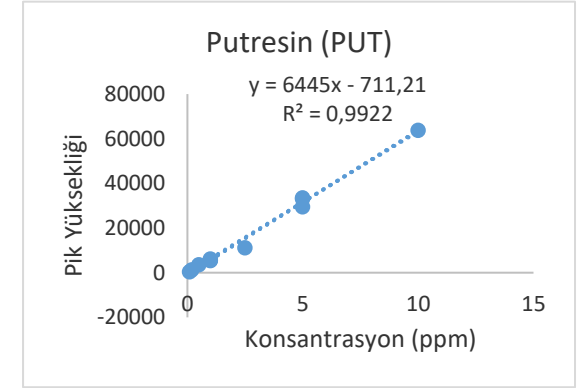
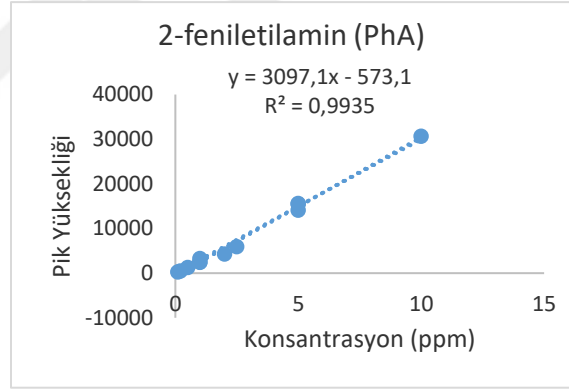
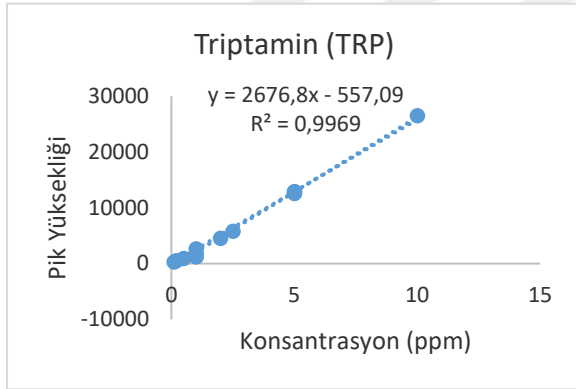
183. Greene BE, Price LG. Oxidation-Induced Color and Flavor Changes in Meat. *J Agric Food Chem.* 1975;23(2):164–7.
184. Montel MC, Masson F, Talon R. Bacterial role in flavour development. *Meat Sci.* 1998;49(SUPPL. 1):111–23.
185. Zanardi E, Dorigoni V, Badiani A, Chizzolini R. Lipid and colour stability of Milano-type sausages: Effect of packing conditions. *Meat Sci.* 2002;61(1):7–14.
186. Ansorena D, De Peña MP, Astiasarán I, Bello J. Colour evaluation of chorizo de Pamplona, a Spanish dry fermented sausage: Comparison between the CIE L*a*b* and the Hunter Lab Systems with Illuminants D65 and C. *Meat Sci.* 1997;46(4):313–8.
187. Gimeno O, Ansorena D, Astiasarán I, Bello J. Characterization of chorizo de Pamplona. *Food Chem.* 2000;69(2):195–200.
188. Ten Brink B, Damink C, Joosten HMLJ, Huis in 't Veld JHJ. Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *Int J Food Microbiol.* 1990;11(1):73–84.
189. Bover-Cid S, Holzapfel WH. Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol.* 1999;53(1):33–41.
190. Komprda T, Sládková P, Dohnal V. Biogenic amine content in dry fermented sausages as influenced by a producer, spice mix, starter culture, sausage diameter and time of ripening. *Meat Sci.* 2009;83:534–42.
191. Erkmen O, Bozkurt H. Quality Characteristics of Retailed Sucuk (Turkish Dry-Fermented Sausage). *Food Technol Biotechnol.* 2004;42(1):63–9.
192. Lorenzo JM, Martínez S, Franco I, Carballo J. Biogenic amine content during the manufacture of dry-cured lacón, a Spanish traditional meat product: Effect of some additives. *Meat Sci.* 2007;77(2):287–93.
193. Belitz HD, Grosch W, Schieberle P. *Lehrbuch der lebensmittelchemie.* 5. Vollst. überarb. Aufl. In: Springer-V. Berlin: Heidelberg; 2001.
194. Bharucha KR, Cross CK, Rubin LJ. Mechanism of N-nitrosopyrrolidine formation in bacon. *J Agric Food Chem.* 1979;27(1):63–9.
195. Jira W. A GC/MS method for the determination of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in smoked meat products and liquid smokes. *Eur Food Res Technol.* 2004;218:208–12.
196. Anonim. Report of studies on bacon processed with potassium sorbate. U.S.D.A.; 1979.
197. Turantaş F, Ünlütürk A. The effect of nitrite, garlic and starter culture on the survival of *Salmonella typhimurium* in Turkish soudjuk. *J Sci Food Agric.* 1993;61(1):95–9.
198. Blesa E, Aliño M, Barat JM, Grau R, Toldrá F, Pagán MJ. Microbiology and physico-chemical changes of dry-cured ham during the post-salting stage as affected by partial replacement of NaCl by other salts. *Meat Sci.* 2008;78(1–2):135–42.
199. Johansson G, Berdagué JL, Larsson M, Tran N, Borch E. Lipolysis, proteolysis and formation of volatile components during ripening of a fermented sausage with *Pediococcus pentosaceus* and *Staphylococcus xylosus* as starter cultures. *Meat Sci.* 1994;38(2):203–18.

7. EKLER

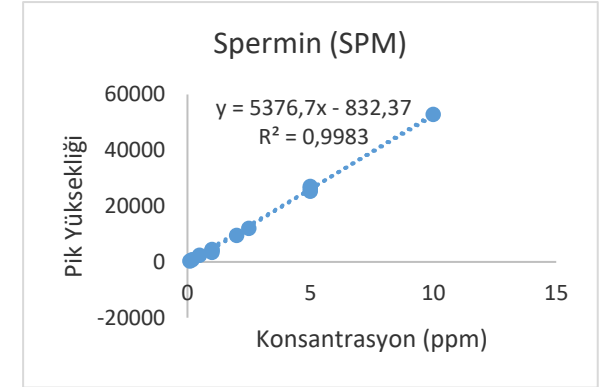
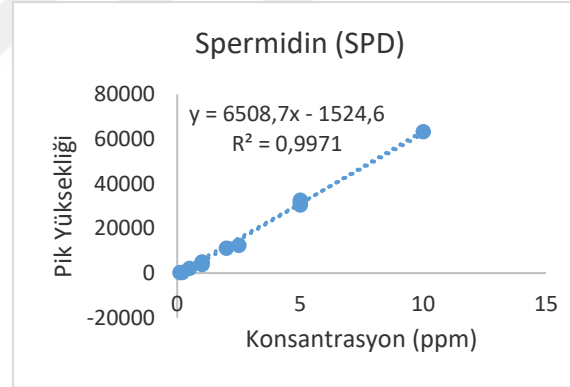
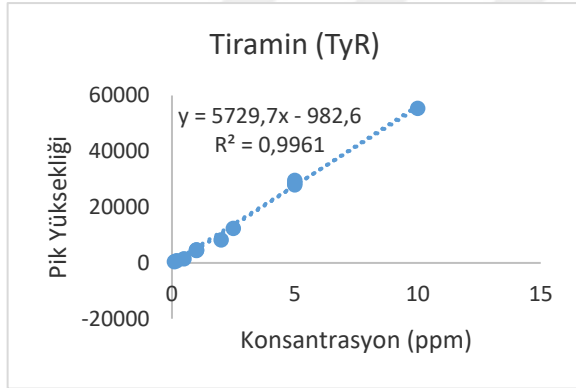
EK 1 NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- İyonlarına Ait Kalibrasyon Eğrileri



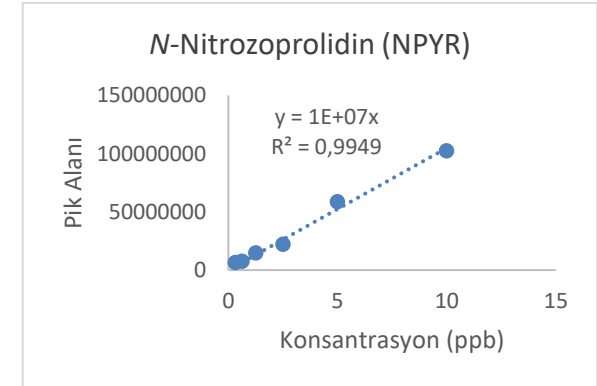
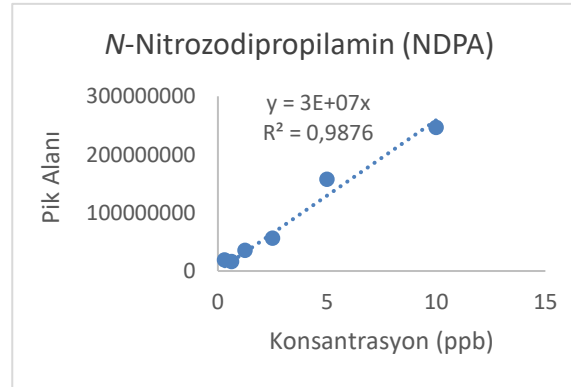
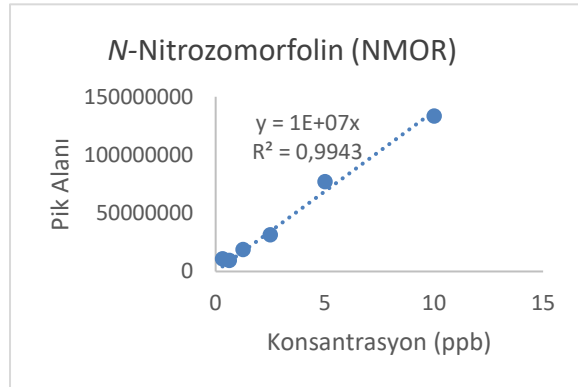
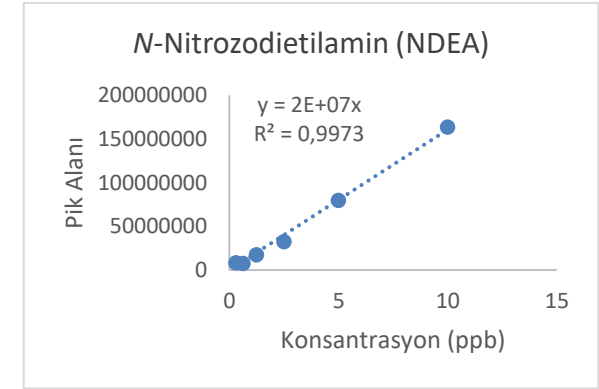
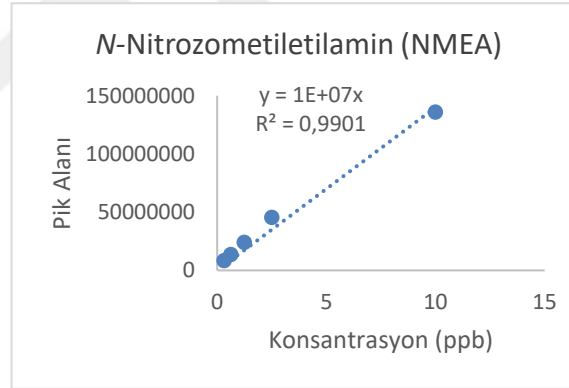
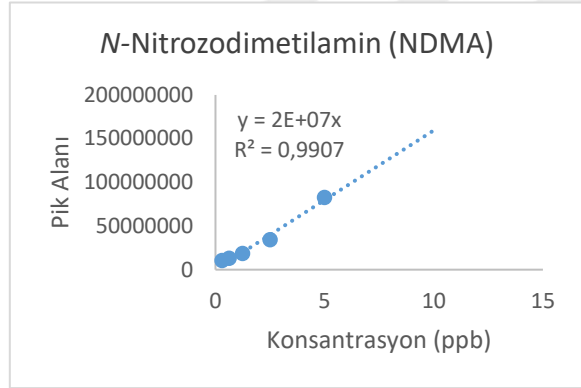
EK 2 Biyojen Amin Bileşiklerine Ait Kalibrasyon Eğrileri



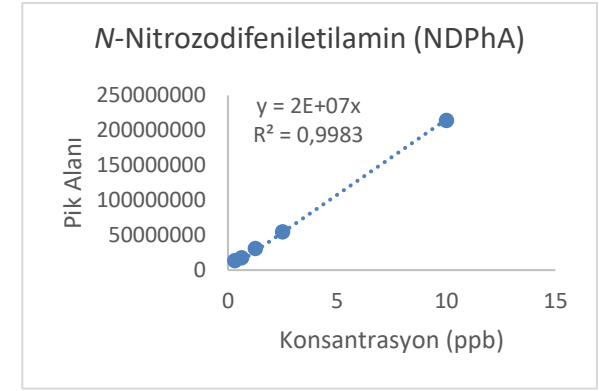
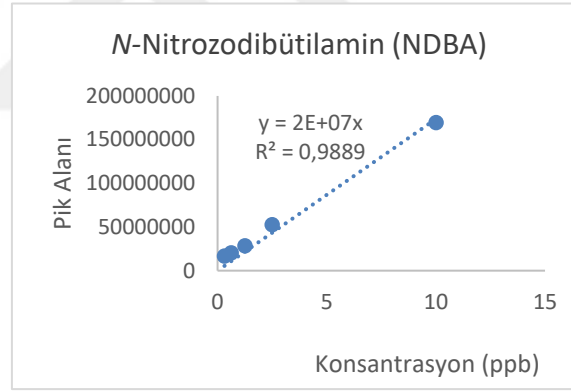
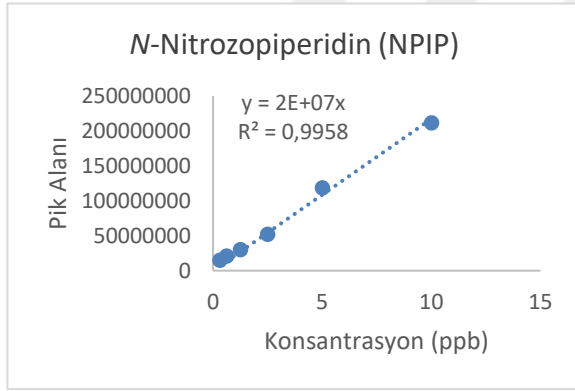
EK 2 Biyojen Amin Bileşiklerine Ait Kalibrasyon Eğrileri (Devamı)



EK 3 N-Nitrozamin Bileşiklerine Ait Kalibrasyon Eğrileri



EK 3 *N*-Nitrozamin Bileşiklerine Ait Kalibrasyon Eğrileri (Devamı)



EK 4 Fermantasyonun Son Gününde Kimyasal Analiz Sonuçlarına Ait Ortalama Değerler

S. No	Sodyum Nitrit	α - tokoferol	Potasyum Sorbat	pH	Nem	Yağ	Protein	Proteoliz	Lipoliz	Peroksit	TBA	NOMb	Toplam tokoferol	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻
	ppm	ppm	ppm		%	%	%	%	%	meq O ₂ / kg yağ	mg MA/ kg sucuk	%	mg/ kg sucuk	mg/ kg sucuk	mg/ kg sucuk	mg/ kg sucuk
1	0	0	0	4.94	42.23	24.22	24.07	13.47	1.17	0.43	0.31	15.17	63.56	8.70	0.01	6.85
2	0	0	3000	5.03	44.47	21.90	23.49	12.19	2.60	0.36	0.29	17.37	43.93	8.70	1.41	12.56
3	0	100	1500	4.98	42.47	29.93	24.23	23.09	1.64	0.53	0.26	22.84	50.29	8.70	1.43	11,34
4	0	200	0	4.95	40.50	26.26	22.50	13.43	1.59	0.50	0.22	16.71	146.49	8.70	1.32	10.50
5	0	200	3000	5.01	45.08	22.36	23.42	16.73	2.67	0.50	0.22	14,43	57.34	8.70	1.45	12.95
6	75	0	1500	4.99	41.84	25.17	26.50	35.32	2.63	0.57	0.22	27.51	87.73	8.70	1.55	19.54
7	75	100	0	4.95	44.10	25.25	26.93	42.78	1.57	0.40	0.18	25.63	73.06	8.70	1.28	14.03
8	75	100	1500	4.99	45.39	24.66	23.68	30.67	1.71	0.58	0.18	22.11	69.91	8.70	0.01	23.32
9	75	100	1500	4.99	44.73	25.30	26.38	85.67	1.60	0.51	0.19	24.85	40.23	8.70	1.35	22.89
10	75	100	3000	5.02	47.04	22.85	25.35	78.77	2.61	0.51	0.19	32.87	67.13	9.75	1.71	26.42
11	75	200	1500	4.98	45.37	23.96	25.49	54.96	3.01	0.61	0.17	40.66	141.07	8.70	0.01	25,97
12	150	0	0	4.96	42.15	24.98	24.30	15.29	1.44	0.53	0.16	35.33	68.03	8.70	3.57	24.07
13	150	0	3000	5.03	43.84	26.45	26.05	49.85	2.19	0.57	0.20	29.55	67.93	8.70	3.98	35.14
14	150	100	1500	5.00	43.92	25.01	26.78	75.06	1.71	0.53	0.16	55.80	74.30	11.53	1.47	28.07
15	150	200	0	4.96	45.46	24.05	24.73	71.11	1.38	0.58	0.17	33.83	180.03	8.70	1.60	23.28
16	150	200	3000	5.02	42.54	28.97	25.47	25.68	2.12	0.61	0.16	39.54	166.08	8.70	4.03	33.59

(NOMb: Nitrozomiyogloblin; NH₄⁺: Amonyum; NO₂⁻: Nitrit; NO₃⁻:Nitrat)

EK 5 Depolamanın Son Gününde Kimyasal Analiz Sonuçlarına Ait Ortalama Değerler

S. No	Sodyum Nitrit	α -tokoferol	Potasyum Sorbat	pH	Nem	Yağ	Protein	Proteoliz	Lipoliz	Peroksit	TBA	NOMb	Toplam tokoferol	NO ₃ ⁻
	ppm	ppm	ppm		%	%	%	%	%	meq O ₂ /kg yağ	mg MA/kg sucuk	%	mg/kg sucuk	mg/kg sucuk
1	0	0	0	5.65	36.98	34.66	26.07	23.17	1.52	0.80	1.90	6.72	4.34	3.89
2	0	0	3000	4.94	38.03	34.27	24.93	20.24	1.70	0.72	1.92	7.34	3.31	3.76
3	0	100	1500	4.90	40.25	31.63	25.05	15.48	1.72	0.64	1.97	8.64	24.05	3.31
4	0	200	0	6.15	40.02	33.46	23.57	17.17	1.18	0.79	1.81	5.49	24.87	3.54
5	0	200	3000	5.01	40.44	30.66	23.50	57.96	2.04	0.70	2.04	5.75	5.86	3.08
6	75	0	1500	4.90	39.56	33.86	25.65	74.40	1.47	0.85	1.73	13.15	1.87	4.31
7	75	100	0	6.24	36.90	32.28	25.86	28.27	1.28	0.71	1.67	12.23	18.23	0.01
8	75	100	1500	4.96	39.08	29.50	22.28	18.59	1.39	0.89	1.79	11.69	15.81	3.70
9	75	100	1500	4.94	37.90	28.90	22.92	75.77	2.19	0.81	1.73	11.86	15.74	3.29
10	75	100	3000	4.95	40.64	26.62	23.05	82.94	2.44	0.82	1.79	9.55	4.82	3.52
11	75	200	1500	4.94	38.27	28.31	25.94	82.36	2.00	0.68	1.12	13.24	7.78	3.49
12	150	0	0	6.25	36.04	30.23	28.53	29.68	1.63	0.80	1.65	11.06	4.64	0.01
13	150	0	3000	5.14	40.51	27.55	23.41	69.42	2.28	0.59	1.68	10.61	13.02	0.01
14	150	100	1500	4.99	38.22	26.80	24.85	91.46	1.80	0.63	1.66	15.74	17.84	0.01
15	150	200	0	6.13	36.92	26.67	26.67	66.21	1.69	0.60	1.65	6.34	6.03	0.01
16	150	200	3000	5.04	41.07	26.36	22.52	15.71	2.06	0.60	1.70	10.14	6.72	0.01

(NOMb: Nitrozomiyoglobin; NH₄⁺: Amonyum; NO₂⁻: Nitrit; NO₃⁻: Nitrat)

EK 6 Fermantasyonun Son Gününde Renk Ölçümlerine Ait Ortalama Değerler

S. No	Sodyum Nitrit	α -tokoferol	Potasyum Sorbat	L*iç	a*iç	b*iç	L*dış	a*dış	b*dış
	ppm	ppm	ppm						
1	0	0	0	49.69	13.82	11.72	31.94	12.93	6.25
2	0	0	3000	46.65	10.77	12.62	32.40	10.82	5.72
3	0	100	1500	49.76	16.69	13.51	32.75	12.05	7.01
4	0	200	0	50.90	16.00	12.90	33.61	13.25	7.43
5	0	200	3000	39.95	15.46	13.09	32.92	9.89	6.19
6	75	0	1500	51.18	17.97	12.57	33.51	15.48	7.12
7	75	100	0	48.89	18.70	13.74	36.31	17.21	9.32
8	75	100	1500	50.97	18.48	13.52	34.16	15.61	7.85
9	75	100	1500	48.71	18.27	13.40	39.13	14.81	8.23
10	75	100	3000	46.67	18.29	11.78	35.71	14.43	8.64
11	75	200	1500	52.16	17.62	12.32	33.58	14.04	7.26
12	150	0	0	48.92	17.16	12.51	34.65	16.79	8.92
13	150	0	3000	48.41	18.44	12.50	35.21	16.33	8.22
14	150	100	1500	50.34	18.72	13.51	35.21	17.29	8.94
15	150	200	0	49.47	19.45	14.01	35.74	17.09	8.76
16	150	200	3000	50.77	19.92	14.34	35.11	15.94	8.53

EK 7 Depolamanın Son Gününde Renk Ölçümlerine Ait Ortalama Değerler

S. No	Sodyum Nitrit	α -tokoferol	Potasyum Sorbat	L*iç	a*iç	b*iç	L*dış	a*dış	b*dış
	ppm	ppm	ppm						
1	0	0	0	52.34	10.67	11.52	38.01	6.18	7.76
2	0	0	3000	48.32	9.05	10.62	36.33	7.31	9.86
3	0	100	1500	49.94	8.85	10.56	38.23	7.08	10.39
4	0	200	0	48.18	16.82	12.88	43.37	7.29	9.80
5	0	200	3000	41.51	14.85	12.31	38.48	6.82	10.43
6	75	0	1500	50.25	16.55	11.62	39.30	11.36	10.31
7	75	100	0	51.32	16.59	12.35	40.49	12.79	11.35
8	75	100	1500	50.22	15.52	11.51	40.43	11.88	11.34
9	75	100	1500	51.57	17.74	12.33	38.84	11.28	10.06
10	75	100	3000	49.11	16.77	11.67	38.50	9.81	10.63
11	75	200	1500	48.15	17.15	11.95	38.60	11.61	10.71
12	150	0	0	48.76	16.16	11.98	38.64	12.06	10.63
13	150	0	3000	48.65	17.77	12.28	37.06	11.19	10.27
14	150	100	1500	51.43	16.50	11.42	37.61	11.71	9.92
15	150	200	0	51.86	16.01	13.00	39.75	11.96	11.13
16	150	200	3000	51.69	16.93	12.47	38.28	11.56	10.02

EK 8 Fermantasyonun Son Gününde Biyojen Amin Bileşiklerine Ait Ortalama Değerler

S. No	Sodyum Nitrit	α -tokoferol	Potasyum Sorbat	TRP	PhA	PUT	CAD	HIS	TyR	SPD	SPM
	ppm	ppm	ppm	mg/ kg sucuk	mg/ kg sucuk	mg/ kg sucuk	mg/ kg sucuk	mg/ kg sucuk	mg/ kg sucuk	mg/ kg sucuk	mg/ kg sucuk
1	0	0	0	40.43	32.73	14.40	57.65	15.67	22.18	93.51	28.32
2	0	0	3000	38.93	33.66	13.40	15.03	10.72	50.10	23.70	20.24
3	0	100	1500	37.96	36.25	14.57	39.89	17.59	55.99	20.45	16.26
4	0	200	0	45.06	36.35	12.97	52.95	16.66	22.20	30.78	15.72
5	0	200	3000	36.71	37.43	11.81	35.26	14.96	19.87	16.51	14.09
6	75	0	1500	37.52	38.39	9.59	8.52	14.04	15.78	53.42	12.04
7	75	100	0	38.36	29.26	11.76	25.96	17.76	22.18	67.19	17.36
8	75	100	1500	29.52	45.80	10.58	35.32	15.40	27.52	43.74	27.44
9	75	100	1500	46.08	40.84	20.89	14.93	36.23	19.95	61.94	16.29
10	75	100	3000	25.17	37.80	13.92	13.98	13.71	22.97	63.58	29.61
11	75	200	1500	29.86	41.22	12.64	16.97	12.00	17.05	50.79	18.42
12	150	0	0	47.70	37.04	9.67	38.52	18.11	20.21	48.99	11.62
13	150	0	3000	33.18	31.33	10.63	20.61	18.32	26.76	39.70	11.58
14	150	100	1500	37.31	39.62	13.92	60.56	17.45	22.69	15.39	27.62
15	150	200	0	42.38	36.14	13.68	18.27	19.52	19.60	60.89	16.38
16	150	200	3000	42.72	34.51	13.20	15.01	8.66	18.52	32.91	15.84

(TRP:Triptamin; PhA:2-feniletilamin; PUT:Putresin; CAD:Kadaverin; HIS:Histamin; Tyr:Tiramin; SPD:Spermidin; SPM:Spermin)

EK 9 Depolamanın Son Gününde Biyogen Amin Bileşiklerine Ait Ortalama Değerler

S. No	Sodyum Nitrit	α -tokoferol	Potasyum Sorbat	TRP	PhA	PUT	CAD	HIS	TyR	SPD	SPM
	ppm	ppm	ppm	mg/ kg sucuk	mg/ kg sucuk	mg/ kg sucuk	mg/ kg sucuk	mg/ kg sucuk	mg/ kg sucuk	mg/ kg sucuk	mg/ kg sucuk
1	0	0	0	46.18	34.47	9.41	12.49	15.17	20.50	61.69	22.20
2	0	0	3000	52.33	45.30	7.15	10.64	20.67	19.57	46.42	40.62
3	0	100	1500	57.62	33.03	14.38	14.07	18.04	22.26	50.60	26.21
4	0	200	0	37.84	33.61	13.18	16.38	9.90	17.05	79.36	38.52
5	0	200	3000	48.42	32.10	16.17	15.81	17.01	22.36	70.43	21.21
6	75	0	1500	37.39	27.39	12.62	13.75	11.50	19.03	85.82	31.45
7	75	100	0	34.57	35.56	11.55	12.01	11.08	20.25	115.08	27.93
8	75	100	1500	42.84	35.25	14.76	14.32	19.01	25.94	72.77	18.64
9	75	100	1500	39.17	36.58	12.49	7.82	10.00	19.46	71.15	27.58
10	75	100	3000	35.46	27.13	11.80	12.78	17.07	24.52	74.19	22.98
11	75	200	1500	44.61	39.77	15.19	13.04	10.80	17.75	78.31	34.54
12	150	0	0	48.19	27.26	10.57	19.77	15.08	21.64	85.01	18.59
13	150	0	3000	47.74	44.03	18.44	46.08	14.10	20.49	62.80	23.74
14	150	100	1500	36.59	38.33	8.96	13.08	11.75	22.77	56.93	33.13
15	150	200	0	31.76	23.28	7.27	11.52	13.96	21.94	116.71	29.29
16	150	200	3000	41.75	33.93	18.31	10.70	17.79	25.36	51.91	28.56

(TRP:Triptamin; PhA:2-feniletilamin; PUT:Putresin; CAD:Kadaverin; HIS:Histamin; Tyr:Tiramin; SPD:Spermidin; SPM:Spermin)

EK 10 Fermantasyonun Son Gününde *N*-Nitrozamin Bileşiklerine Ait Ortalama Değerler

S. No	Sodyum Nitrit	α -tokoferol	Potasyum Sorbat	NDMA	NMEA	NDEA	NDPA	NMOR	NPYR	NPIP	NDBA	NDPhA
	ppm	ppm	ppm	$\mu\text{g}/\text{kg}$ sucuk	$\mu\text{g}/\text{kg}$ sucuk	$\mu\text{g}/\text{kg}$ sucuk	$\mu\text{g}/\text{kg}$ sucuk	$\mu\text{g}/\text{kg}$ sucuk	$\mu\text{g}/\text{kg}$ sucuk	$\mu\text{g}/\text{kg}$ sucuk	$\mu\text{g}/\text{kg}$ sucuk	$\mu\text{g}/\text{kg}$ sucuk
1	0	0	0	16.90	1.63	0.19	159.40	1.64	2.17	0.43	3.30	0.00
2	0	0	3000	18.40	1.24	0.42	0.53	1.72	2.85	1.04	3.62	0.00
3	0	100	1500	53.49	7.76	2.35	8.70	4.89	6.14	2.08	16.91	0.19
4	0	200	0	30.01	6.20	1.06	7.78	2.89	4.73	2.09	5.81	0.30
5	0	200	3000	42.14	2.57	3.39	2.57	4.58	3.56	0.99	7.78	6.78
6	75	0	1500	59.61	9.36	2.63	3.20	5.60	4.91	2.81	10.66	0.50
7	75	100	0	27.76	2.43	0.83	0.00	1.91	0.83	1.47	13.10	0.43
8	75	100	1500	47.81	5.08	1.45	4.69	0.30	2.80	9.17	3.46	0.34
9	75	100	1500	38.01	2.77	4.50	1.71	4.74	4.16	1.50	10.57	0.36
10	75	100	3000	32.58	5.80	4.22	5.61	3.23	6.21	1.84	5.15	0.21
11	75	200	1500	24.79	5.78	0.88	4.13	147.28	8.46	1.68	2.41	0.19
12	150	0	0	56.42	7.08	1.63	5.61	4.41	8.20	3.05	11.67	0.63
13	150	0	3000	47.61	7.87	7.30	6.32	2.39	1.54	11.06	13.61	0.00
14	150	100	1500	28.88	3.26	1.39	0.61	1.55	3.66	1.25	4.05	0.00
15	150	200	0	36.93	7.81	1.73	7.27	29.00	4.30	2.20	7.78	0.96
16	150	200	3000	39.62	5.31	4.79	21.74	3.43	8.37	5.75	23.86	0.26

(NDMA: *N*-Nitrozodimetilamin; NMEA: *N*-Nitrozometiletilamin; NDEA: *N*-Nitrozodietilamin; NDPA: *N*-Nitrozodipropilamin; NMOR: *N*-Nitrozomorfolin; NPYR: *N*-Nitrozopirolidin; NPIP: *N*-Nitrozopiperidin; NDBA: *N*-Nitrozodibütilamin; NDPhA: *N*-Nitrozodifenilamin)

EK 11 Depolamanın Son Gününde *N*-Nitrozamin Bileşiklerine Ait Ortalama Değerler

S. No	Sodyum Nitrit	α -tokoferol	Potasyum Sorbat	NDMA	NMEA	NDEA	NDPA	NMOR	NPYR	NPIP	NDBA	NDPhA
	ppm	ppm	ppm	$\mu\text{g}/\text{kg}$ sucuk	$\mu\text{g}/\text{kg}$ sucuk	$\mu\text{g}/\text{kg}$ sucuk	$\mu\text{g}/\text{kg}$ sucuk	$\mu\text{g}/\text{kg}$ sucuk	$\mu\text{g}/\text{kg}$ sucuk	$\mu\text{g}/\text{kg}$ sucuk	$\mu\text{g}/\text{kg}$ sucuk	$\mu\text{g}/\text{kg}$ sucuk
1	0	0	0	33.82	3.97	4.25	0.55	3.86	1.82	1.33	3.14	5.75
2	0	0	3000	40.28	6.00	7.47	1.49	2.61	2.28	1.32	4.22	10.92
3	0	100	1500	49.80	18.30	11.17	1.29	5.38	3.11	2.35	15.57	7.24
4	0	200	0	44.28	9.77	4.81	0.99	1.03	1.16	2.00	6.06	4.14
5	0	200	3000	22.78	44.33	5.78	11.02	3.15	2.34	1.60	23.69	6.42
6	75	0	1500	20.40	45.57	4.33	10.82	69.40	2.15	0.63	7.08	6.14
7	75	100	0	37.80	6.68	3.35	0.78	122.52	2.62	1.40	17.59	4.27
8	75	100	1500	23.95	3.85	4.83	45.76	1.34	3.01	0.60	6.31	3.92
9	75	100	1500	40.06	2.47	0.87	1.47	5.72	1.57	0.94	14.82	0.52
10	75	100	3000	36.61	4.67	6.25	7.37	4.48	3.42	1.52	12.68	1.03
11	75	200	1500	46.69	7.82	3.75	2.25	7.05	5.28	4.82	24.06	1.17
12	150	0	0	40.16	3.34	1.46	1.31	3.81	2.98	0.80	5.14	8.86
13	150	0	3000	33.13	3.18	1.84	0.77	4.35	0.95	1.54	4.79	5.44
14	150	100	1500	64.13	10.29	5.01	0.64	6.83	7.08	2.58	12.09	21.91
15	150	200	0	49.96	4.68	1.99	0.89	2.53	2.28	13.32	19.35	0.97
16	150	200	3000	44.44	2.06	2.15	5.50	4.42	2.62	2.34	19.54	1.28

(NDMA: *N*-Nitrozodimetilamin; NMEA: *N*-Nitrozometiletilamin; NDEA: *N*-Nitrozodietilamin; NDPA: *N*-Nitrozodipropilamin; NMOR: *N*-Nitrozomorfolin; NPYR: *N*-Nitrozopirolidin; NPIP: *N*-Nitrozopiperidin; NDBA: *N*-Nitrozodibütülin; NDPhA: *N*-Nitrozodifenilamin)

EK 12 Fermantasyonun Son Gününde Mikrobiyolojik Analiz Sonuçlarına Ait Ortalama Değerler

S. No	Sodyum Nitrit	α - tokoferol	Potasyum Sorbat	TAMB	LAB	Mikrokok/ Stafilokok	Enterobakter	Maya-Küf
	ppm	ppm	ppm	log kob / g	log kob / g	log kob / g	log kob / g	log kob / g
1	0	0	0	6.91	8.72	5.97	3.83	4.23
2	0	0	3000	6.47	8.57	5.89	1.94	-
3	0	100	1500	6.58	8.64	5.86	3.92	-
4	0	200	0	6.61	8.60	5.87	2.02	4.40
5	0	200	3000	6.50	8.29	6.01	3.83	2.30
6	75	0	1500	6.49	8.69	5.99	1.30	-
7	75	100	0	6.72	8.90	5.92	1.73	4.74
8	75	100	1500	6.50	8.66	6.01	1.64	-
9	75	100	1500	6.57	8.74	6.05	1.27	1.88
10	75	100	3000	6.39	8.58	6.06	1.15	-
11	75	200	1500	6.58	8.26	6.21	3.27	2.41
12	150	0	0	6.69	8.35	6.15	1.60	4.24
13	150	0	3000	6.66	8.48	5.92	1.00	-
14	150	100	1500	6.52	8.66	5.98	3.16	-
15	150	200	0	6.53	8.52	6.07	3.81	4.33
16	150	200	3000	6.43	8.50	6.13	2.96	-

- : Ekim yapılan 10^{-1} dilüsyondan mikroorganizma tespit edilemedi.

(TAMB: Toplam aerobik mezofilik bakteri; LAB: Laktik asit bakterisi)

EK 13 Depolamanın Son Gününde Mikrobiyolojik Analiz Sonuçlarına Ait Ortalama Değerler

S. No	Sodyum Nitrit	α -tokoferol	Potasyum Sorbat	TAMB	LAB	Mikrokok/ Stafilokok	Enterobakter	Maya-Küf
	ppm	ppm	ppm	log kob / g	log kob / g	log kob / g	log kob / g	log kob / g
1	0	0	0	7.22	7.51	6.32	1.50	6.71
2	0	0	3000	6.89	7.53	5.12	0.92	5.16
3	0	100	1500	8.31	7.38	4.15	-	5.14
4	0	200	0	6.83	7.40	6.27	1.91	6.73
5	0	200	3000	6.85	7.84	5.74	2.11	4.21
6	75	0	1500	5.83	7.62	6.22	-	3.83
7	75	100	0	7.08	8.17	6.07	1.30	6.69
8	75	100	1500	7.20	7.98	6.01	-	4.63
9	75	100	1500	6.45	7.80	6.25	0.50	4.26
10	75	100	3000	6.28	8.07	5.95	-	4.62
11	75	200	1500	5.74	7.86	5.71	-	4.13
12	150	0	0	6.19	7.57	6.04	-	5.52
13	150	0	3000	6.35	8.31	5.59	1.10	4.16
14	150	100	1500	6.43	8.12	6.07	-	4.17
15	150	200	0	6.79	8.13	6.07	1.00	5.79
16	150	200	3000	6.26	8.06	5.72	-	4.41

- : Ekim yapılan 10^{-1} dilüsyondan mikroorganizma tespit edilemedi.

(TAMB: Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri; LAB: Laktik Asit Bakterisi)

EK 14 Fermantasyonun Son Gününe Ait İyon Miktarları, Biyojen Amin ve *N*-nitrozamin Bileşikleri Arasındaki Korelasyonlar

a) İyon değerleri arasındaki korelasyon

NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻	0.581	*
------------------------------	------------------------------	-------	---

*: P<0.05; **: P<0.01

b) *N*-nitrozamin bileşikleri arasındaki korelasyon

NPIP	NDMA	0.682	**
NPIP	NMEA	0.750	**
NPIP	NDEA	0.518	*
NMOR	NMEA	0.524	*
NMOR	NPYR	0.647	**
NDMA	NMEA	0.720	**
NDMA	NDBA	0.504	*
NDEA	NDBA	0.542	*

*: P<0.05; **: P<0.01

c) İyon değerleri, biyojen amin ve *N*-nitrozamin bileşikleri arasındaki korelasyon

NH ₄ ⁺	SPM	0.527	*
NO ₃ ⁻	NDEA	0.638	**
NO ₂ ⁻	NMEA	0.528	*
NO ₂ ⁻	NDEA	0.711	**
NO ₂ ⁻	NDBA	0.627	**
NO ₃ ⁻	NPIP	0.524	*
SPM	NDMA	-0.538	*
SPM	NDBA	-0.570	*
TyR	NMOR	-0.618	*
TyR	NDPhA	-0.538	*
PUT	NPIP	-0.503	*

*: P<0.05; **: P<0.01

EK 15 Depolamanın Son Gününe Ait Biyojen Amin ve *N*-nitrozamin Bileşikleri Arasındaki Korelasyonlar

a) Biyojen amin bileşikleri arasındaki korelasyon

TRP	HIS	0,560	*
TRP	SPD	-0,655	**
PhA	SPD	-0,546	*
TyR	HIS	0,642	**
TyR	SPM	-0,592	*

*: P<0.05; **: P<0.01

b) *N*-nitrozamin bileşikleri arasındaki korelasyon

NMEA	NDEA	0,624	**
NPIP	NDMA	0,726	**
NPIP	NDBA	0,562	*

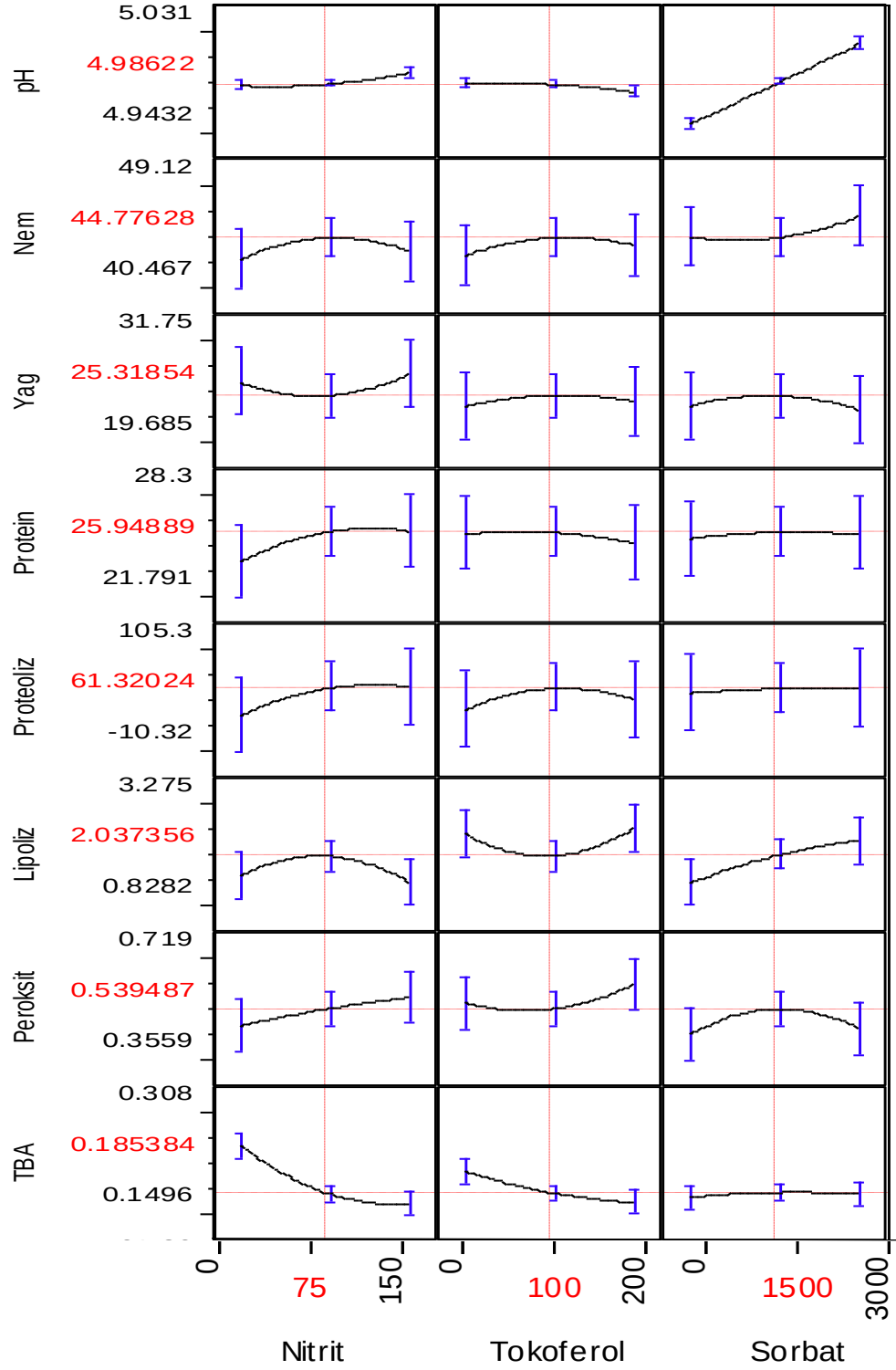
*: P<0.05; **: P<0.01

c) Biyojen amin-*N*-nitrozamin bileşikleri arasındaki korelasyon

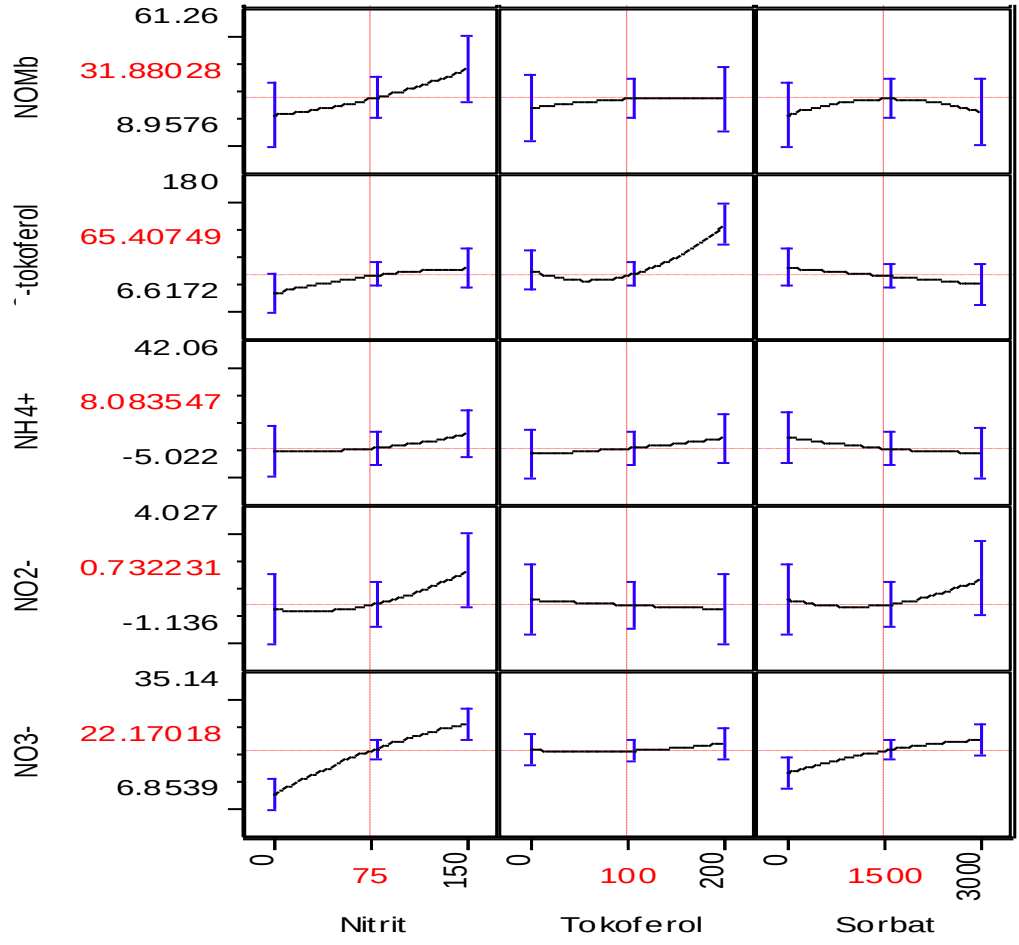
TyR	NPYR	0.510	**
TRP	NDEA	0.499	*

*: P<0.05; **: P<0.01

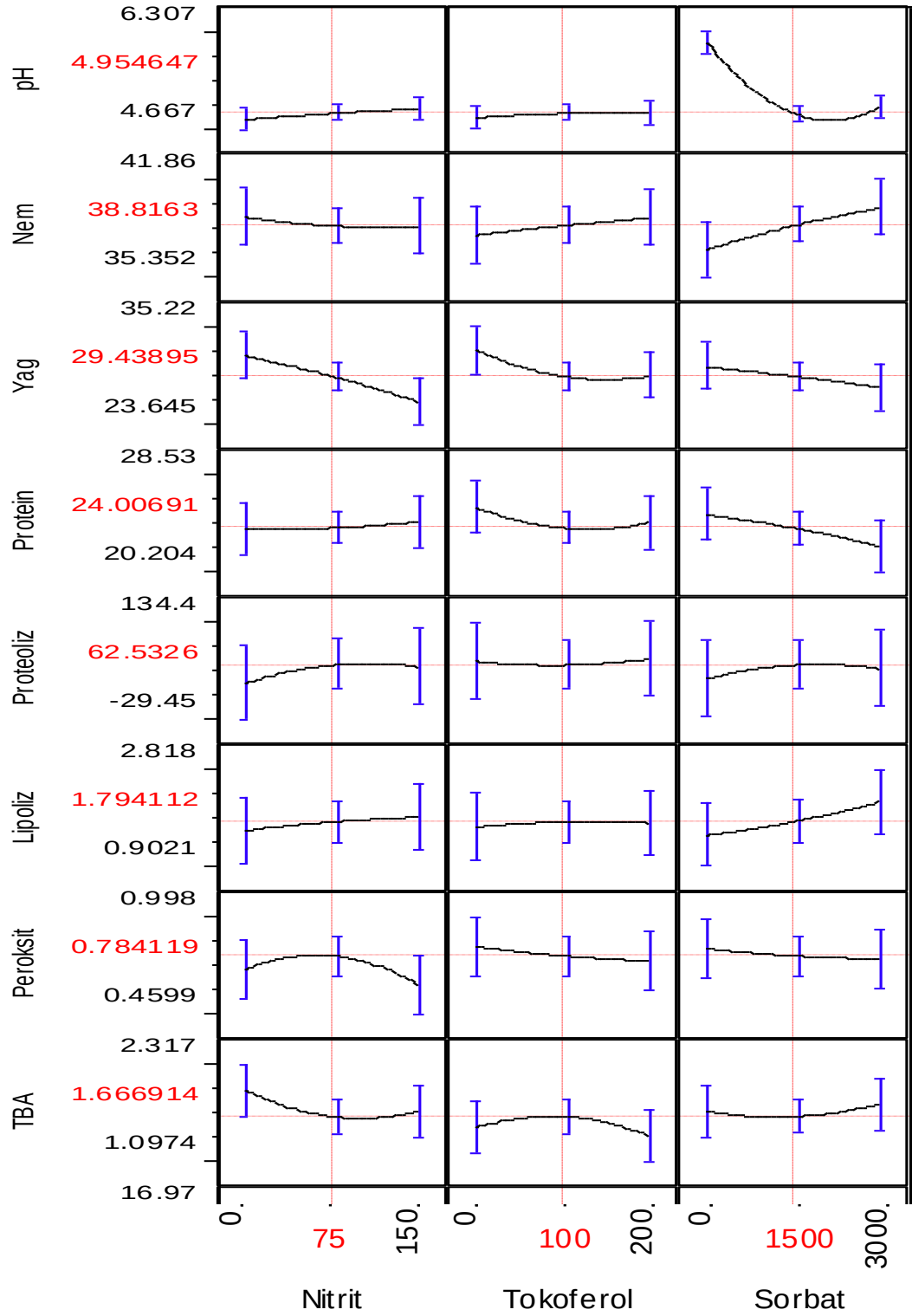
EK 16 Fermantasyonun Son Gününde Sucuğun Kimyasal Özellikleri Üzerine Faktörlerin Etkisi



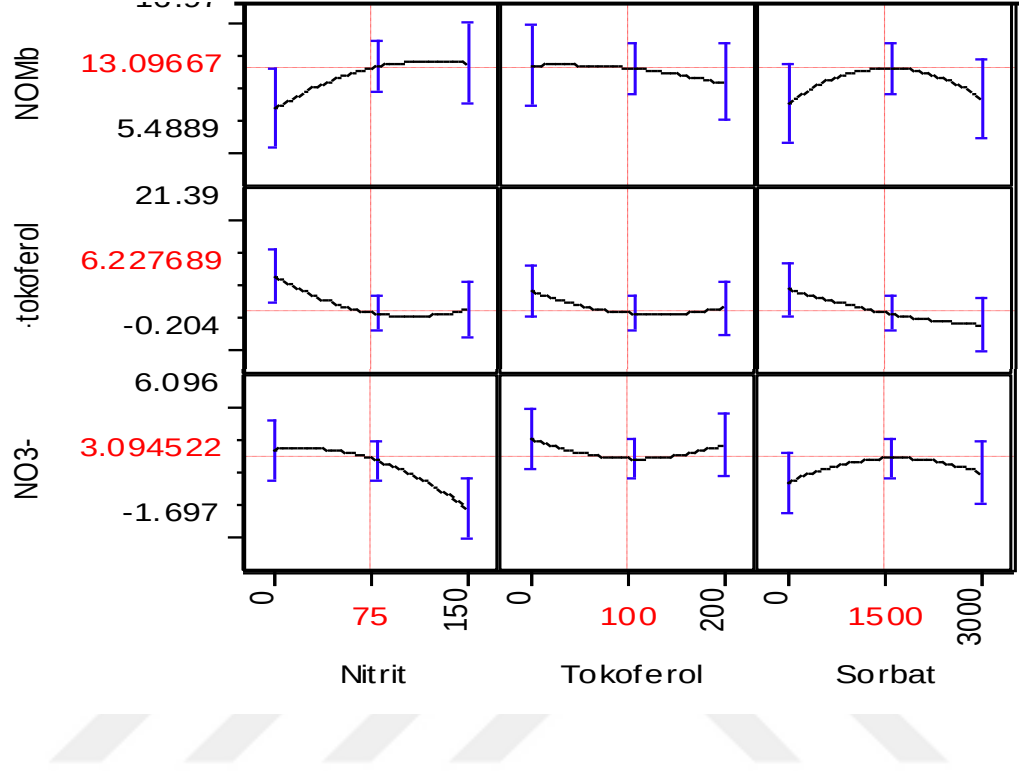
EK 16 Fermantasyonun Son Gününde Sucuğun Kimyasal Özellikleri Üzerine Faktörlerin Etkisi (Devamı)



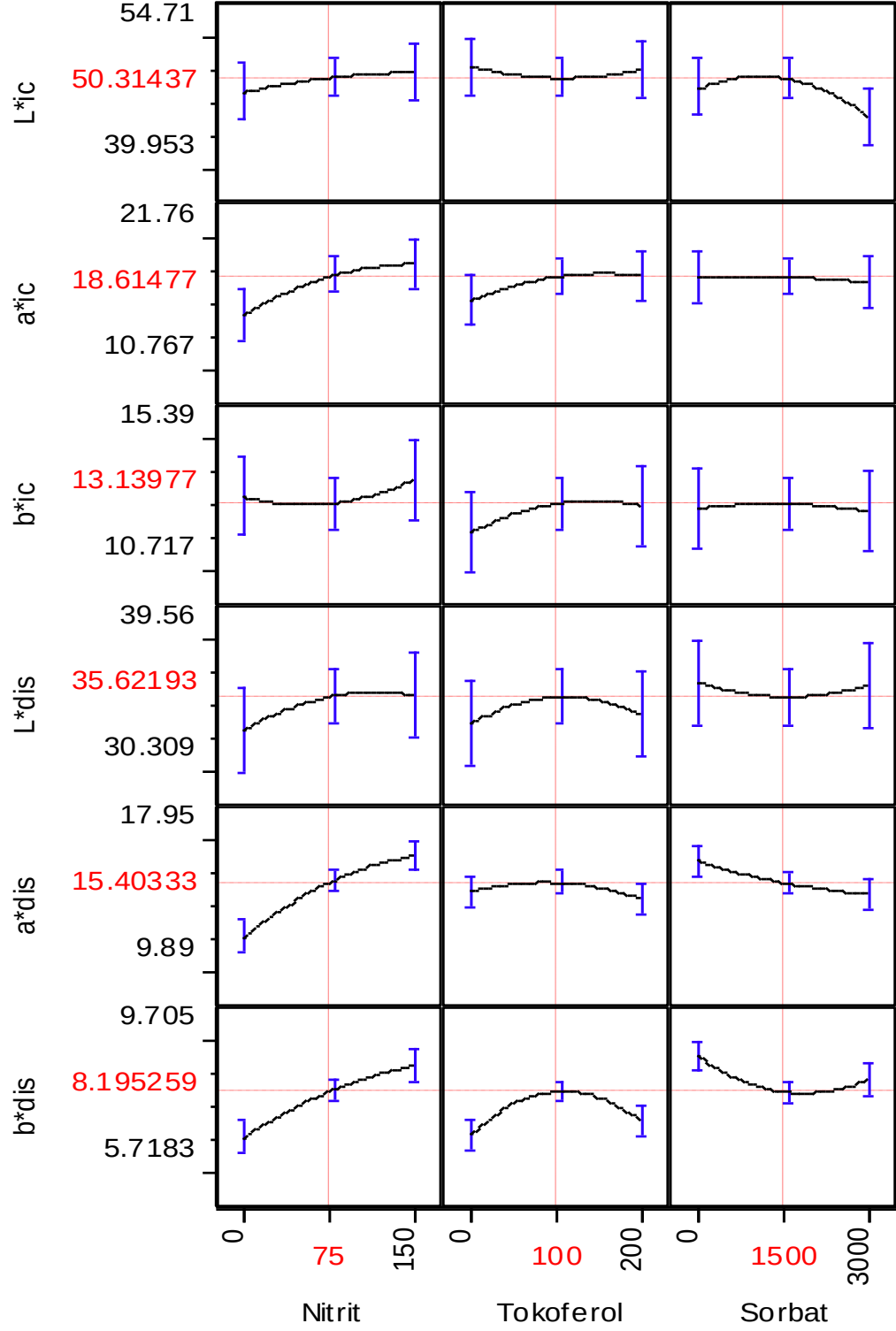
EK 17 Depolamanın Son Gününde Sucuğun Kimyasal Özellikleri Üzerine Faktörlerin Etkisi



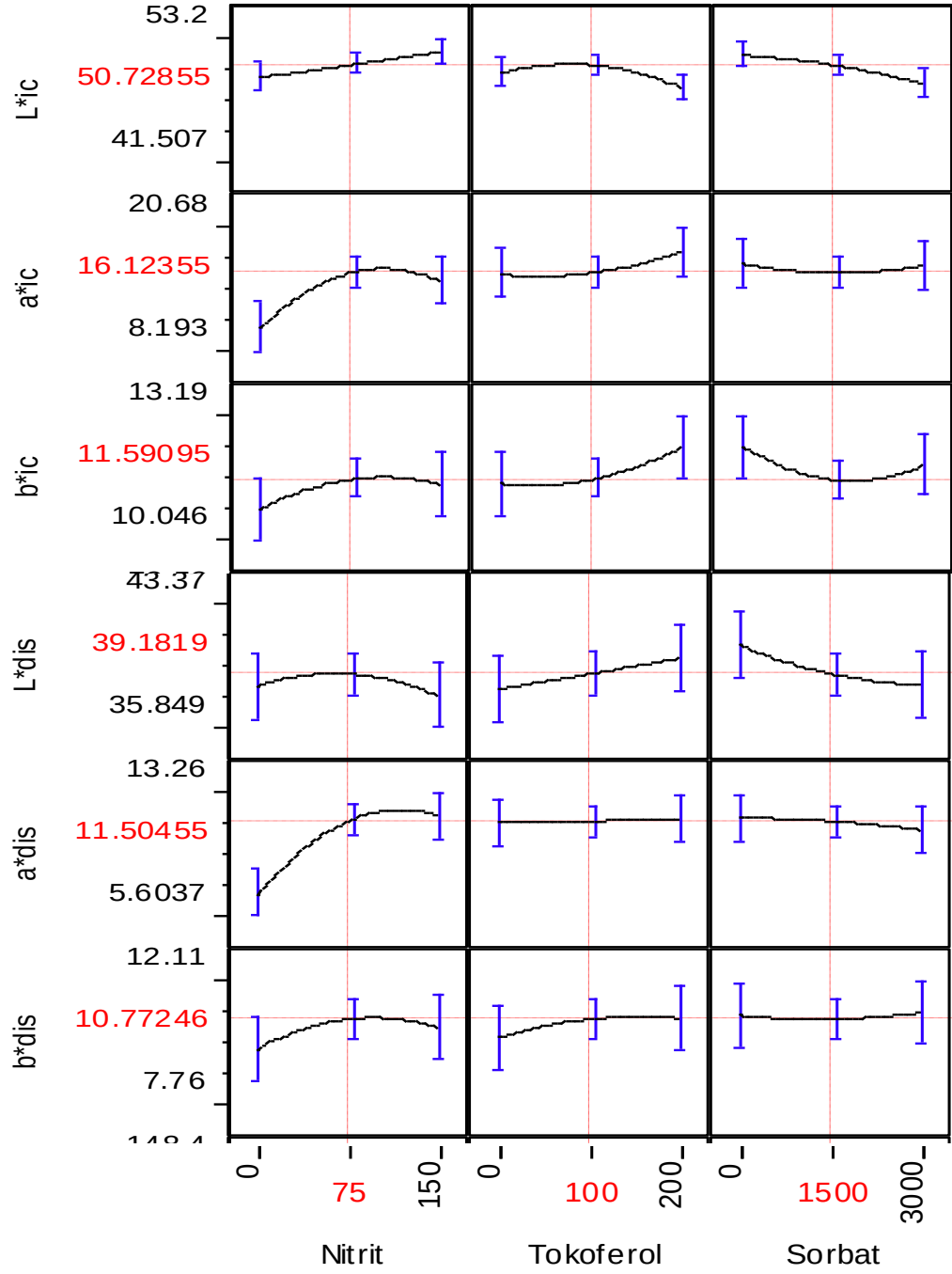
EK 17 Depolamanın Son Gününde Sucuğun Kimyasal Özellikleri Üzerine Faktörlerin Etkisi (Devamı)



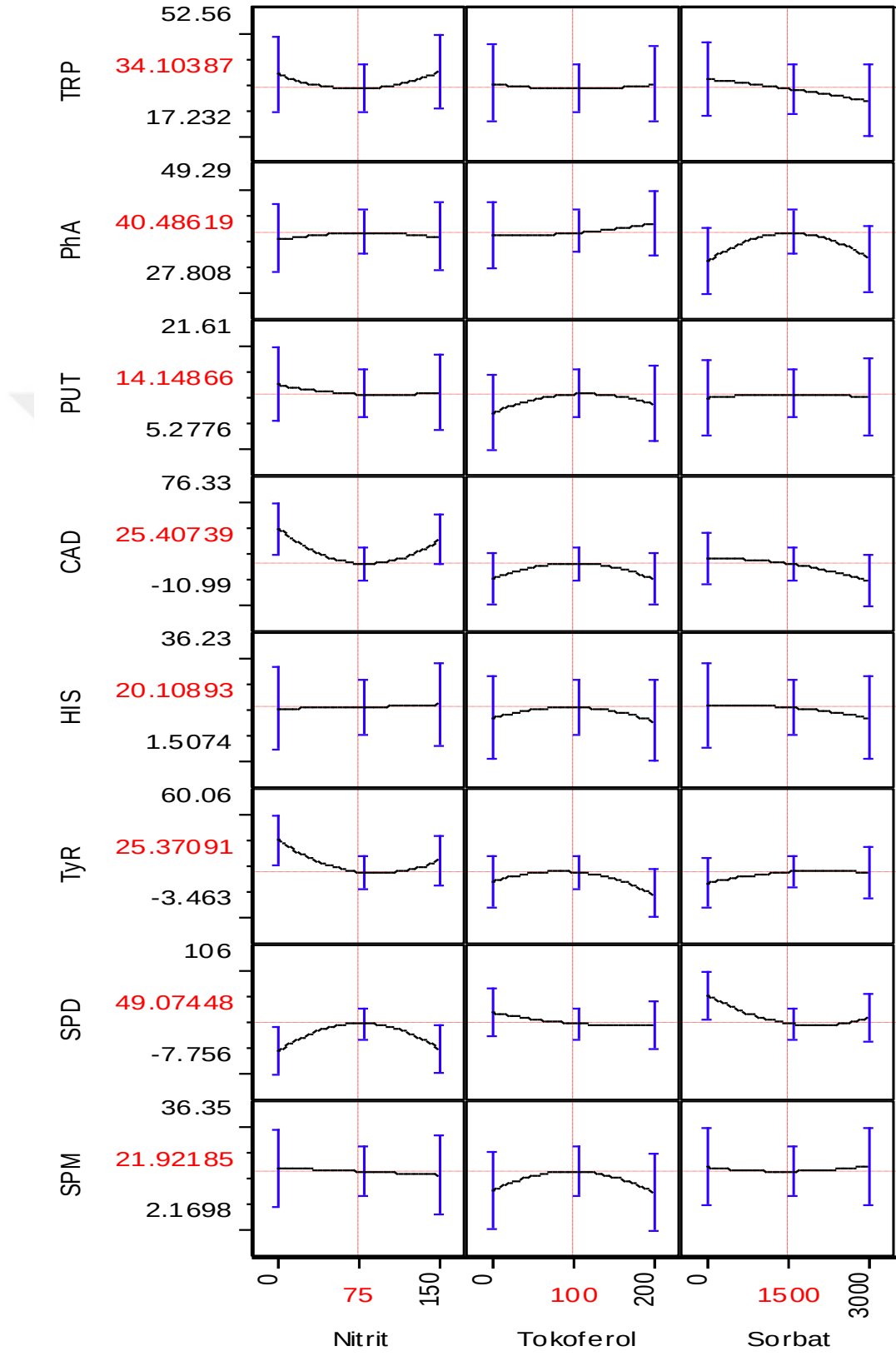
EK 18 Fermantasyonun Son Gününde Sucuğun Renk Değerleri Üzerine Faktörlerin Etkisi



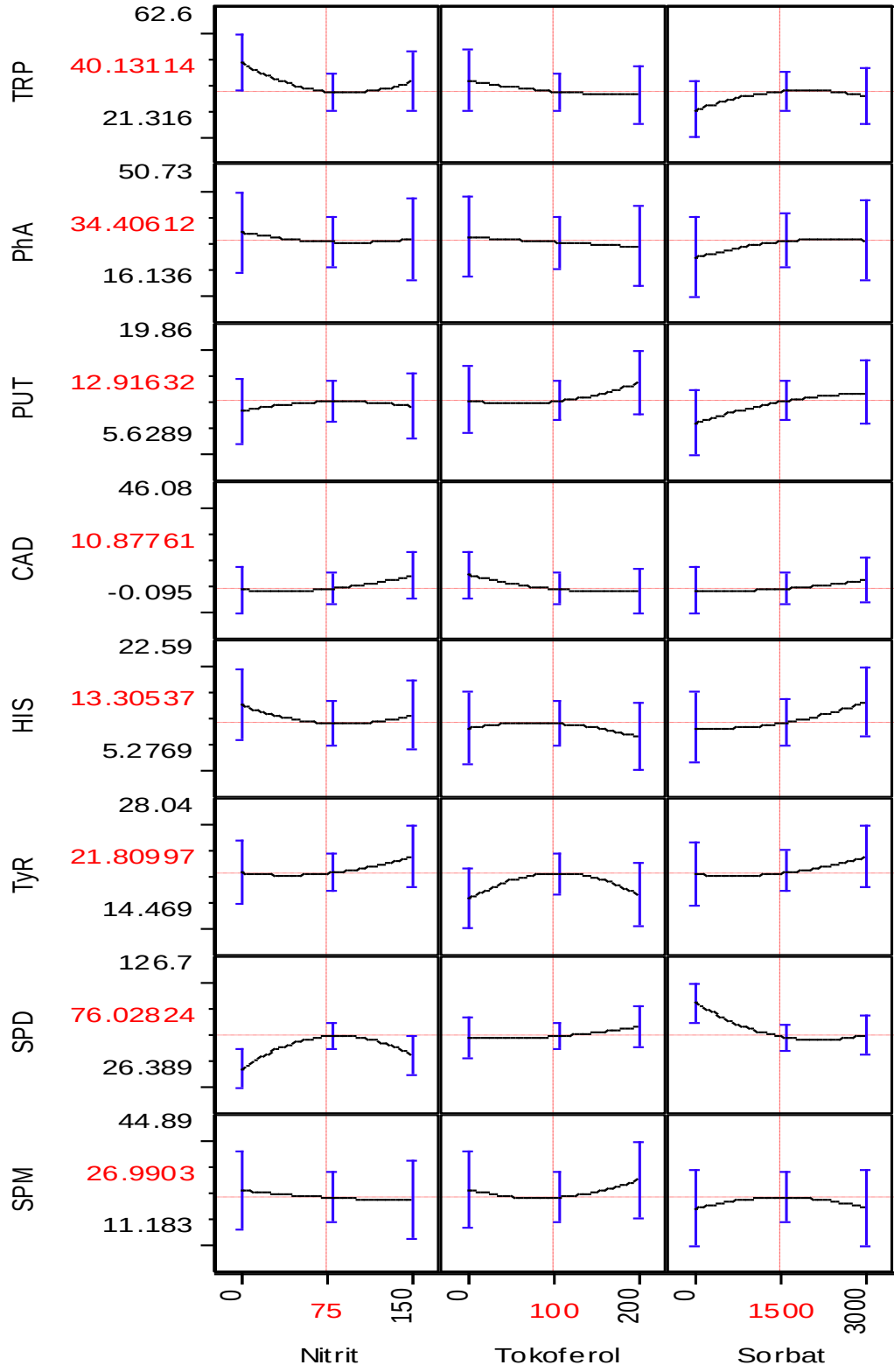
EK 19 Depolamanın Son Gününde Sucuğun Renk Değerleri Üzerine Faktörlerin Etkisi



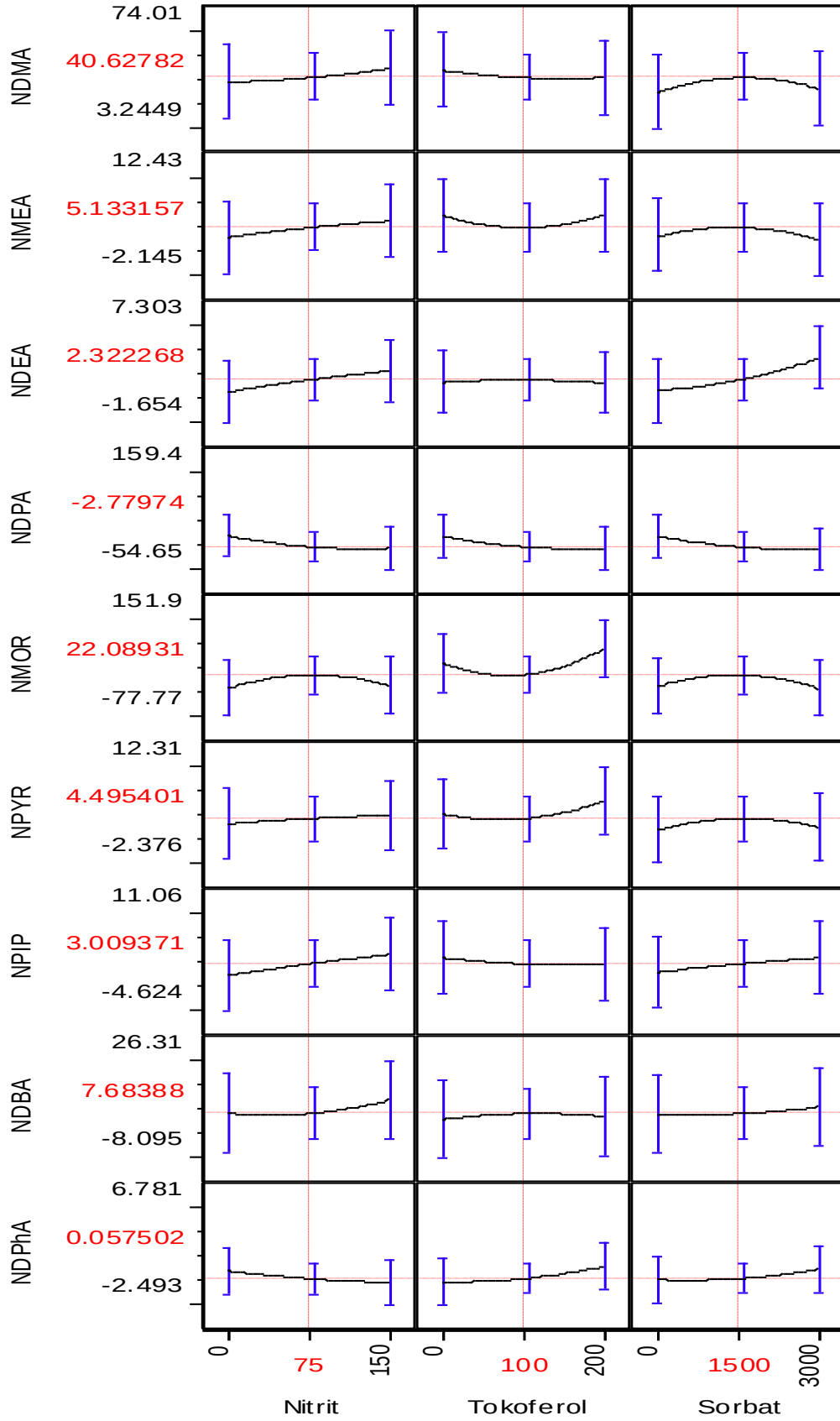
EK 20 Fermantasyonun Son Gününde Sucuğun Biyojen Amin Değerleri Üzerine Faktörlerin Etkisi



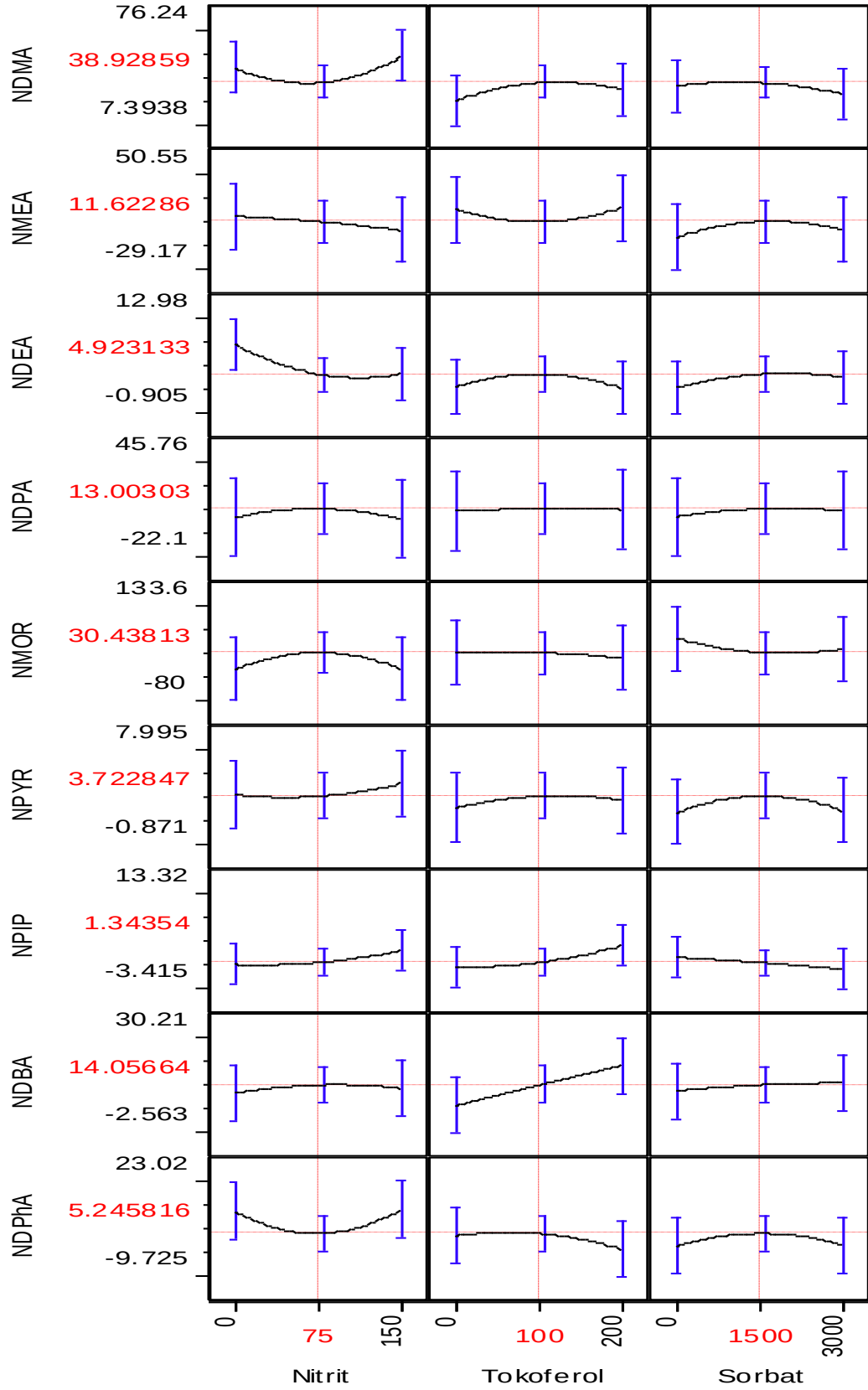
EK 21 Depolamanın Son Gününde Sucuğun Biyojen Amin Değerleri Üzerine Faktörlerin Etkisi



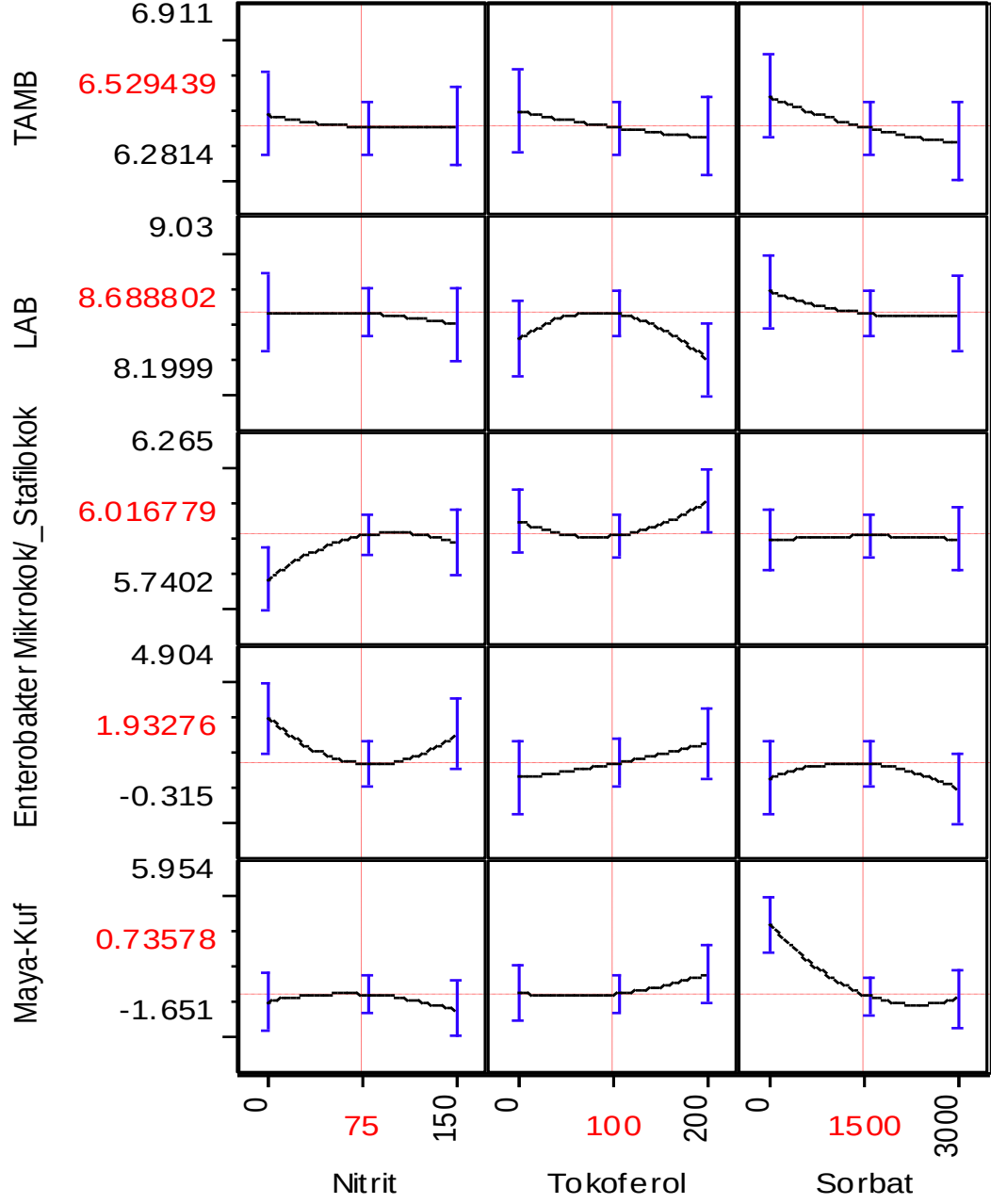
EK 22 Fermantasyonun Son Gününde Sucuğun *N*-Nitrozamin Değerleri Üzerine Faktörlerin Etkisi



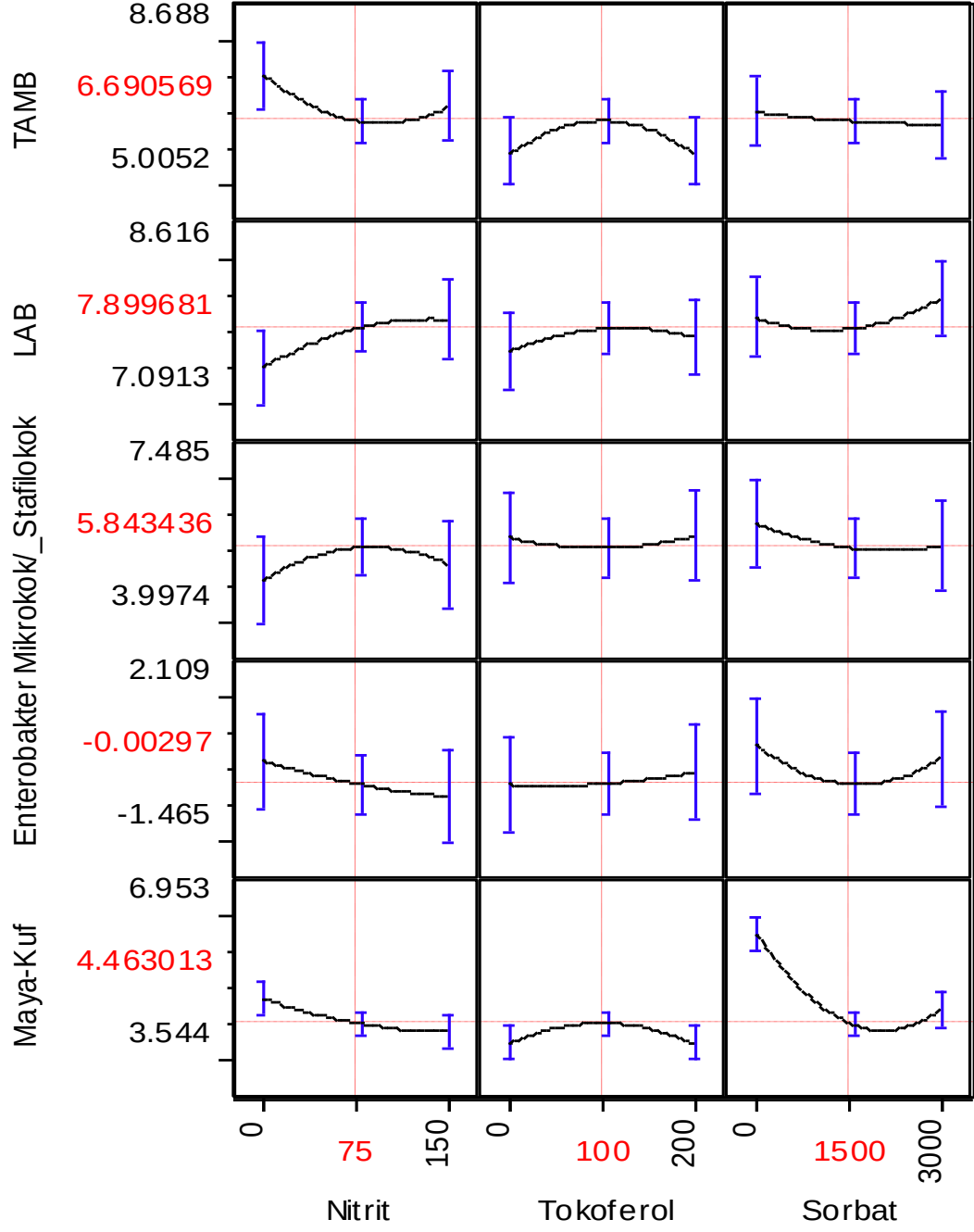
EK 23 Depolamanın Son Gününde Sucuğun *N*-Nitrozamin Değerleri Üzerine Faktörlerin Etkisi



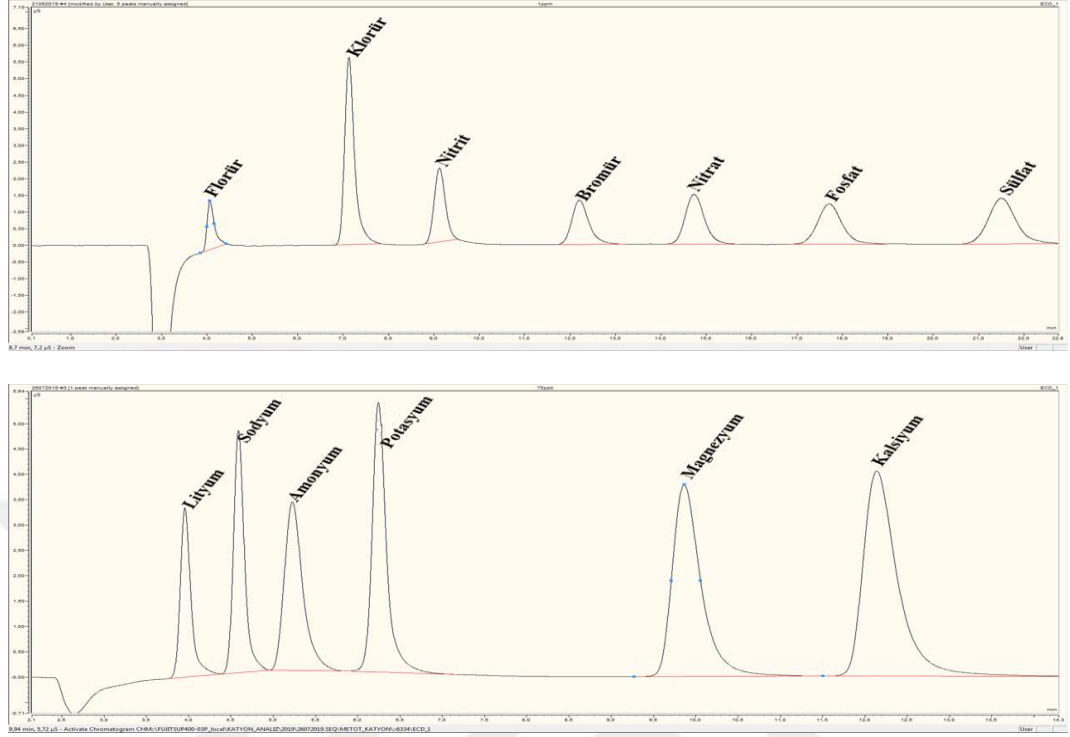
EK 24 Fermantasyonun Son Gününde Sucuğun Mikrobiyolojik Özellikleri
Üzerine Faktörlerin Etkisi



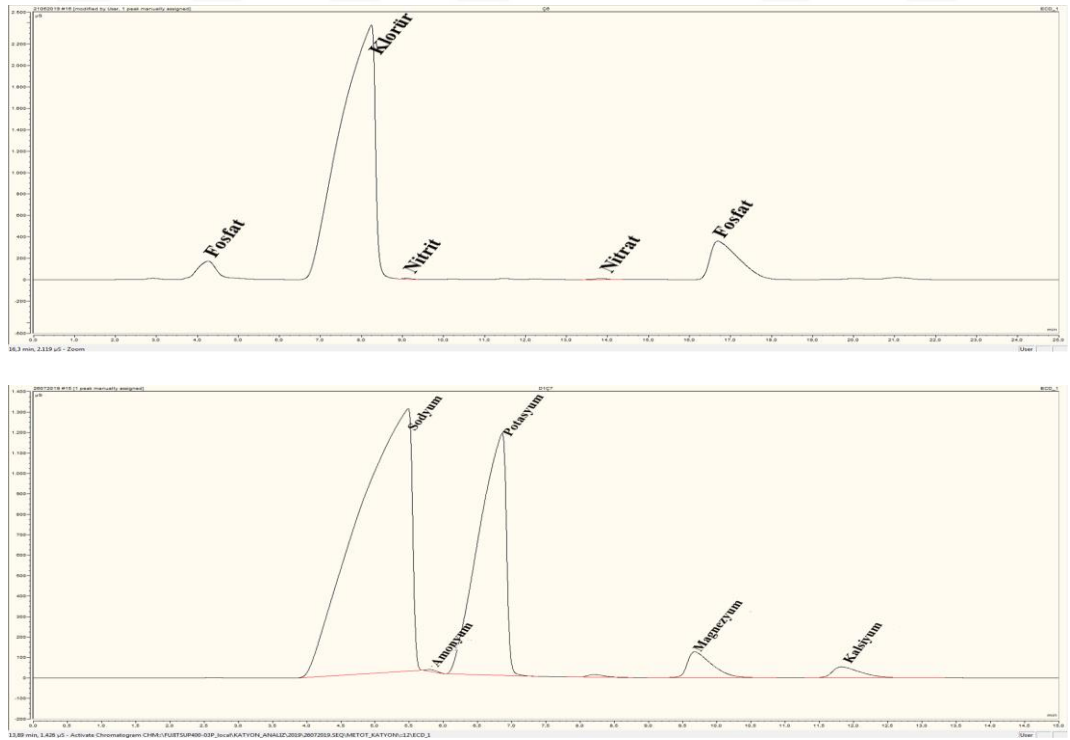
EK 25 Depolamanın Son Gününde Sucuğun Mikrobiyolojik Özellikleri Üzerine Faktörlerin Etkisi



EK 26 Anyon-Kasyon Çoklu Standartlarına ve Sucuk Örneğine Ait IC Kromatogramları

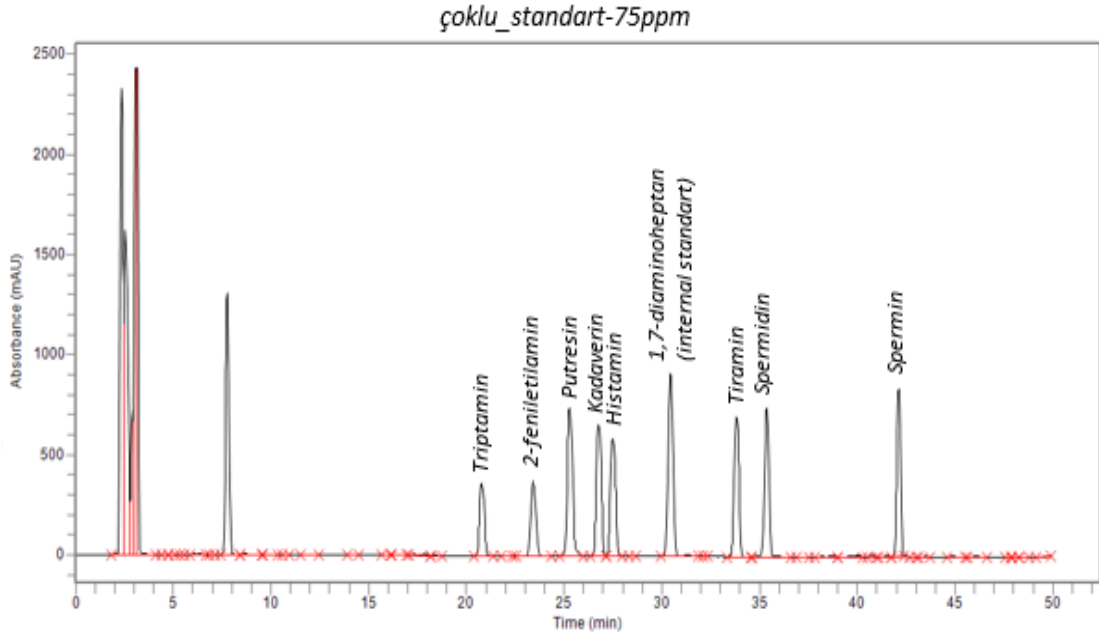


a) Anyon-Kasyon Çoklu standartlarına ait kromatogram

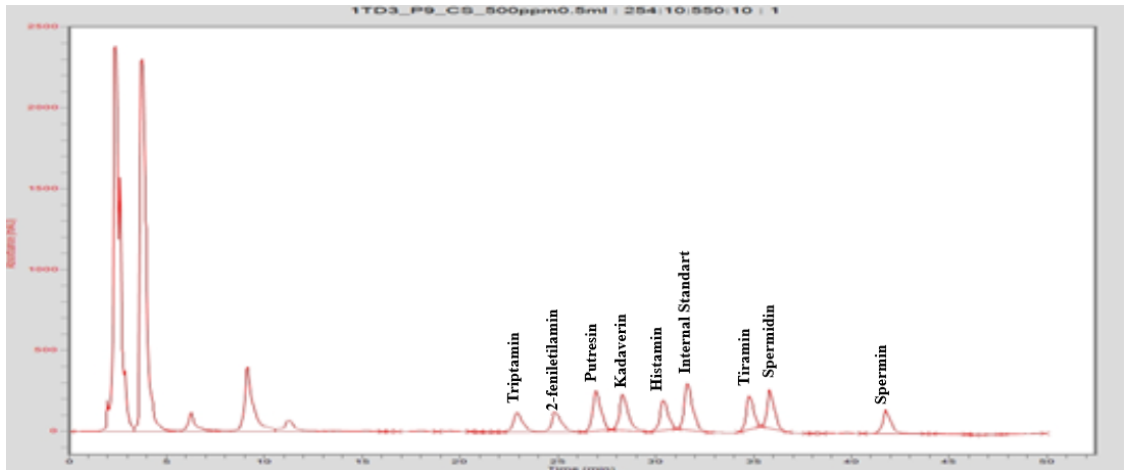


b) Sucuk örneğine ait kromatogramlar

EK 27 Biyojen Amin Çoklu Standartlarına ve Sucuk Örneğine Ait HPLC Kromatogramları

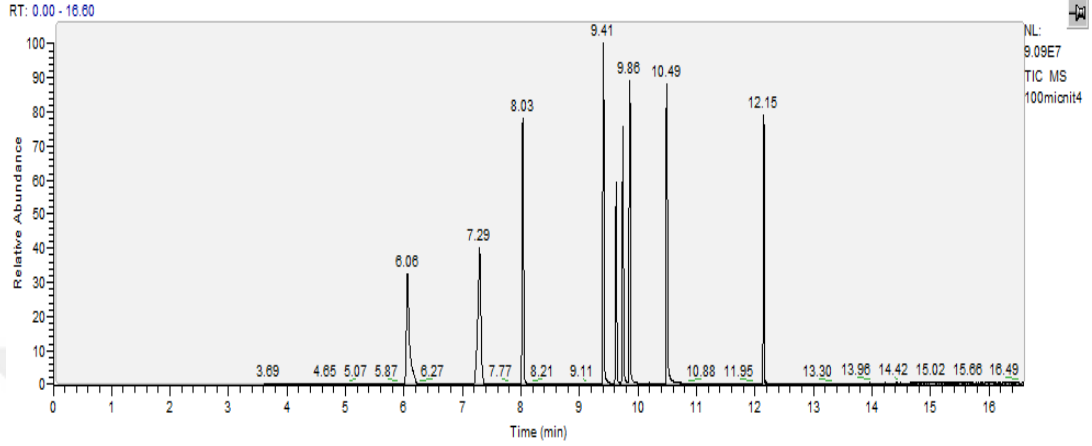


a) BiyojenAmin Çoklu Standartlarına ait kromatogram

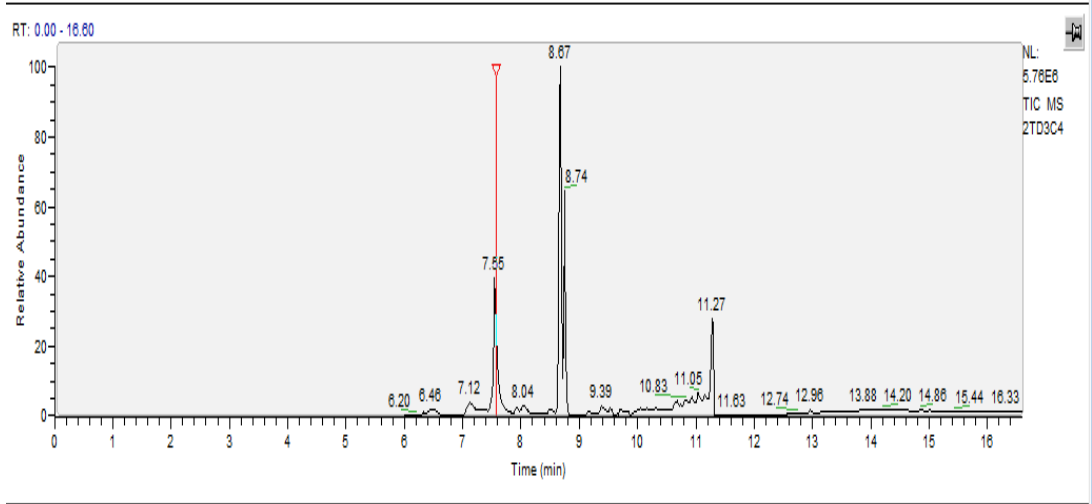


b) Spike yapılmış sucuk örneğinin biyojen amin piklerine ait kromatogram

EK 28 *N*-Nitrozamin Çoklu Standartlarına ve Sucuk Örneğine Ait GC-MS Kromatogramları



a) *N*-Nitrozamin Çoklu Standartlarına ait kromatogram



b) Sucuk örneğine ait kromatogram

8. ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Gülsüme BIÇAKCI

Doğum Tarihi : 29.06.1989

Doğum Yeri : ADAPAZARI

Eğitim : 2012 – 2014 Yüksek Lisans Eğitimi.
Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,
Gıda Mühendisliği ABD

2007 – 2012 Lisans Eğitimi.
Abant İzzet Baysal Üniversitesi,
Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü

2003 – 2007 Lise Eğitimi.
Sakarya Yenikent Anadolu Lisesi

E-posta Adresi : gulsumeozis@ibu.edu.tr

9. ORJİNALLİK RAPORU

11b- İntihal beyan formu



T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

ÖĞRENCİ ve TEZ DANIŞMANI İNTİHAL BEYAN FORMU

Anabilim Dalı	Gıda Mühendisliği ABD		
Öğrencinin Adı ve Soyadı	Gülsüme BIÇAKCI		
Numarası	35830586738		
Lisansüstü Programı	Tezli Yüksek Lisans ☐	Doktora ☒	
Tez Sınavına Girdiği Eğitim Yılı ve Dönemi	2020 / 2021	☒ Güz	☐ Bahar
Tez Sınavına Girdiği Tarih	05.02.2021		
Tezin Sayfa Sayısı	154		
Tez Başlığı (Tr)	Fermente Sucuklarda Biyojen Amin ve N-Nitrozamin Oluşumu Üzerine Bazı Faktörlerin Etkisi ve Biyojen Amin - N-Nitrozamin İlişkisinin Belirlenmesi		
Tez Başlığı (En)	Effects of some factors on formation of biogenic amines and N-nitrosamines in fermented sausages and determination of biogenic amines - N-nitrosamines relationship		

Teze ilişkin 02 / 03 / 2021 tarihinde yapılan Turnitin adlı intihal tespit programından enstitü müdürlüğünce belirlenen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan benzerlik raporuna göre, tezin benzerlik oranı % 11 olarak tespit edilmiştir.

Bu tez çalışmasının herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edilmesi durumunda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimizi ve yukarıda vermiş olduğumuz bilgilerin doğru olduğunu beyan ederiz.

Gülsüme BIÇAKCI
Öğrenci
(Adı, Soyadı, tarih ve imza)

Prof. Dr. Ömer EREN
Tez Danışmanı Onayı
(Adı, soyadı, tarih ve imza)

Açıklamalar:

- 1- Tez savunma sınavı sonrasında başarılı bulunan öğrencinin tez çalışması muhtemel değişiklikleri içeren dosya kullanılarak ikinci kez benzerlik raporu alınır. "Öğrenci ve Tez Danışmanı İntihal Beyan Formu"na işlenir.
- 2- Bu form öğrenci tarafından elektronik ortamda hazırlandıktan ve tez sınavından sonra "tez teslim formu (tez sınavı sonrası)" ile birlikte öğrenci dosyasında saklanmak üzere tez danışmanı tarafından EADB aracılığı ile Enstitüye teslim edilmelidir.