

ANKARA PİYASASINDA SATILAN BAZI İŞLENMİŞ ET ÜRÜNLERİNDE
ŞEKİLLENEBİLEN NİTROZAMİN TÜREVLERİ ÜZERİNDE BİR ARAŞTIRMA

Yusuf Şanlı*

A study on the levels of nitrosamine derivatives in some retail processed meat products in Ankara markets.

Summary: *In this study, 90 samples of processed meat product such as sausage, Turkish dry fermented sausage, salami, pastırma and gellied tripe obtained from the markets in Ankara were analysed by electron-capture gas-liquid chromatography for the level of nitrosamine derivatives.*

Of the samples 72 (80 %) contained at least two nitrosamine derivatives. N-nitrosodimethylamine (NDMA), N-nitrosopyrrolidine (NPyr), N-nitrosopiperidine (NPip), N-nitrosodiethylamine (NDEA) and N-nitrosodi-n-propylamine (NPrp) were observed in 96.6 %, 63.6 %, 55.5 %, 43.3 % and 30 % of the samples respectively.

Of nitrosamine derivatives NDMA was found in the level of 0.05-117.07 ppb and followed, in decreasing order, by 0.02-73.17 ppb NPip, 0.02-9.65 ppb NPyr, 0.02-8.16 ppb NDEA and 0.01-4.86 ppb NPrp.

The nitrosamine content was the highest in salami samples (20.743 ppb), followed by Turkish dry fermented sausage (17.747 ppb), gellied tripe (10.743 ppb), sausage (9.241 ppb) and pastırma (7.272 ppb).

The significance of the results is discussed. It is concluded that the retail processed meat products in Ankara seem to be harmful by containing rather high level nitrosamine derivatives which possibly originate from the nitrite and the spices used in excessive amounts.

Özet: *Bu çalışma kapsamında salam, sosis, sucuk, pastırma ve jöle işkembe örneklerinden oluşan 90 adet işlenmiş et ürünü örneğinde şekillenebilen nitrozamin türevlerinin varlığı ve yoğunluk düzeyleri araştırıldı. Elektron-tutucu gaz-sıvı kromatografi esasına dayanan bir yöntemle*

* Doç. Dr. A.Ü. Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Bilim Dalı, Ankara

gerçekleştirilen analizler sonucunda bütün örneklerin % 96.6'sında nitrozodietilamin (NDEA), % 63.3'ünde nitrozopirrolidin (NPyr), % 55.5'inde nitrozopiperidin (NPip), % 43.3'ünde nitrozodietilamin (NDEA) ve % 30'unda da nitrozodipropilamin (NPrp) varlığı saptanmıştır. Analiz örneklerinden 72 (% 79.4)'sinin 2 veya daha fazla çeşit nitrozamin türevi içerdiği anlaşılmıştır.

Bireysel analiz sonuçları ve bileşik çeşidine göre hesaplanan ortalama yoğunluk değerleri bakımından bütün örneklerde NDMA türevinin en yüksek yoğunluklarda (0.05–117.07 ppb) bulunduğu, bunu azalan sırayla NPip (0.02–73.17 ppb), NPyr (0.02–9.65ppb), NDEA (0.02–8.16 ppb) ve NPrp (0.01–4.86 ppb) çeşitlerinin izlediği belirlenmiştir.

Literatür verilerin ışığında analiz bulgularının çeşitli yönlerden değerlendirilmesi sonucunda, Ankara piyasasında satılan işlenmiş et ürünlerinin sakıncalı sayılabilecek düzeylerde nitrozamin türevlerini içerdiği anlaşılmıştır. Kanserojen etki riski yaratabilecek boyutlarda görülen bu durumun büyük bir olasılıkla söz konusu ürünlere aşırı ölçüde nitritli bileşikler ve baharat çeşitlerinin katılmasından kaynaklandığı sanılmaktadır.

Giriş:

Son çeyrek yüzyılda kanser olaylarında görülen hızlı artış karşısında hazırlayıcı ve yapıcı çevresel etkenlerle bu hastalık arasındaki ilişki yoğun araştırmalara konu olmuştur. Nitekim, kanser çeşitlerinin bölgelere ve ülkelere göre farklı dağılım göstermesi, çevre kirliliğinin fazla olduğu ve bazı besin çeşitlerinin fazlaca tüketildiği bölgelerde daha sık görülmesi, kanser olgularının çevresel etkenlere yakından bağlı olduğunu ortaya koymaktadır. Bu alanda yapılmış araştırma sonuçlarından anlaşıldığına göre, kanser olayları % 70–80 oranında çevresel etkenlere bağlı olarak gelişmekte ve bunlar arasında da kimyasal kanserojenler başlıca tehlike riskini yaratmaktadır (5,25,28).

Günümüze değin genototoksik ve epigenetik özelliklere sahip olan 3000'den fazla kanserojenik etkili kimyasal maddenin varlığı ortaya çıkartılmıştır (4). Bu tür kimyasal maddeler içerisinde N-nitrozo bileşikleri özel bir yere ve öneme sahiptir (3). Çünkü, söz konusu bileşikler en etkin kanserojenik maddeler arasında bulunmaktadır (13). In vivo ve in vitro koşullarda kolayca şekillenebildiklerinden çev-

rede, besinlerde ve su sistemlerinde bulunma olasılıkları büyüktür. Farklı çevresel koşullara dayanıklı olduklarından, özellikle besinler olmak üzere, uygun çevresel yapılarda birikme eğilimindedirler (7,42). Bu nedenle de N-nitrozo bileşikleri, kanserojen etki riski yaratma bakımından, en sık karşılaşılan kimyasal kanserojenler arasında yer alırlar (24).

N-nitrozo bileşikleri $R_1 - N(N=O) - R_2$ genel formülüyle gösterilen ortak yapıya sahiptirler ve farklı kimyasal özellikleri bakımından a) nitrozaminler ve b) nitrozamidler olarak iki gruba ayrılırlar. Nitrozamin türevlerinde R_1 ve R_2 alkil ve aril gruplarından, nitrozamid türevlerinde de R_1 alkil veya aril ve R_2 ise, asil gruplarından oluşur. Nitrozaminler genellikle dayanıklı bileşiklerdir; güneş ışığında ve zayıf asit çözeltilerde yavaş yavaş parçalanırlar. Buna karşın, nitrozamidler çok dayanıksız bileşiklerdir; zayıf asit ve alkali çözeltilerde kolayca parçalanırlar (9,10,42).

N-nitrozo bileşiklerinin in vitro koşullarda oluşumunu açıklamaya yönelik yapılmış araştırmalarda, ortamda nitroz asit şekline dönüşmüş olarak bulunan nitritlerin dimetilamin, etilamin, morfolin ve propilamin gibi sekonder aminler ve N-substitüe olmuş amidler ile kolayca tepkimeye girerek bu tür bileşiklerin şekillendiği anlaşılmıştır (25,29). Tepkimenin hızı ve verimliliği, ortamın pH'sına bağlıdır. Düşük pH değerlerinde kolayca nitroz asit şekillenebilmekte ve aminler de daha kolay protonize olarak reaksiyon hızı artmaktadır. Yüksek pH değerlerinde ise, nitroz asit şekillenme hızı düşmektedir. Ortamın pH'sı 3-4 dolayında olduğunda, N-nitrozo bileşiklerinin oluşma hızı en yüksek düzeye ulaşmaktadır (4,10,14,20).

N-nitrozo bileşiklerinin şekillenmesine kaynak oluşturan sekonder aminler ve amidlerden başka, pek çoğu doğal kaynaklı olan metilamin, trimetilamin ve TMA oksit gibi tersiyer aminler (20), bazı kuaterner amonyum türevleri (neurin klorür, asetilkolin klorür, betain ve karnetin klorür) (14), amino asitler (l-prolin, l-hidroksi prolin ve N-metil glisin) (25), spermin ve spermidin gibi poliaminler (42), bazı proteinler ile metil guanidin, üre ve fenol bileşiklerinin (19) de hafif asit pH'lı ortamlarda nitroz asit ile tepkimeye girmesiyle bu tür bileşiklerin şekillendiği ortaya konmuştur.

Sekonder aminler başta olmak üzere, ön madde durumundaki diğer bileşiklerin et, balık, süt, kahve, kakao ve tütüne, alkollü içkilerden suya kadar her çeşit hayvansal ve bitkisel kökenli maddelerde

yaygın bir şekilde bulunabileceği anlaşılmıştır (27,31,32, 34). Öte yandan, doğal çevrenin oluşumuna katılan maddelerden nitrat ve nitritli bileşiklerin kaçınılmaz bir şekilde bütün canlı organizmalara geçtiği bilinmektedir (42). Bu durum karşısında, yukarıda açıklanan oluşma yolları da dikkate alındığında, N-nitrozo türevlerinin çevrede, besinlerde ve su ortamında kolayca şekillenebileceği gerçeği ortaya çıkmaktadır (17,25,31).

İnsan ve hayvanlarda ağızdan alınan N-nitrozo bileşikleri, sindirim kanalından kolayca emilerek, yarım saat sonra kana ve biraz daha gecikmiş olarak da süte geçer. Bir defada alınan dozun % 70'i ilk sekiz saatte ve geri kalanı da 24 saat içerisinde vücuttan atılır (42). Metabolize olan ürünlerin % 40-65'i karbon dioksit dönüşerek solunum yoluyla, % 7'si de idrarla değişimsiz olarak atılır; geri kalanı ise, dokulara dağılır (11).

N-nitrozo bileşikleri, endüstride ve pratik yaşamda sınırlı ölçüde kullanılır. Bu nedenle, ilgili endüstri dallarında çalışan işçiler dışında karşılaşılan rastlantısal akut zehirlenmelerin sayısı oldukça sınırlıdır (18). Akut toksisiteyi fazlaca incelenen dialkil nitrozaminlerde zincir uzunluğu arttıkça toksisite azalır. Aynı bileşiklerin, akut zehirlenmelerde karaciğerde hemorajilerle birlikte görülen sentriolobüler nekroza yol açmasına karşın (36), siklik nitrozaminler, daha çok sentral sinir sisteminde hasara neden olurlar. Bu tür bileşiklerin akut toksik etkilerine karşı tür ve cinsiyet duyarlılığı söz konusudur. Farklı türden deney hayvanlarında ölçülen LD₅₀ dozları önemli derecede ayırım göstererek 20-2500 mg/kg limitleri arasında kalır (9,10,42).

N-nitrozo bileşiklerinin başlıca tehlikesi, güçlü kanserojenik etkiye sahip olmalarından kaynaklanır (25). Çünkü, 1956 yılında kanser yapıcı etkileri ortaya çıkartıldıktan sonra (22), farklı türden hayvanlarla yapılan kansinojenite testleri sonucunda 80 çeşit nitrozamin ve 23 nitrozamid türevinin hemen bütün organ sistemlerinde maliyın tümör oluşturdukları saptanmıştır (26). Genel bir kural olarak, uygulandıkları bölgenin çok uzağında ve çeşitli tiplerde tumor oluşturma şeklinde etkileyen bu bileşiklerden nitrozamin türevlerinin daha çok karaciğer, özefagus, solunum sistemi ve böbrekler, nitrozamid türevlerinin de özellikle sinir ve gastrointestinal sistemlere yönelik etki gösterdikleri belirlenmiştir (2,4,9,10). Öte yandan, kansinojenite testi uygulanan hayvanlardan maymun dahil, çoğu kemirici memeli, kuş, balık ve amfibilerden oluşan 10 çeşit canlı türünün bu bileşiklerin kansinojenik etkilerine karşı duyarlı oldukları anlaşılmıştır (9,10,25).

Karsinojenik etkinin seçiciliği üzerinde alınan doz miktarının rolü olduğu anlaşılmıştır. Örneğin, nitrozodietilamin (NDEA) uzun süre küçük dozlar halinde verildiğinde karaciğer tümörü oluşturmamasına karşın, kısa sürede veya birkaç büyük doz halinde verildiğinde daha çok böbrek tümörüne neden olmaktadır (23). Diğer bileşiklerle yapılan çalışmalardan da benzeri sonuçlar alınmıştır (9).

Tümör şekillenmesi üzerinde cinsiyetin de etkili olduğu bildirilmektedir. Hastalık insidensinin erkeklerde (% 75) dişilerden (% 28) daha yüksek olduğu kaydedilmektedir (20). Öte yandan, N-nitrozo bileşiği uygulanan ratlarda üç kuşak boyunca tümör oluştuğu görülmüştür (42).

Diğer kimyasal kanserojenler, örneğinde görüldüğü gibi, mutajenik ve karsinojenik etki arasında görülen yakın ilişki, N-nitrozo bileşikleri için de geçerlidir. Nitekim, *Salmonella typhimurium* ve *Drosophila melanogaster* üzerinde yapılan mutajenite testlerinde bu grup bileşiklerin çoğunluğu mutajenik etkili bulunmuştur (26, 28).

N-nitrozo bileşikleri, genototoksik özellikli prekansinojenler grubunda yer alırlar. Yani karsinojenik etkiden kendileri değil, DNA ile etkileşime girebilen reaktif metabolitleri sorumludur (37). Bu bileşiklerin karsinojenik etkisi, ara ürün olarak şekillenen diazo alkanlara ($R_1-H_2 C-N\equiv N$) bağlanmaktadır. Belirtilen ara üründen azotun ayrılmasıyla geriye kalan elektrophil karbonyum iyonu (R_1-H_2C) DNA, RNA ve benzeri makromoleküller için kuvvetli bir alkilleme ajanı olarak etkirler (36,42).

Bu çalışmada, Ankara piyasasından sağlanan salam, sosis, sucuk, pastırma ve jöle işkembe gibi işlenmiş et ürünlerinde nitritli bileşiklerin kullanılmasına bağlı olarak şekillenen başlıca nitrozamin türevleri varlığının saptanması ve yoğunluk düzeylerinin ölçülmesi, amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Analiz materyali: Çalışmada, araştırma materyali olarak, Ankara piyasasından satın alınan 35 salam, 20 sosis, 20 sucuk, 10 pastırma ve 5 jöle işkembeden oluşan toplam 90 işlenmiş et ürünü örneği kullanıldı. Mayıs-Eylül-1983 ayları arasında sürdürülen örnekleme işlemleri sırasında kesintisiz üretim yapan 9 ayrı firmanın farklı üretim partilerinden örnekler alınmasına özen gösterildi. Analiz programı uyarınca düzenli olarak sağlanan örnekler bekletilmeksizin analiz edildiler.

Aygıtlar ve ayıraçlar: İşlenmiş et ürünlerinde bulunan volatil nitrozamin türevleri analizi için gerekli olan bütün ayıraçlar ve çözücüler Telling (39)'in geliştirdiği yöntemle göre seçildi ve hazırlandı. Yalnız bu yöntemde bildirilen (39) nitrozamin türevi standartları içerisinde 1-nitrozodimetilamin (NDMA, Sigma, No: N-7756), 2-nitrozodietilamin (NDEA, Sigma, No: N-0756), 3-nitrozodi-N-propilamin (NPrp), Sigma, No: N-5007), 4-nitrozopiperidin (NPip, Sigma, No: N-6007) ve 5-nitrozopirrolidin (NPyr, Sigma, No: N-6257) çeşitleri seçildi.

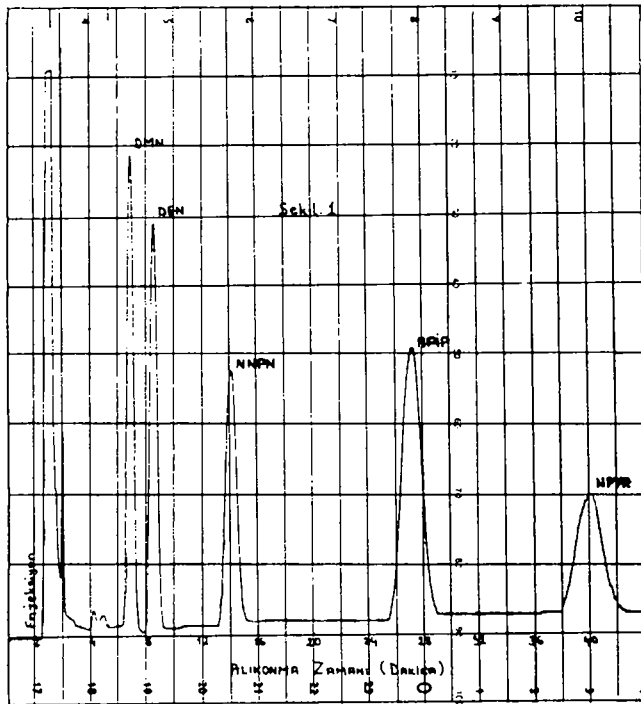
Nitrozamin standartları şiddetli kanserojenik etkili olduğundan, doğabilecek maruziyet riskinin bertaraf edilebilmesi için, standard çözeltilerin hazırlanması ve oksitleme çalışmaları çeker ocakta yürütüldü ve bir kullanımlık polietilen eldivenlerden yararlanıldı.

Aygıtlar ve ayıraçlar: Analizler aşamasında seçilen analiz yönteminde (39) bildirilen bütün aygıt ve ayıraçlardan yararlanıldı. Ancak, gaz-sıvı kromatografi cihazı (Pye-Unicam, Model-104), laboratuvar olanaklarımıza göre, Ni⁶³ elektorn tutucu detektör, 60-80 mesh kromosorb WAW üzerine % 10 carbowax 20 M TPP ile kaplanmış dolgu maddesi içeren 1.8 m uzunluğunda ve 4 mm iç çaplı cam kolon, 1 mV' luk kaydedici (Philips PM-800 Model) ve basınçlı azot gazı tüpü ile donatıldı.

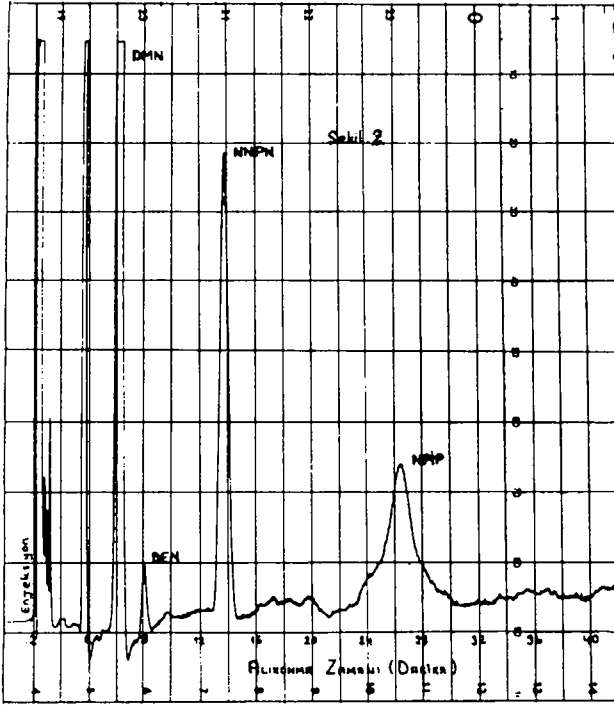
İşlenmiş et ürünlerinde şekillenebilen 5 çeşit volatil nitrozamin türevi varlığının saptanması ve nicel tayini amacıyla Telling (39) tarafından geliştirilen bir yöntem kullanıldı. Elektron tutucu gaz-sıvı kromatografi esasına dayanan bu yöntem, 0.5 ng nitrozamin türevi varlığına duyarlıdır. Analiz aşamalarının dayandığı başlıca temel ilkeler, et ürünlerindeki nitrozamin türevlerinin su buharı distilasyonu ile ekstraksiyonu, ekstraktın sıvı-sıvı dağılım ve kolon kromatografisi teknikleriyle temizlenmesi, nitrozamin türevlerinin peroksitrifluoroasetik asit ile oksitlenerek nitramin türevlerine çevirilmesi, elde edilen karışımın gaz-sıvı kromatografisiyle ayrımı ve nicel tayini aşamasına dayanmaktadır.

Gaz kromatografisiyle yapılan çalışmalar sırasında en uygun kromatografik koşulların sağlanabilmesi amacıyla çalışma seçenekleri: a) taşıyıcı gaz akış hızı: 50 ml/dakika, b) kolon fırını sıcaklığı: 130 °C, c) enjeksiyon yeri sıcaklığı: 225 °C, d) detektör fırını sıcaklığı: 220 °C ve e) attenuation: 50 X 1 olarak değiştirildi.

Standard kromatogramların hazırlanması: Yukarıdaki koşullarda hazırlanan gaz kromatografa 5 ayrı nitramin türevi standardının 1 µg/ml'lik çözeltilerinden ayrı ayrı 2 µl enjekte edilerek, her türevin alıkonma zamanları saptandı. İkinci aşamada 5 çeşit nitramin türevini bir arada içeren 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0., 4.0, 5.0 ve 10.0 µg/ml yoğunluklu standard çözelti karışımları hazırlandı. Bu çözeltilerden 2 µl gaz kromatografa uygulanarak her türev için standard kromatogramlar elde edildi (Şekil 1). Standard kromatogramlarda farklı yoğunlukların pik alanları hesaplanarak kalibrasyon grafikleri çizildi. Analiz örneklerine ait kromatogramlardaki nitrozamin türevlerini karşılayan pik alanları da hesaplanarak, kalibrasyon eğrisine uygulanmak suretiyle nicel tayinleri yapıldı (Şekil 2).



Şekil 1: Standart nitrozamin türevlerinin EC. gaz-sıvı kromatografisiyle hazırlanmış kromatogramları. DMN: nitrozodimetilamin, (1.5 ng), DEN: nitrozodietilamin (1.5 ng), NNPN: nitrozodi-n-propilamin (1.5 ng), NPİP: nitrozopiperidin (1.5 ng) ve NPYR: nitrozopirrolidin (1.5 ng).



Şekil 2: Ankara Salam Sosis Fabrikası ürünlerinden seçilmiş salam örneği ekstraktının EC. gaz-sıvı kromatografisi ile hazırlanmış kromatogramı. DMN: nitrozodimetilamin, DEN: nitrodietilamin, NNPN: nitrodi-n-propilamin, NPİP: nitrozopiperidin.

Bulgular

Analizi gerçekleştirilen 90 adet işlenmiş et ürünü örneğinin üretici firmalara ve ürün çeşidine göre dağılımı ile örnekleme döneminin tarihleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Bireysel analiz sonuçları 0.01 ile 117.07 ppb düzeyleri arasında ayırım gösterdiğinden, bütün ölçüm sonuçlarının ayrı ayrı dökümünü verme yerine, yoğunluk düzeyleri bakımından birbirlerine en yakın olan değer gruplarında toplanarak frekans çizelgesi haline getirilmiştir. (Tablo 2). Tablo 2'deki frekans grupları sadece tam sayılardan sonra ondalık değerler bakımından ayırım gösteren sonuçların aynı birimde toplanmasıyla oluşturulmuştur. Böylece, 0.01 ppb'den 10.0 ppb'e kadar olan ve birbirlerinden sadece 0.1 ppb yoğunluk farkı gösteren analiz sonuçları 11 grupta toplanırken; 11.00–20.00 ppb ile 21.00–117.07 ppb yoğunlukları arasında kalan ölçüm sonuçları da iki ayrı grupra kümelendi.

Tablo 2: Analizi gerçekleştirilen işlenmiş et ürünü örneklerine ilişkin bireysel analiz sonuçlarının yoğunluk gruplarına göre dağılımı

Yoğunluk grubu (ppb veya µg/kg)	Et ürünü çeşitleri																								
	salam					sosis					sucuk					pastırma					Jöle işkembe				
	NDMA	NDEA	NP _{rp}	NP _{ip}	NP _{yr}	NDMA	NDEA	NP _{rp}	NP _{ip}	NP _{yr}	NDMA	NDEA	NP _{rp}	NP _{ip}	NP _{yr}	NDMA	NDEA	NP _{rp}	NP _{ip}	NP _{yr}	NDMA	NDEA	NP _{rp}	NP _{ip}	NP _{yr}
0.01-0.10	1	3	1	2	9	-	2	2	3	5	-	3	1	5	5	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
0.11-1.00	9	12	1	7	6	3	4	2	3	2	-	1	3	6	7	-	2	3	3	-	-	1	1	4	2
1.01-2.00	5	2	-	4	7	3	2	3	1	1	-	-	2	1	-	-	-	1	-	-	-	1	1	-	2
2.01-3.00	3	1	1	1	1	3	-	1	-	1	1	-	1	2	-	1	-	-	-	-	-	2	-	-	-
3.01-4.00	1	-	2	-	1	2	1	-	1	-	3	-	1	-	-	1	-	1	-	1	-	1	-	-	-
4.01-5.00	1	2	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5.01-6.00	1	-	-	-	1	-	-	-	-	1	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-
6.01-7.00	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	4	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-
7.01-8.00	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8.01-9.00	1	1	-	-	-	2	-	-	-	-	2	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9.01-10.00	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10.00-20.00	5	1	-	-	-	2	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
20.01-117.07	5	-	-	1	-	4	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Toplam	35	22	5	15	25	20	9	8	8	11	20	4	9	14	13	7	2	5	5	2	4	5	2	4	5

Tablo 1: Analizi gerçekleştirilen işlenmiş et ürünü örneklerinin üretici firmalara, örnekleme tarihlerine ve ürün çeşidine göre dağılımı

Analiz örneği kaynakları	Et ürünü çeşitleri ve sayıları					
	Örnekleme tarihi	salam	sosis	sucuk	pastırma	jöle işkembe
Ankara Salam Sosis Fabrikası (Ankara)	22.6.1983-19.7.1983	5	2	-	-	-
Apikoğlu Et Sanayii (İstanbul)	1.6.1983-19.7.1983	2	2	5	-	-
Başkent Salam Sosis Fabrikası (Ankara)	31.5.1983-19.7.1983	10	6	-	-	-
Beşler Et San. (Kayseri)	8.6.1983-17.8.1983	-	-	-	5	5
Coşkun Et ve Mamülleri Sanayii (İstanbul)	1.6.1983-19.7.1983	2	2	-	-	-
Ersan TAŞ (Erzincan)	22.6.1983-30.9.1983	-	2	5	-	-
Et ve Balık Kur. (Ank.)	3.5.1983-27.9.1983	15	6	-	-	5
Harmancı Et Sanayii (Kayseri)	8.6.1983-16.9.1983	-	-	5	5	-
Ömür Et Sanayii (İstanbul)	19.7.1983-21.8.1983	1	-	-	-	-

Tablo 2'deki bireysel analiz sonuçlarının yoğunluk değerleri bakımından dağılım incelendiğinde, 5 çeşit nitrozamin türevine göre saptanan 259 değerın tüm frekans gruplarına dağıldığı ve rastlantı sıklığının % 5.8 ile % 32.04 arasında değiştiği görülmektedir. Ancak sonuçların dağılım durumu anlamlı sayılabilecek yoğunluklar yönünden ele alındığında, bütün bireysel analiz sonuçlarının % 49 oranında 1 ppb'den daha düşük, % 29'unun 1.0-5.0 ppb; % 11.5'unun 5.0-10.0 ppb ve % 10.5'unun da 11.00-117.07 ppb arasında kaldığı dikkati çekmektedir.

Bireysel analiz sonuçları dikkate alınarak 5 çeşit nitrozamin türevi için belirlenen en düşük ve en yüksek analiz sonuçları NDMA, NPip, NPyr, NDEA ve NPRp sırasıyla ve ppb olarak 0.05-117.07, 0.02-73.17, 0.02-9.65, 0.02-8.16 ve 0.01-4.86 olarak belirlenmiştir.

Bireysel analiz sonuçlarının (Tablo 2) nitrozamin türevi çeşidine göre gruplandırılarak değerlendirilmesi sonucunda, analizi gerçekleştirilen 90 işlenmiş et ürününün 87'sinde (% 96.6) NDMA, 39'unda (% 43.3) NDEA, 27'sinde (% 30) NPyr ve 50'sinde de (% 55.5) NPip varlığı saptanmıştır. Bu durum ise, analiz örneklerinin çoğunluğunda birden fazla nitrozamin türevinin şekillendiğini ortaya koymaktadır. Nitekim, bireysel analiz sonuçlarının bu yönden ele alınmasıyla, işlenmiş et ürünü örneklerinin % 10'unda 1, % 17.7'sinde 2, % 20'sinde 3, % 32.3'ünde 4 ve % 20'sinde de 5 çeşit nitrozamin türevinin bulunduğu anlaşılmıştır.

Analiz örneklerinde şekillenen nitrozamin türevlerinin ortalama yoğunluk düzeylerini belirleyebilmek amacıyla, bireysel analiz sonuçları et ürünü ve bileşik çeşidine göre gruplandırılarak istatistik yönden değerlendirilmiştir. Hesaplanan ortalama yoğunluk değerleri ve standard hataları Tablo 3'de toplanmıştır. Tablo 3'de toplanan verilerin total nitrozamin türevleri içeriği bakımından karşılaştırılmasıyla, en fazla kirlenmiş et ürününün salam örnekleri (20.743 ppb) olduğu, bunu sırasıyla sucuk (17.747 ppb), jöle işkembe (10.479 ppb), sosis (9.241 ppb) ve pastırma (7.272 ppb) çeşitlerinin izlediği ortaya çıkmıştır.

İşlenmiş et ürünlerinde en fazla şekillenen nitrozamin türevinin belirlenebilmesi amacıyla Tablo 2'deki değerler esas alınarak yapılan bir karşılaştırmayla da en yoğun nitrozamin türevinin NDMA (8.23 ppb) olduğu, bundan sonra azalan sırayla NPip (1.00 ppb), NPyr (0.55 ppb), NDEA (0.52 ppb) ve NPRp (0.47 ppb) türevlerinin geldiği anlaşılmıştır. Diğer bir anlatımla, işlenmiş et ürünlerinde şekillenen NDMA

Tablo 3: İşlenmiş et ürünü örneklerinde saptanan nitrozamin türevlerinin ortalama yoğunluk düzeyleri (ppb)

Ürün	nitrozamin türevleri				
	NDMA	NDEA	NPrp	NPip	NPyr
Salam	11.885 ± 4.046	0.83 ± 0.159	0.52 ± 2.787	2.832 ± 2.0.55	0.672 ± 0.126
Sosis	0.845 ± 3.161	0.368 ± 0.175	0.305 ± 0.257	0.369 ± 0.180	0.392 ± 0.156
Sucuk	15.534 ± 3.381	0.025 ± 0.016	0.147 ± 0.176	0.819 ± 0.305	0.623 ± 0.054
Pastırma	5.983 ± 1.188	-	0.418 ± 0.116	0.716 ± 0.328	0.115 ± 0.175
Jöle işkembe	6.895 ± 1.738	1.376 ± 0.291	0.978 ± 0.589	0.288 ± 0.103	0.942 ± 0.175

yoğunluğu NDEA ve NPrp'dan 17, NPip'den 9 ve NPyr'den de 16 kez daha yüksek olduğu hesaplanmıştır.

Üretici firmalara göre ürünlerin kirlenme durumunu belirleyebilmek için, her örnekte saptanan nitrozamin türevleri toplamının firmalara göre gruplandırılmasıyla hesaplanan istatistik değerler arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır (Tablo 4). Tablo 4'de toplanan veriler incelendiğinde, 5 ayrı ürün çeşidi için hesaplanan en yüksek total nitrozamin yoğunluklarının farklı firmalara dağıldığı görülmektedir. Yani farklı firmalar tarafından üretilen aynı çeşitten ürün örneklerinde hesaplanan ortalama total nitrozamin yoğunlukları arasında önemli bir ayırım bulunmamaktadır.

Tablo 4: Bireysel analiz sonuçlarının üretici firmalara ve ürün çeşidine göre gruplandırılmasıyla hesaplanan ortalama total nitrozamin yoğunlukları (ppb veya µg/kg olarak)

Üretici firmalar	et ürünleri				
	salam	sisis	sucuk	pastırma	jöle işkembe
Ankara Salam ve Sosis Fabrikası	84.28	11.98	—	—	—
Apikoğlu et Sanayi	24.885	28.285	8.158	—	—
Başkent Salam ve Sosis Fabrikası	17.905	7.560	—	—	—
Beşler Et Sanayii	—	—	39.319	4.93	—
Coşkun Et ve Mamulleri Sanayi	9.540	22.560	—	—	—
Ersan TAŞ	—	13.11	4.92	—	—
Et ve Balık Kurumu	3.785	4.824	—	—	10.260
Harmancı	—	13.11	11.145	10.981	—
Ömür Et Sanayi	1.58	—	—	—	—

Tartışma ve Sonuç

N-nitrozo türevlerinin yaratabileceği sağlık sakıncalarının değerlendirilebilmesi ve gerekli önlemlerin alınabilmesi bakımından, çevrede ve besinlerdeki varlıklarının saptanması ve düzeylerinin belirlenmesi, büyük önem taşır (2). Genellikle milyarda kısım (ppb) düzeyinde bulunan bu tür bileşiklerin ortamdaki ayırt edilmesi ve yoğunluklarının

saptanabilmesi için, son derece duyarlı ve güvenilir analiz yöntemlerine gereksinme vardır (8). Bu çalışmada volatil nitrozaminlerin tayini için Telling (39) tarafından önerilen elektron-tutucu gaz-sıvı kromatografisi esasına dayanan bir yöntem kullanılmıştır. Belirtilen detektör tipi, söz konusu bileşiklerin nitramin türevlerine karşı 0.5 ppb düzeyine kadar inebilen bir duyarlığa sahiptir. Etkili bir ekstraksiyon ve temizleme işleminden sonra, ekstrakt ortamındaki nitrozaminler peroksitrifluoroasetik asit ile oksitlenerek nitramin türevlerine çevirildiğinden, interferans olasılığı da büyük ölçüde bertaraf edilebilmektedir. Bu nedenlerle, kullanılan analiz yöntemi, son yıllarda en fazla itibar edilen tayin seçeneklerinden biri olarak değerlendirilmektedir (2,30, 31,32,42).

Analiz örneklerinde saptanan nitrozamin türevleri arasında görülen yoğunluk farklılıkları, benzeri araştırmalarda (7,8,15,30,32,42) normal bir bulgu olarak değerlendirilmektedir. Çünkü, bu tür bileşiklerden NDMA, in vitro ortamlarda en yüksek yoğunluklarda şekillenebilmekte ve ısıl değişikliklere de dayanıklı olduğundan, fazlaca kayba uğramaksızın işlenmiş et ürünlerinde birikebilmektedir (17). Oysa, NPyr ve NPip, daha çok baharatlı işlenmiş et ürünlerine uygulanan ısıl işlemler sırasında dekarboksilasyona uğrayan piperolidin ve piperidin bileşiklerinin nitritle birleşmesi sonucunda şekillenebilmektedir. Ayrıca, bir bölümleri pişirilmiş veya kızartılmış ürünlerin yağlı artıklarına geçerken, bir bölümleri de ısıl işlemler sırasında hızla kayba uğramaktadır (32).

Nitrozamin türevlerinin güçlü birer kanserojenik madde oldukları anlaşıldıktan sonra (10,11), oluşma yolları ve başlıca kaynaklarını belirlemeğe yönelik araştırmalar giderek yoğunlaşmıştır (24). Amin-nitrit etkileşmesi sonucu in vitro ve in vivo koşullarda şekillenebildikleri anlaşılan bu tür bileşiklerin özellikle işlenmiş et ve balık ürünlerinde yoğun bir biçimde bulunabilecekleri anlaşılmıştır (25,29,30). Söz konusu ürünlerde oluşan nitrozamin türevlerinin çeşidi, ortamdaki ön maddelerin bileşimine bağlı kalmakla beraber, NDMA çeşidine sıklıkla ve yoğun olarak, diğerlerine ise, daha düşük düzeylerde rastlanabileceği bildirilmektedir (42). Sen ve ark. (33,35) tarafından yapılan bir çalışmada, önceden nitrit ve baharat çeşitleri katılarak, ısıl işlemlerle hazırlanmış et ürünlerinde özellikle NDMA, NDEA, NPip ve NPyr çeşitleri olmak üzere, en az 4 ayrı nitrozamin türevinin şekillenebileceği ortaya konmuştur. Crosby ve ark. (8) ile Pensabene ve ark. (27)'ınca gerçekleştirilen çalışmalarda da benzeri sonuçlar alınmıştır. Preuss-

mann (28)'in bildirdiğine göre de, salam örneklerinin % 80'inde 2 veya 3 çeşit, tütsülenmiş et örneklerinde ise, 5 çeşit nitrozamin türevinin varlığı saptanmıştır.

Yukarıda özetlenen literatür bilgilerden de anlaşılacağı üzere, işlenmiş et ürünlerine koruyucu, özgün renk saptayıcı ve aroma verici amaçlarla katılan nitritli bileşikler ile baharat çeşitleri, bu ürünlerde bulunan nitrozaminlerin başlıca kaynağını oluşturmaktadır (1,7,33,34). Soruna değişik bir boyut kazandıran bu uygulamaların yol açtığı sakıncalar, özellikle nitritlerin reaktif ön madde oluşturması, baharatların fazlaca piperidin ve pirrolidin içermesi (32), pişirme, tütsüleme ve kızartma gibi ısıl işlemlerin de katalitik etkisiyle pirroliz ürünlerinin şekillenmesine sebep olmasından kaynaklandığı sanılmaktadır (27,37).

Bu çalışmada Ankara piyasasından sağlanan işlenmiş et ürünlerinde saptanan nitrozamin türevleri ile benzeri çalışmalarda belirlenen çeşitler arasında yakın bir benzerliğin bulunduğu görülmektedir. Bu durum ise, ülkemizde söz konusu ürünlerin hazırlanması aşamasında, yaygın bir şekilde nitritli bileşiklerin kullanıldığını vurgulamaktadır.

Besinlerle birlikte nitrozaminlerin alınması bakımından, işlenmiş et ve balık ürünlerinin başlıca kaynak oluşturabileceği gerçeğinin anlaşılması üzerine (24,34), bütün gelişmiş ülkelerde bu tür ürünlerde nitrozaminlerin şekillenme sıklığı ve boyutlarını belirlemeğe yönelik tarama çalışmalarına hız verilmiştir (42). Bu hususta fikir sahibi olabilmek için, konuya ilişkin yayınlanmış belli başlı araştırma sonuçlarına kısaca göz atıldığında: Çeşitli ülkelerde nitritli bileşikler katılarak hazırlanmış ham ya da hazır durumdaki pastırma örneklerinde 0.8-30.0 ppb NDMA, 0.2-4.43 ppb NDEA, 0.6 ppb nitrozodibutilamin (30, 38), 0.6-31.0 ppb NPip ve 0.4-207.0 ppb NPyv varlığı saptanmıştır (8,14,27,32). Normal, frankfurter ve bologna tipi sosiler ile salam çeşitlerinde 0.1-80.0 ppb NDMA, 1.0-25.0 ppb NPyv (24,30,41,42), çeşitleri saptanırken, baharatlı jambon çeşitlerinde de 1.0-0.8 ppb NDMA, 4.0-8.0 ppb NPip ve 6.0-54.0 ppb NPyv türevlerine rastlanmıştır (12,14,27,28).

Tütsülenmiş et çeşitlerinde 2.0-51 ppb NDMA, 0.6 ppb NDEA, 0.4 ppb nitrozodibutilamin ve 0.1-31.0 ppb dolayında da NPip ve NPyv bulunurken (12,27,35), aynı ürünlerin baharatlanmış çeşitlerinde 5.0-48.0 ppb NDMA, 6.0-16.0 ppb NDEA, 14.0-50.0 ppb NPip ve NPyv türevleri belirlenmiştir (34). Çeşitli ülkelerde avlanmış salamura

veya tütsülenmiş balık çeşitlerinde sadece NDMA varlığına rastlan-
mış olmasına karşın, yoğunluğunun anlamlı ölçülerde yükselerek
1.0–400.0 ppb arasında değiştiği kaydedilmektedir (8,15).

Çeşitli ülkelerde tüketilen işlenmiş et ürünlerinin nitrozamin içe-
riklerine ilişkin olarak yukarıda bildirilen rakamsal veriler, Ankara
piyahasından sağlanan et ürünlerinin analiz bulgularıyla karşılaştırıl-
dığında, analiz materyalini oluşturan örneklerde saptanan kirlenme
sıklığının (% 43.3–96.6) diğer ülkelerde karşılaşılanlara (% 10–90)
göre daha yüksek olduğu dikkati çekmektedir. Öte yandan, ürün çe-
şitlerine göre nitrozamin türevleri için hesaplanan ortalama yoğunluk
düzeyleri yanında (Tablo 3), her türev için hesaplanan en düşük ve en
yüksek analiz bulguları (0.01–117.07 ppb) ile literatürlerde bildirilen
aynı nitelikli değerlerin (0.1–149.0 ppb) birbirlerine çok yakın olduğu
görölmektedir. Bu durum ise, çalışmada sağlanan bulguların sağlıklı
ve gerçekçi ölçülerde olduğunu, dolayısıyla ülkemizde tüketilen işlen-
miş et ürünlerinin büyük çoğunlukla sakıncalı düzeylerde nitrozamin
türevleri içerebileceğini vurgulamaktadır. Çünkü, konuya ilişkin ola-
rak yayınlanmış yabancı araştırmaların (8,21,24,30,32) hemen hepsin-
de benzeri bulgular tehlikeli olarak değerlendirilmektedir.

İşlenmiş et ürünü çeşitlerinin üretici firmalara göre gruplandırıl-
masıyla hesaplanan ortalama total nitrozamin yoğunluklarının sergi-
lendiği Tablo 4'deki verilerde de açıkça görüldüğü üzere, Ankara Sa-
lam Sosis Fabrikasının salam örnekleri için hesaplanan total nitro-
zamin yoğunluğu (84.28 ppb) bir yana bırakılırsa, diğer firmalara ait
aynı çeşitten ürünler için hesaplanan değerlerin birbirlerine yakın oluşu
dikkati çekmektedir. Bu durumdan da Türkiye et sanayiinde yaygın
bir şekilde yasal limitlerin üstünde nitritli bileşiklerin kullanıldığı ve
aşağı yukarı aynı üretim tekniklerinin uygulandığı anlaşılmaktadır.

Ankara Salam Sosis Fabrikasının salam örneklerine ilişkin birey-
sel analiz sonuçları (18.00–117.07 ppb) ile ortalama toplam nitrozamin
yoğunluğunun diğer firmalara ait ürünler için hesaplanan değerlerden
ortalama 3 katı daha yüksek bulunması nedeninin ya daha fazla nitrit
katılmasından, ya da sekonder amin bakımından zengin dolgu maddesi
kullanılmasından ileri geldiği sanılmaktadır.

N-nitrozo bileşiklerinin çevrede ve besinlerde yaygın olarak bu-
lunabilmesi yanında (15,20,24,42), bakteriyel etkinlikle in vivo koşul-
larda insan ve hayvanların ağız boşluğu, düşük pH'lı mide ve barsak-
lar ile enfekte idrar kesesinde de kolayca şekillenebildiği ortaya çıkartıl-

mıştır (1,6,16,31). Bu yüzden söz konusu bileşiklerin eksojen ve endojen etken niteliğinde, sürekli kanserojen etki riski yarattığına inanılmaktadır (21,24,28). Dolayısıyla, insanlarda sık karşılaşılan bazı kanser çeşitleri ile bu grup bileşiklere bağlı maruziyet arasında yakın bir ilişki bulunduğu inanılmaktadır (13,16,23,26,29).

Bazı ülkelerde sık karşılaşılan kanser olgularıyla çevresel kaynaklı nitrozaminlerin ilişkisini belirlemeğe yönelik olarak yapılmış epidemiyolojik araştırma sonuçları da yukarıdaki görüşleri doğrular niteliktedir (24,42). Güney Çin, Honkong ve Kuzey Tayland halklarında karşılaşılan yaygın nazofarinks kanserleri, fazlaca salamura balık tüketimine bağlanırken (15), Güney Afrika, İran ve Çin'in bazı bölgelerinde görülen özefagus kanserlerinin de yüksek düzeylerde nitrat içeren tahıl tüketiminden kaynaklandığı ileri sürülmektedir (42). Keza Japonya, Şili, Kolombiya, İngiltere ve Finlandiya toplumlarında sık karşılaşılan mide ve kolon kanserlerinin çoğu kez fazlaca salamura balık, işlenmiş et ürünleri ve nitratlı suların tüketimiyle birleştiği bildirilmektedir (16,21,25,28).

Druckrey ve ark. (9)'nın bildirdiklerine göre, nitrozamin karsinogenезisi "hızlandırılmış bir prosestir". Sürekli maruziyet söz konusu olduğunda, günlük alım dozu ile tumor şekillenmesi için gerekli ortalama indüksiyon zamanı arasında yakın bir ilişki vardır. Günlük alınan dozun artmasına koşut olarak kanserojen etki riski de artmakta ve tumor şekillenme süresi kısalmaktadır.

Kuramsal olarak 0.05 mmol/kg dozunda verilen NDMA, NDEA ve NPip bileşiklerinin rölatif risk faktörü, sırasıyla 7,6 ve 1 olarak hesaplanmıştır. Bu durum ise, besinlerde ve çevrede bulunan düşük yoğunluklu, fakat yüksek kanserojen etkinliğe sahip nitrozamin türevlerinin, yüksek yoğunluklu ama zayıf etkinlikli bileşiklerden daha tehlikeli olabileceğini vurgulamaktadır (3).

Besinlerle birlikte uzun süre alınan nitrozamin türevlerinin ratlarda maliyn tumor meydana getiren en küçük dozları NDEA için 0.075 mg/kg (9) ve NPyr için de 8 mg/kg olarak belirlenmiştir (28). Fare ve hamsterlerde kanserojen etki yapan günlük NDMA dozu da 1 mg/kg dolayında belirlenmiş olmakla beraber (42), yiyeceklerle birlikte 2 ppm (2 mg/kg) yoğunluğunda verildiğinde bile, ratlarda maliyn tumor oluşturduğu saptanmıştır (40). Bu bileşiğin rölatif risk faktörünün daha yüksek olması da göz önünde tutularak, kanserojen etki riski yaratan en küçük oral dozunun daha düşük düzeylerde olabileceği ileri sürülmektedir (3,21).

Nitrozamin karsinogenезisinin önlenmesi için, vücut hücresi başına düşen kanserojenik madde yoğunluğunun 10^4 molekülden daha düşük düzeylerde olması gerektiği hesaplanmıştır. Çünkü, belirtilen yoğunluk düzeylerinde intrasellüler biyokimyasal etkileşmeler gerçekleşmemektedir (3). Bu eşik değer esas alındığında, besinlerde bulunan bir kaç ppb yoğunluğundaki nitrozamin varlığının büyük bir sakınca yaratmayacağı varsayılabilirse de, bu yöndeki biyokimyasal olaylara diğer etkileşmelerin de katılma olasılığı bulunduğundan, değerlendirmelerin çok yönlü olarak yapılması gerekir (10,13). Şöyle ki; özellikle organ seçiciliği söz konusu olduğunda, farklı kimyasal karsinogenler additif ve hatta sinerjistik etkileşme gösterebilirler. Bu durum, aynı etki mekanizmasına sahip N-nitrozo bileşikleri yönünden de geçerlidir (4,22). Genellikle kimyasal kanserojenlerin bireysel etkileri birikme eğilimindedir; dolayısıyla güvenlik eşiği düzeylerinden daha az yoğunluklarda alınsalar bile, kanserojen etki riski yaratabilirler (3,28). Muhtemelen insanlar, kimyasal kanserojenlerin olumsuz etikelerine karşı daha duyarlıdır. Oysa, bu alandaki bütün bilimsel veriler deney hayvanlarına uygulanan testlerden sağlanmıştır (42).

Yukarıda açıklanan gerçeklere koşut olarak, kanserojenik etkinin irreverzibl nitelikli oluşu da göz önünde tutulursa, diğer kanserojenlerde olduğu gibi, nitrozamin türevleri için de etkisiz bir günlük alım dozunun belirlenemeyeceği kolaylıkla değerlendirilebilir (4,9). Bilimsel olarak nitrozaminlerden ileri gelen bir "maruziyetin kabul edilemeyeceği" ya da "hiç maruz kalmama" anlamına gelen bu zorunluluk, aynı zamanda besinlerde bulunan kirlilikler için de "sıfır tolerans limiti" uygulamasını öngörmektedir (3,21,26,28).

Buraya kadar özetlenen bilimsel gerçekler karşısında, bugün için, bütün dünyada işlenmiş et ve balık ürünlerinde bulunabilen nitrozaminlerin denetimine ilişkin sınırlayıcı herhangi bir yasal uygulama getirilememektedir. Bu nedenle de Ankara piyasasından sağlanan analiz örneklerinde saptanan düzeylerde nitrozamin içeren işlenmiş et ürünlerinin insan besini olarak kullanılıp, kullanılmayacağına ilişkin kesin bir yargıya varmak oldukça zordur. Ancak, nitrozaminlerden ileri gelen bir maruziyetin önlenmesi için "etkisiz bir günlük alım dozunun" belirlenememiş olması ve irreverzibl nitelikli kansinogenik etkilerinin birikme eğilimi göstermesi gibi gerçekler dikkate alınarak, sürekli tüketimi söz konusu olan bu tür besinlerin uzun süreçte kanserojen etki riski yaratabileceği görüşüne varılmıştır.

Sonuç olarak, çalışmayla elde edilen bulguların literatür verilerin ışığında çeşitli yönlerden değerlendirilmesiyle, Ankara piyasasından sağlanan işlenmiş et ürünü örneklerinin sakıncalı sayılabilecek düzeylerde nitrozamin türevleri içerdiği anlaşılmıştır. Sürekli tüketimleri söz konusu olduğunda, kanserojen etki riski yaratabilecek boyutlarda görülen bu durumun, büyük bir olasılıkla söz konusu ürünlere aşırı ölçülerde nitritli bileşikler ve baharat çeşitlerinin katılmasından kaynaklandığı sanılmaktadır.

Literatür

1. Alam, B.L., Saporoschit, İ.E. and Epstein, S.S. (1971): *Synthesis of nitrosopiperidine from nitrate and piperidine in the gastrointestinal tract of the rat.* Nature, 232: 199-200.
2. Althorpe, J., Goddard, D.A., Sissons, D.J. and Telling, G.M. (1970): *The gas chromatographic determination of nitro samines at the picogram level by conversion to their corresponding nitramines.* J. Chromatogr., 53: 371-373.
3. Archer, M.C. and Wishnok, J.S. (1977): *Quantitative aspects of human exposure to nitrosamines.* Fd. Cosmet. Toxicol., 15: 233-235.
4. Arcos, J.H. (1978): *An overview part I. Cancer: Cehmical factors in the environment.* Intern. Laboratory, 8: 105-113.
5. Boyland, E. (1980): *The history and futur of chemical carcinogenesis.* Brit. Med. Bull., 36: 5-10.
6. Broekhoven, Z.W. and Davies, J.A.R. (1981): *The analysis of volatile N-nitrosamines in the rumen fluids of cows.* Neth. J. Agric. Sci., 29: 173-177.
7. Cooper, P. (1976): *Dietary nitrosamines.* Ed. Cosmet. Toxicol., 14: 205-217.
8. Crosby, N.T., Foreman, J.K., Palframan, F.J. and Sawyer, R. (1972): *Estimation of steam volatil N-nitrosamines in foods at 1 µg/kg level.* Nature, 238: 342-352.
9. Druckrey, H., Preussmann, P., Ivankoviç, S. and Schmahl, D. (1967): *Organotropic carcinogenic effects of 65 different N-nitroso compounds in BD-rats.* Z. Krebsforch., 69: 103-201.
10. Druckrey, H., Preussmann, R., Schmahl, D. and Muller, M. (1961): *The chemical constution and carcinogenic effects of the nitrosamines.* Naturwiss., 48: 134-135.
11. Dutton, A.H. and Heath, D.F. (1956): *Demethylation of dimethyl-nitrosamine in rats and mice.* Nature (Lond.): 644-648.
12. Eisenbrand, G., Janzowski, C. and Preussmann, R. (1975): *Gas-chromatographic determination of N-nitrosamino acids by trimethylation and single-ion mass fregman-tography.* J. Chromatogr. 115: 602-606.
13. Ember, L.R. (1980): *Nitrosamines: Assesing the relative risk.* Chem. Eng. News. March, 31: 20-26.
14. Fiddler, W., Pensabene, J. W., Doerr, R.C. and Wassermann, A.E. (1972): *Formation of N-nitrosodimethylamine from naturally occuring quaternary ammonium compounds and tertiary amines.* Nature (lond.): 236-307.

15. Fong, Y.Y. and Chan, W.C. (1973): *Dimethylnitrosamine in chinese marine salt fish*. Food Cosmet. Toxicol., 11: 841-845.
16. Hill, M.J. (1980): *Bacterial metabolism and human carcinogenesis*. Brit. Med. Bull., 36: 89-94.
17. Janzowski, C., Eisenbrand, G. and Preussmann, R. (1978): *Occurrence of N-nitrosamine acids in cured meat products and their effects on formation of N-nitrosamines during heating*. Fd. Cosmet. Toxicol., 16: 343-348.
18. Karakaya, A.E. (1981): *Dimetilamino grubu içeren bazı antibiyotiklerden, mide koşullarında, nitrit etkileşmesiyle dimetil-nitrozamin şekillenmesinin araştırılması*. Doçentlik Araştırma Tezi. A.Ü. Eczacılık Fakültesi Dekanlığı - Ankara.
19. Knowles, M.E., Gilbert, J. and Mcweeny, D.J. (1974): *Nitrosation of phenoles in smoked bacon*. Nature, 249 (5458): 672-673.
20. Lijinsky, W. and Singer, G. (1974): *Formation of nitrosamines from tertiary amines and nitrous acid*. IARC Sci. Publ. No: 9, 111-114.
21. Lijinsky, W. (1977): *How nitrosamines cause cancer*. New Scientist, 73: 216-217.
22. Magee, P.N. and Barnes, J.M. (1956): *The production of malignant primary hepatic tumors in the rat by feeding dimethylnitrosamine*. Brit. J. Cancer, 10: 114-122.
23. Magee, P.N. and Barnes, J.M. (1962): *Induction of kidney tumors in the rat with dimethylnitrosamine*. J. Pathol. Bacteriol., 84: 19-31.
24. Mirvish, S.S. (1975): *Formation of N-nitroso compounds: Chemistry, kinetics and in vivo occurrence*. Toxicol. Appl., Pharmacol., 31: 325-351.
25. Mirvish, S.S. (1977): *N-nitroso compounds, nitrite and nitrate: possible implications for the causation of human cancer*. Prog. Wat. Tech., 8 (4-5): 195-207.
26. Montesano, R. and Bartch, H. (1976): *Mutagenic and carcinogenic N-nitroso compounds possible environmental hazards*. Mutat. Res., 32: 179-228.
27. Pensabene, J.W., Feinberg, J.I., Piotrowski, E.G. and Fiddler, W. (1979): *Occurrence and determination on N-nitrosoprolin and N-nitrosopyrrolidin in cured meat products*. J. Fd. Sci., 44 (6): 1700-1702.
28. Preussmann, R. (1978): *Toxicological aspects of food safety and carcinocyt*. Arch. Toxicol. Suppl., 1: 69-84.
29. Sander, J. and Schweinberg, (1972): *In vivo and in vitro experiments on the formation of N-nitroso compounds from amines or amides and nitrate or nitrite*. IARC Sci., Publ., 3: 97-103.
30. Sen N.P., Donaldson, B., Iyengar, J.R. and Panalaks, T. (1973): *Nitrosopyrrolidine and dimethylnitrosamine in bacon*. Nature, 241: 473-474.
31. Sen, N.P., Smith, D.C. and Schwinghamer, L. (1969): *Formation of N-nitrosamines from secondary amines and nitrite in human and animal gastric juice*. Fd. Cosmet. Toxicol., 7: 301-307.
32. Sen, N.P., Miles, W.F., Donaldson, B., Panalaks, T. and Iyengar, J.R. (1973): *Formation of nitrosamines in a meat curing mixture*. Nature, 245: 104-105.
33. Sen, N.P., Donaldson, B., Charbonneau, C. and Miles, W.F. (1974): *Effect of additives on the formation of nitrosamines in meat curing mixtures containing spices and nitrite*. J. Agric. Fd. Chem., 22: 1125-1130.

34. Sen, N.P., Iyengar, J.R., Miles, W.F. and Panalaks, T. (1976): *Nitrosamines in cured meat products*. IARC Sci. Publ., 14: 333-342.
35. Sen, N.P., Seaman, S. and Miles, W.F. (1979): *Volatil nitrosamines in various cured meat products. Effect of cooking and recent trends*. Agric. Food Chem., 27 (6): 1354-1357.
36. Shank, R.C. (1975): *Toxicology of N-nitroso compounds*. Toxicol. Appl. Pharmacol., 31: 361-368.
37. Sims, P. (1980): *The metabolic activation of chemical carcinogens*. Brit. Med. Bull., 36: 11-18.
38. Stephany, R.W., Freudenthal, J. and Schuller, P.L. (1976): *Quantitative and qualitative determination of some volatile nitrosamines in various meat products*. IARC. Sci.Publ., 14: 343-354.
39. Telling, G.M. (1972): *A gas-liquid chromatographic procedure for the detection of volatile N-nitrosamines at the 10 parts per billion level in foodstuffs after conversion of their corresponding nitramines*. J. Chromatogr. 73: 79-87.
40. Terracini, D., Magee, P.N. and Barnes, J.M. (1967): *Hepatic pathology in rats on low dietary levels of dimethylnitrosamine*. Brit. J. Cancer., 21: 559-565.
41. Wasserman, A.E., Fiddler, W., Doerr, R.C., Osman, S.F. and Dooley, C.J. (1972): *Dimethylnitrosamine in francfurters*. Food Cosmet. Toxicol., 10: 681-684.
42. World Health Organization (1978): *Environmental Health Criteria 5. Nitrates, nitrites and N-nitroso compounds*. World Health Organization. Geneva.