



**İSPANAK BİTKİSİNE UYGULANAN
İŞLEMLERİN NİTRİT VE NİTRAT
İÇERİĞİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Nilay KOCAÇINAR

Doktora Tezi

**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Mehmet DEMİRCİ
2021**

T.C.
TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

**İSPANAK BİTKİSİNE UYGULANAN İŞLEMLERİN NİTRİT VE
NİTRAT İÇERİĞİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Nilay KOCAÇINAR

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Prof. Dr. Mehmet DEMİRCİ

TEKİRDAĞ-2021

Her hakkı saklıdır.

ÖZET

Doktora Tezi

İSPANAK BİTKİSİNE UYGULANAN İŞLEMLERİN NİTRİT VE NİTRAT İÇERİĞİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Nilay KOCAÇINAR

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet DEMİRCİ

Bu araştırmada, gübrelemenin, farklı işlemlerin ve depolamanın ıspanaktaki (*Spinacia oleraceae* L.) nitrat ve nitrit düzeyleri üzerine etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. İki yıl boyunca üre %46 azotlu gübre kullanılarak 4 farklı gübreleme miktarına göre (0; 7,5; 15 ve 20 gram/m²) yetiştirilen ıspanağın nitrat ve nitrit içerikleri belirlenmiştir. Ayrıca ıspanaklara uygulanan daldırarak ve su buharına tutularak haşlama; ardından da dondurma, kurutma ve konserveleme gibi teknolojik işlemlerin bu bileşenler üzerindeki etkisi tespit edilmeye çalışılmıştır. Depolamanın etkisini belirlemek amaçlı ise örnekler 12 ay boyunca, dondurulan örnekler -18°C’de; kurutulan örnekler +4°C’de ve konservelemiş örnekler oda sıcaklığında depolanmış; 0, 4, 8 ve 12. aylarda örneklerdeki nitrit ve nitrat miktarları belirlenmiştir. Araştırmada ıspanak örneklerinin nitrat ve nitrit içerikleri yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi ile analiz edilmiştir. Metot parametrelerini belirlemek amacıyla yapılan geri kazanım çalışmalarına göre; nitrat için saptanan geri kazanım oranı ortamala %101,23 ve nitrit için saptanan geri kazanım oranı ortalama %97,13 olmuştur. Metot parametrelerinden LOD değeri nitrat için 0,001 mg/kg ve nitrit için 0,002 mg/kg; LOQ değeri ise nitrat için 0,004 mg/kg ve nitrit için 0,006 mg/kg olarak hesaplanmıştır. 1. Yıl ekilen ıspanak örneklerinde nitrat miktarları sırasıyla 0 g/m² gübre uygulananlarda 72,05 mg/kg; 7,5 g/m² gübreleme uygulananlarda 165,43 mg/kg; 15 g/m² gübreleme uygulananlarda 203,41 mg/kg ve 20 g/m² gübreleme uygulananlarda ise 308,43 mg/kg olarak tespit edilmiştir. 2. Yıl ekilen ıspanak örneklerinde ise nitrat miktarları 0 g/m² gübre uygulananlarda 85,45 mg/kg; 7,5 g/m² gübreleme uygulananlarda 123,07 mg/kg; 15 g/m² gübreleme uygulananlarda 208,5 mg/kg ve 20 g/m² gübreleme uygulananlarda 297,86 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Bu değerler, Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği’ne göre taze ıspanakta bulunması gereken maksimum nitrat miktarı olan 3500 mg/kg’ın altındadır. Taze ıspanak örneklerinde nitrit tespit edilememiştir (<LOD). Gerek 1. Yıl gerek ise 2. Yıl yetiştirilen ıspanak örneklerinde; uygulanan ön işlem, son işlem ve depolama işlemlerinin sonunda elde edilen nitrat verileri, Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği’ne göre konserve edilmiş ya da dondurulmuş ıspanaklarda bulunması gereken maksimum nitrat miktarı olan 2000 mg/kg’ın altında tespit edilmiştir. Örneklerin çoğunda nitrit tespit edilememiştir (<LOD). ıspanak örnekleri için elde edilen nitrat sonuçları, yıllara ve gübreleme miktarlarına göre ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Gruplar arası farklılıklar, çift yönlü varyans analizi uygulanarak %5 güven aralığında (P<0,05) belirlenmeye çalışılmıştır. Başta gübreleme olmak üzere, ıspanaklara uygulanan ön işlem, kurutma, dondurma ve konserveleme işlemlerinin ve depolamanın ıspanaklardaki nitrat miktarını azaltmada etkili olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: ıspanak, Nitrat, Nitrit, Haşlama, Depolama

2021, 157 sayfa

ABSTRACT

PhD Thesis

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF PROCESSES APPLIED ON SPINACH PLANT ON NITRITE AND NITRATE CONTENT

Nilay KOCAÇINAR

Tekirdağ Namık Kemal University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet DEMİRCİ

In this study, the effects of fertilization, different processes and storage on nitrate and nitrite levels in spinach (*Spinacia oleraceae* L.) were tried to be determined. The nitrate and nitrite contents of spinach grown according to 4 different fertilization amounts (0; 7,5; 15 and 20 grams/m²) using urea 46% nitrogen fertilizer for two consecutive years were determined. In addition, spinach is dipped and boiled by steaming; then, the effect of technological processes such as freezing, drying and canning on these components was tried to be determined. For the purpose of determining the effect of storage, samples are collected for 12 months; frozen samples at -18°C; dried samples were stored at +4 and canned samples were stored at room temperature; the amount of nitrite and nitrate in the samples were determined at 0, 4, 8 and 12 months. In the study, nitrate and nitrite contents of spinach samples were analyzed by high pressure liquid chromatography (HPLC) method. According to the recovery studies conducted to determine the method parameters; the recovery rate determined for nitrate was 101,23% on average and the recovery rate determined for nitrite was 97,13% on average. Among the method parameters, the LOD value is 0,001 mg/kg for nitrate and 0,002 mg/kg for nitrite; LOQ value was calculated as 0,004 mg/kg for nitrate and 0,006 mg/kg for nitrite. The nitrate amounts in spinach samples planted in the 1st year were 72,05 mg/kg, respectively, for 0 g/m² fertilizer applied; 165,43 mg/kg for those where 7,5 g/m² fertilization was applied; 203,41 mg/kg for 15 g/m² fertilizer and 308,43 mg/kg for 20 g/m² fertilizer. In spinach samples planted in the 2nd year, nitrate amounts were 85,45 mg/kg in those with 0 g/m² fertilizer; 123,07 mg/kg for those with 7,5 g/m² fertilization; 208,5 mg/kg for 15 g/m² fertilizers and 297,86 mg/kg for 20 g/m² fertilizers. These values are far below 3500 mg/kg, which is the maximum nitrate amount required in fresh spinach according to the Turkish Food Codex Contaminants Regulation. No nitrite could be detected in fresh spinach samples (<LOD). In spinach samples grown both in the 1st year and 2nd year; the nitrate data obtained at the end of the pre-treatment, post-treatment and storage processes were determined below the maximum nitrate amount of 2000 mg/kg which is required in canned or frozen spinach according to the Turkish Food Codex Contaminants Regulation. No nitrite was detected in most of the samples (<LOD). The nitrate results obtained for spinach samples were evaluated separately according to the years and the amount of fertilization. The differences between groups were tried to be determined at a 5% confidence interval (P<0,05) by applying two-way analysis of variance. It was determined that pre-treatment, drying, freezing and canning processes applied to spinach, especially fertilization, and storage were effective in reducing the nitrate amount in spinach.

Key words: Spinach, Nitrate, Nitrite, Blanching, Storage

2021, 157 pages

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÇİZELGE DİZİNİ.....	v
ŞEKİL DİZİNİ.....	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	x
TEŞEKKÜR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	5
2.1. Nitrat ve Nitrit Oluşumu	6
2.1.1. Çevremizdeki Nitrat/Nitrit.....	6
2.1.2. Ekzojen Nitrat/Nitrit Kaynakları	7
2.1.2.1. Bulaşan olarak nitrat/nitrit (içme suyu).....	7
2.1.2.2. Gıda katkısı olarak nitrat/nitrit	9
2.1.2.3. Doğal bulaşan olarak nitrat/nitrit (sebzeler).....	9
2.1.3. Endojen Nitrat/Nitrit Kaynakları	11
2.2. Nitrat ve Nitrit Oluşumunu Etkileyen Faktörler	15
2.3. Ispanak	18
2.4. Geçmiş Dönemlerde Yapılan Çalışmalar	20
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	32
3.1. Materyal	32
3.2. Yöntem	34
3.2.1. Ayıklama ve Yıkama	34
3.2.2. Haşlama Ön İşlemi	34
3.2.3. Ispanak Örneklerinin İşlenmesi	35
3.2.3.1. Kurutma.....	35
3.2.3.2. Dondurma.....	35
3.2.3.3. Konserveleme.....	35
3.2.4. Depolama.....	35
3.2.5. Ispanakta Nitrat ve Nitrit Analizi	36
3.2.6. Metot Parametrelerinin Belirlenmesi.....	38
3.2.6.1. Lineerite	38

3.2.6.2. Kalibrasyon grafiği için rezidüel analizi	40
3.2.6.3. Kalibrasyon grafiği için % sapma kontrolü	43
3.2.6.4. Cihaz LOD/LOQ çalışması	44
3.2.6.5. FAPAS® kalite kontrol materyali ile nitrat geri kazanım çalışması.....	46
3.2.6.6. Nitrit geri kazanım çalışması	47
3.2.7. İstatistiksel Analizler	47
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	49
4.1. Taze Ispanak Örneklerinin Nitrat ve Nitrit Düzeyleri	49
4.2. Ispanak Örneklerine Uygulanan İşlemler ve Depolama Sonrası Nitrat ve Nitrit Düzeyleri.....	54
4.2.1. Varyans Analiz Tabloları.....	54
4.2.2. Haşlama İşleminin Ispanak Numunelerinin Nitrat ve Nitrit Düzeylerine Etkisi...61	
4.2.3. Son İşlemlerin Ispanak Numunelerinin Nitrat ve Nitrit Düzeylerine Etkisi.....	81
4.2.4. Depolamanın Ispanak Örneklerinin Nitrat ve Nitrit Düzeylerine Etkisi	97
4.3. İstatistiksel Modelleme	116
5. SONUÇ	123
KAYNAKLAR.....	127
EKLER	136
ÖZGEÇMİŞ	144

ÇİZELGE DİZİNİ

Çizelge 2.1. Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği Nitrat Maksimum Limitleri Tablosu	11
Çizelge 2.2. 2019 yılı Türkiye’de kullanılan gübre çeşitleri ve miktarları (ton).....	16
Çizelge 2.3. Ispanak bitkisinin 100 g’ındaki besin değerleri	18
Çizelge 2.4. 2004-2019 yılları arasındaki Türkiye’de ıspanak ekilen alan miktarı (dekar) ve ıspanak üretim miktarı (ton)	20
Çizelge 3.1. Deneme toprağına ait analiz sonuçları	32
Çizelge 3.2. Ispanak örneklerinin ekim tarihleri	33
Çizelge 3.3. Nitrit kalibrasyon grafiğı verileri	38
Çizelge 3.4. Nitrat kalibrasyon grafiğı verileri.....	39
Çizelge 3.5. Nitrit kalibrasyon grafiğı için rezidüel tablosu.....	41
Çizelge 3.6. Nitrit kalibrasyon grafiğı rezidüel görsel değerlendirme tablosu.....	42
Çizelge 3.7. Nitrat kalibrasyon grafiğı için rezidüel tablosu.....	42
Çizelge 3.8. Nitrat kalibrasyon grafiğı rezidüel görsel değerlendirme tablosu.....	43
Çizelge 3.9. Nitrit kalibrasyon grafiğı % sapma kontrol tablosu	44
Çizelge 3.10. Nitrat kalibrasyon grafiğı % sapma kontrol tablosu.....	44
Çizelge 3.11. Nitrat ve nitrit için <i>Sres</i> , cihaz LOD ve cihaz LOQ değerleri.....	45
Çizelge 3.12. FAPAS® 1582QC Lettuce Puree nitrat geri kazanım verileri, (mg/kg)	46
Çizelge 3.13. Marul nitrit geri kazanım verileri, (mg/kg)	47

Çizelge 4.1. Taze ıspanak örneklerindeki nitrat ve nitrit miktarları, (mg/kg).....	49
Çizelge 4.2. 1. Yıl, 0 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları	55
Çizelge 4.3. 2. Yıl, 0 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları	56
Çizelge 4.4. 1. Yıl, 7,5 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları	56
Çizelge 4.5. 2. Yıl, 7,5 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları	57
Çizelge 4.6. 1. Yıl, 15 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları	58
Çizelge 4.7. 2. Yıl, 15 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları	59
Çizelge 4.8. 1. Yıl, 20 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları	60
Çizelge 4.9. 2. Yıl, 20 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları	60
Çizelge 4.10. 1. Yıl, 0 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin, haşlama ön işlemi verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları	62
Çizelge 4.11. 2. Yıl, 0 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin, haşlama ön işlemi verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları	64
Çizelge 4.12. 1. Yıl, 7,5 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin, haşlama ön işlemi verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları	66
Çizelge 4.13. 2. Yıl, 7,5 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin, haşlama ön işlemi verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları	68
Çizelge 4.14. 1. Yıl, 15 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin, haşlama ön işlemi verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları	70

Çizelge 4.15. 2. Yıl, 15 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin, haşlama ön işlemi verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları.....	72
Çizelge 4.16. 1. Yıl, 20 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin, haşlama ön işlemi verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları.....	74
Çizelge 4.17. 2. Yıl, 20 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin, haşlama ön işlemi verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları.....	76
Çizelge 4.18. 1. Yıl, 0 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin son işlem verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları.....	81
Çizelge 4.19. 2. Yıl, 0 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin son işlem verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları.....	83
Çizelge 4.20. 1. Yıl, 7,5 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin son işlem verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları.....	85
Çizelge 4.21. 2. Yıl, 7,5 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin son işlem verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları.....	87
Çizelge 4.22. 1. Yıl, 15 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin son işlem verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları.....	89
Çizelge 4.23. 2. Yıl, 15 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin son işlem verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları.....	91
Çizelge 4.24. 1. Yıl, 20 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin son işlem verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları.....	93
Çizelge 4.25. 2. Yıl, 20 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin son işlem verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları.....	95
Çizelge 4.26. 1. Yıl, 0 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin depolama verilerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları.....	98
Çizelge 4.27. 2. Yıl, 0 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin buharda ve daldırarak haşlandıktan sonrası kurutma, dondurma ve konserveleme sonrası depolama Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları.....	100

Çizelge 4.28. 1. Yıl, 7,5 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin buharda ve daldırarak haşlandıktan sonrası kurutma, dondurma ve konserveleme sonrası depolama Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları.....	102
Çizelge 4.29. 2. Yıl, 7,5 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin buharda ve daldırarak haşlandıktan sonrası kurutma, dondurma ve konserveleme sonrası depolama Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları.....	104
Çizelge 4.30. 1. Yıl, 15 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin buharda ve daldırarak haşlandıktan sonrası kurutma, dondurma ve konserveleme sonrası depolama Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları.....	106
Çizelge 4.31. 2. Yıl, 15 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin buharda ve daldırarak haşlandıktan sonrası kurutma, dondurma ve konserveleme sonrası depolama Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları.....	108
Çizelge 4.32. 1. Yıl, 20 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin buharda ve daldırarak haşlandıktan sonrası kurutma, dondurma ve konserveleme sonrası depolama Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları.....	110
Çizelge 4.33. 2. Yıl, 20 g/m ² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin buharda ve daldırarak haşlandıktan sonrası kurutma, dondurma ve konserveleme sonrası depolama Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları.....	112
Çizelge 4.34. Design Expert programında faktöriyel dizayn bölümünde kullanılan nitrat verileri	117
Çizelge 4.35. Design Expert faktöriyel dizayn bölümü kullanılarak yapılan optimizasyonun ANOVA tablosu	120

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 2.1. Biyolojik azot döngüsü.....	7
Şekil 2.2. Son ürün olarak nitrat/nitrit oluşum reaksiyonları	12
Şekil 2.3. Nitratın, nitrat redüktaz enzimi ile nitrite indirgenme reaksiyonu	13
Şekil 2.4. Nitrat/nitritin öncü olduğu reaksiyonlar	14
Şekil 2.5. Nitrat, nitrit ve nitrik oksitin farklı oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonları	15
Şekil 3.1. Ispanak örneklerinin işlenmesine ait şema.....	33
Şekil 3.2. Nitrit kalibrasyon grafiği	39
Şekil 3.3. Nitrat kalibrasyon grafiği	40
Şekil 3.4. Rezidüel görsel değerlendirme tablosu örnekleri.....	41
Şekil 4.1. Farklı gübreleme oranlarına göre taze ıspanak örneklerinin 1. ve 2. Yıl nitrat verileri, mg/kg	50
Şekil 4.2. Buharda ve daldırarak haşlama işlemleri sonrası nitrat miktarlarındaki % nitrat azalması grafiği.....	78

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

μL	: Mikrolitre
μm	: Mikrometre
$^{\circ}\text{C}$: Santigrat derece
Ca	: Kalsiyum
$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$: Üre
Da	: Dekar
Fe	: Demir
g	: Gram
Ha	: Hektar
K	: Potasyum
kg	: Kilogram
KNO_2	: Potasyum nitrit
KNO_3	: Potasyum nitrat
L	: Litre
m^2	: Metrekare
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
N	: Azot
Na	: Sodyum
NaNO_2	: Sodyum nitrit
NaNO_3	: Sodyum nitrat
$\text{NO}_3\text{-N}$: Nitrat azotu
NH_2	: Amin
NH_4	: Amonyum
nm	: Nanometre
NO	: Nitrik oksit

NO₂ : Nitrit
NO₃ : Nitrat
P : Fosfor
ppm : Milyonda bir



Kısaltmalar

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ADI	: Günlük alınabilir miktar
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
GK	: Geri kazanım
HPLC	: Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
KO	: Kareler ortalaması
KT	: Kareler toplamı
SD	: Serbestlik derecesi
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmasının her aşamasında destek ve yardımlarını esirgemeyen değerli danışman hocam Prof. Dr. Mehmet DEMİRCİ'ye, tez izleme komitemin değerli üyeleri Prof. Dr. Murat DEVECİ ve Dr. Öğretim Görevlisi Figen DAĞLIOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Elde edilen verilerin istatistik değerlendirmelerinde yardımlarını gördüğüm Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Eser Kemal GÜRCAN, Doç Dr. Serap DURAKLI VELİOĞLU ve Doç. Dr. İbrahim PALABIYIK'a, tez çalışmamı yürüttüğüm kurumum T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Tekirdağ Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü'ne, ayrıca ismini burada saymadığım çalışmalarına katkısı olan herkese teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca her konuda beni destekleyen, yardımlarını, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme içtenlikle teşekkür ederim.

Ocak, 2021

Nilay KOÇAÇINAR
Gıda Yüksek Mühendisi

1. GİRİŞ

Nitrat, bir kontaminant, doğal bir bulaşan ve göreceli olarak toksik olmayan bir katkı maddesidir. Nitrat; suda, toprakta, bitkilerde, gıdalarda ve insan vücudu gibi her yerde bulunabilen bir iyonudur. Nitrat ağırlıklı olarak insan vücuduna, ekzojen olarak sebzelerden, sudan ve diğer gıdalardan girer, fakat aynı zamanda vücutta endojen olarak da sınırlı bir miktarda oluşur. Gıdalardan nitrat ve nitritin diyetle alımı, bölgeden bölgeye, tarım, uygulama, iklim, toprak kalitesi, işleme faktörleri ve mevzuat gibi bazı faktörlere bağlı olarak çeşitlilik gösterir (Certel, Şık, Cengiz ve Karakaş, 2006; Hsu, Arcot ve Lee, 2009).

Sebzeler, nitratın vücuda alımında başlıca kaynaklardır ve bitkilerin doğal bileşenleridir. Nitrat bazı sebzelerde yüksek miktarlarda bulunurken meyvelerde çok düşük miktarlarda bulunmaktadır. İnsan bünyesine alınan nitratın %60-80'inin sebzelerden, %20-30'unun içme suyundan, %10-15'inin et ve et ürünlerinden, %5-10'unun meyve, meyve suyu, süt ve süt ürünlerinden geldiği saptanmıştır (Cintya, Silalahi, Putra ve Siburian, 2019; Huarte-Mendiocoa, Astiasaran ve Bello, 1997; Merino, Edberg ve Fuchs, 2006; Prasad ve Chetty, 2008; Sezgin, 2009).

Sebze tüketimi ile birlikte su içmek de diyetteki nitrat alımının başlıca kaynaklarından. Yüzey ve yeraltı sularında normalde nitrat miktarı düşüktür fakat 1950'lerden itibaren Avrupa'nın pek çok ülkesinde artışlar tespit edilmeye başlanmıştır. Yoğun tarım uygulama metotları (fazla kimyasal gübre kullanımı gibi) ve canlı hayvan yetiştiriciliği ile suyun nitrat ile kirlenmesi daha da fazlalaşmıştır (Merino, 2009).

Nitrat ve nitritler, genellikle sodyum ve potasyum tuzları formunda kullanılmaktadır. Nitrat ve nitritin sodyum ve potasyum tuzları olan sodyum nitrat (NaNO_3), potasyum nitrat (KNO_3), sodyum nitrit (NaNO_2) ve potasyum nitrit (KNO_2); et ve et ürünlerine (salam, sosis, sucuk), balıklara ve peynirlere karakteristik lezzet ve renk özelliklerini sağlama ve ayrıca özellikle *Clostridium botulinum*'a karşı mikrobiyal stabilite sağlama ve olgunlaştırma amaçlarıyla katılmaktadır (Artık, Poyrazoğlu, Şimşek, Kadakal ve Karkacier, 2002; Cammack vd., 1999; Iammarino, Taranto ve Cristino, 2013; Merino, Edberg ve Fuchs, 2000; Wolff ve Wasserman, 1972).

Nitrat göreceli olarak tek başına toksik değildir; ancak azot metabolitlerinin (nitrit, nitrik oksit ve N-nitrozo bileşiklerinin) sağlığı olumsuz etkileme potansiyeli, nitratı önemli

kılmaktadır (Chung, Chou ve Hwng, 2004; Özdestand ve Üren, 2010; Tamme vd., 2009; Tan, 2003; Wolff ve Wasserman, 1972).

Gıda katkı maddesi olarak kullanımına izin verilen ve ürün formülasyonuna giren tek toksik madde nitrittir. Nitrit, *Clostridium botulinum* gelişimini önlemek; aynı zamanda kürlenmiş ete karakteristik renk, lezzet ve aromayı vermek amacıyla et ürünlerine katılmaktadır. Ayrıca *Moraxella*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Enterobacter* ve *Escherichia* cinsi bakterilerin gelişimini de engellemektedir. Taze, hasar görmemiş bitki dokularında genellikle nitrit düşüktür. Endojen nitrit redüktaz enzim aktivitesindeki azalma veya mikrobiyal nitratın nitrite indirgenmesiyle bitkide nitrit miktarlarında artış meydana gelebilmektedir (Alexander, Handawa ve Charles, 2016; Heisler, 1974; Özdestand ve Üren, 2010).

Değişik nedenlere bağlı olarak sebze de yüksek oranda biriken nitrat, hasattan sonraki devrelerde nitrite indirgenmektedir. Sebzelerle aşırı miktarlarda alınan nitrat, bünyede nitrite indirgenmesi sonunda Methemoglobinemiye ve kansere yol açan nitrozaminlerin oluşumuna neden olabilmektedir (Iammarino vd., 2013; Prasad ve Chetty, 2008, Tamme vd., 2009).

Üretimin yapıldığı arazi yapısı, toprak özellikleri ve üreticilerin uyguladığı işlemler nitrat ve nitrit birikimini etkilemektedir. Artık vd. (2002) gübrelemenin yanı sıra nitrat birikimi üzerine tür, çeşit, bitki kısımları, vejetasyon periyodu, hasat zamanı, toprak özellikleri, mevsim ve depolama koşulları gibi faktörlerin etkili olduğunu belirtmişlerdir. Sebzelerdeki nitrat akümülyasyonu üzerinde ışık ve sıcaklık gibi çevre faktörlerinin rol oynadığı ayrıca azotlu gübrelerin form ve dozlarının da etkili olduğunu belirtilmiştir (Huarte-Mendiocoa vd., 1997; Sezgin 2009).

Azotlu gübrelerin toprak ve bitki analizlerine göre uygun form, doz ve önerilen şekilde uygulanması, hem bitkinin bu besin maddesinden verimli bir şekilde yararlanmasını sağlamakta hem de çevre ve insan sağlığını en az derecede olumsuz etkilemektedir. Son yıllarda azotlu gübre kullanımında yapılan hatalar (aşırı doz kullanımı, yanlış uygulama yöntemleri) pek çok sorunu da beraberinde getirmektedir. Gerek çevre gerekse insan sağlığını olumsuz yönde etkileyen bu sorunların başında, “nitrat birikimi” gelmektedir.

Azotlu gübreler, verim artışı ve daha kaliteli üretim için bitkilerin gelişim döneminde kullanılır. Bu kullanım özellikle günlük tüketimi fazla olan yeşil yapraklı sebzelerde nitrat birikimine neden olmaktadır (Artık vd., 2002, Hammad vd., 2007; Wolff ve Wasserman, 1972).

Azot, bitki gelişimini hızlandırıcı bir faktördür. Yani limitler çerçevesinde daha fazla gübre ilavesi demek, daha fazla ürün hasat etmek demektir. Bununla birlikte, bitkinin hızlı gelişmesi için kullanılan gübre, suyun kirlenmesine de yol açmaktadır. Bu ilişki, nitrat ve modern tarım ile ilgili pek çok problemden sorumlu tutulmaktadır. Aşırı gübre kullanımından kaçınmak, bazı sebzeler ile yerüstü ve yeraltı sularının nitrat seviyelerinin düşmesine yardımcı olmaktadır (Artık vd., 2002; Hammad vd., 2007).

Azotlu gübrenin akılcı kullanımı, sebze üretim sistemlerinde verim sağlamak ve nitratin aşırı birikimi sonucu sağlık riski oluşması ile birleşerek kritik önem arz eder. Azotlu gübreleme yönetimi, ekosistemde önemli bir denge gerektirmektedir. Bunlar, doğru miktarda gübreleme ile verimi yüksek tutmak ancak topraktaki sabit azot içeriğini korumak; ama aynı zamanda fazla azotun yeraltı sularına ve havaya karışmasını minimize etmektir. Gerçekte, bitkiye fazladan uygulanan azot, ekonomik kayba ve çevresel degradasyona dolayısı ile gıda kalitesinde düşüşe yol açar. Aşırı azotlu gübre uygulaması, hasat döngüsü sırasında ve sonunda toprakta yüksek nitrat seviyelerine sebep olabilir ve ardından yeraltı ve yerüstü sularında kontaminasyon meydana gelebilir (Canali, Montemurro, Tittarelli ve Maseretti, 2011).

Ispanaklarda, özellikle azotlu gübrelere dayalı bir gübreleme yapılmaktadır. Ana vatanı Orta Asya olan ıspanak, dünyada ve ülkemizde bol üretilen ve tüketilen sebzelerden biridir. Pek çok çeşidi bulunan ve oldukça kolay yetiştirilen ıspanak, bir yıllık otsu bitkidir. Serin iklim sebzesidir. Kış ve ilkbahar aylarında üretimi yapılır. Ispanak, ülkemizin sadece aşırı yağış alan Doğu Karadeniz Bölgesinde çok sınırlı olmak üzere, bunun dışındaki bütün bölgelerimizde yetişebilen ve büyük miktarlarda üretilen bir sebzedir. Ispanak sıcak bölgelerimizde yaz sonlarında ve kışın, soğuk yörelerimizde ise kış ve ilkbahar döneminde üretilir. Kış mevsimi boyunca bütün bölgelerimizde tüketilen bir sebzedir. Ispanağın sorumlu olduğu azotlu gübreleme uygulamaları pek çok yazar tarafından raporlanmıştır ancak; verimi arttırmak için çiftçiler tarafından yapılan gübreleme; azot alımı, azot kullanımı ve çevresel etkisini azaltmak ve bunların çiftçiler tarafından uygulanması önemine rağmen hala deney aşamasında kalmaktadır. Sebzelerin kısa gelişim döngüsüne sahip olması için örneğin ıspanakta yüksek verim almak için, sık sık aşırı miktarlarda gübreleme yapılmaktadır. Sonuç olarak da bu ekin, topraktaki kullanılabilir elementleri özellikle de azotu, hızlı büyümek için kullanır ve yüksek ve karlı üretim sağlanır. Nihayetinde, pek çok çiftçi yüksek miktarda azotlu gübrelemenin ekin üretiminde yüksek verim sağlamak için daha garanti bir yöntem olduğunu bilmektedir ve potansiyel çevresel etkisini dikkate almamaktadır (Canali vd., 2011).

Ispanak en yüksek düzeyde nitrat içeren ve nitrat depolayabilen sebzeler arasında yer almaktadır. Bu yüzden de ıspanak yetiştirilirken verilecek azotlu gübre miktarına dikkat etmek gerekmektedir (Güneş, 1994; Sezgin, 2009).

Ülkemizde farklı gübreleme miktarları kullanarak ekimi yapılan ıspanak örneklerinin, hasatlarından sonra hazırlanması, haşlanması, dondurulması, kurutulması, konservenmesi ve depolanması ile ilgili çalışma sayısı yetersizdir. Bu çalışma ile farklı gübreleme miktarlarına göre yetiştirilen ıspanak örneklerinin nitrat ve nitrit miktarlarının belirlenmesi, bu teknolojik işlemlerin ve depolamanın nitrat ve nitrit miktarlarına etkisinin saptanması amaçlanmıştır. Elde edilen verilerin değerlendirilmesi ve yapılan öneriler ile etkili, dengeli ve nitrat kirliliğine yol açmayan bir gübreleme programının yapılabilmesi, nitrat ve nitrit azalmasını sağlayan teknolojik işlemlere ağırlık verilmesi ve sonuçta sağlık kaygılarının azalmasını sağlayacak güvenli ıspanak üretimi ve tüketimi mümkün olabileceği düşünülmektedir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Azotun dünyadaki yaşam üzerindeki önemi çok iyi bilinmektedir. Toprak, hayvanlar ve bitkileri içeren azot döngüsü, gıda zinciri ve gıda ürünleri özellikleri ile sıkıca bağlıdır. Başlıca azot kaynağı atmosferde gaz halinde bulunan azottur. Azot, mikroorganizmalar, bitkiler ve endüstriyel/tarımsal aktiviteleri içeren pek çok tepkime yoluyla, azotlu bileşiklerin içine dahil olur. Nitrat ve nitrit, bu tepkimelerin ara ürünleridir ve bitkilerin doğal bileşenidir. Sonuç olarak bu bileşenler, meyve ve sebzeler vasıtasıyla tüketilen maddelerdir. Nitrat, bazı sebzelerde yüksek miktarlarda bulunurken meyvelerde çok düşük miktarlarda bulunmaktadır (Iammarino vd., 2013).

Doğrudan tüketilen bitkilerde yüksek nitrat içerikleri istenmez. Gıda maddelerinde nitrat ve nitrit konusunda yapılan çalışmalar nitrat alımının fazla olması nedeniyle sebzeler üzerinde yoğunlaşmıştır (Kara, 1993; Özenç ve Şenliklioğlu, 2017).

Sebzelerin hasat sırasında içerdiği nitrat miktarı önemli olduğu gibi, sebzelere uygulanan çeşitli hazırlama, haşlama ve dondurma aşamalarında oluşabilecek değişiklikler de önemlidir. Ayrıca gıdaların nitrat içeriğinin yüksek olması depolanma ve işleme sırasında nitratın nitrite dönüşmesinde büyük bir tehlike oluşturabilmektedir (Phillips, 1968; Shimada ve Ko, 2004).

İnsan diyetindeki nitrat ve nitrit, sağlık için risk faktörü olabileceğinden dolayı kontrol altında olmalıdır. Yapılan çalışmalar, gıdalla alınan nitratın Methemoglobinemi ve karsinojenik nitrozamin oluşumuna neden olduğunu göstermiştir. Nitrat vücuttan hızlı olarak atıldığı için, zararlı özel etkisi yok olarak kabul edilmektedir. Nitrat nispeten zararsız olmasına karşın, nitratın nitrite ya da N-nitrozo bileşiklere dönüşmesi toksik ürünlerin oluşumuna yol açabilmektedir. Fazla miktarda nitrat ve nitrit içeren gıdalar tüketiciler açısından akut ve kronik zehirlenme riski taşımaktadır. Genellikle küçük çocuklarda gözlenen Methemoglobinemi, akut nitrit zehirlenmesine neden olmaktadır. Nitrit ise nitrozaminlerin yapısında bulunması nedeniyle kronik zehirlenmelere neden olabilmektedir. (Alexander vd., 2016; Kara, 1993, Mendiocoa-Huarte vd., 1997; Sezgin, 2009).

Nitrit, hemoglobin ile etkileşime girerek, demirin oksidasyonu ile metamoglobin oluşturur; normal hemoglobin seviyesini düşürerek kanın oksijen taşıma kapasitesini azaltır ya da engeller. Bu durum Methemoglobinemi olarak adlandırılan, özellikle bebekler için tehlikeli

olan bir hastalığa neden olmaktadır. Daha çok 4 aylık ve daha küçük yenidoğanlarda mide asitliği az olduğundan, nitrat buradaki mikroorganizmalar tarafından indirgenerek nitrite çevrilmektedir. Hastanın ağız çevresi, elleri ve ayaklarında mavileşme görünmesinden dolayı “mavi bebek sendromu” diye adlandırılır (Merino, 2009; Michalski ve Kurzyca, 2006; Phillips, 1968; Proias, Legos, Sakkas, Papagiannis ve Kungolos, 2010; Sönmez, Kaplan ve Sönmez, 2008). Chinese Journal Net veritabanındaki üç rapora göre; eğer sebzeler uygun olarak depolanmazsa ve işlenmezse Methemoglobineminin yetişkinlerde de gözlenebildiğini belirtilmiştir. Pişmiş sebzelerin (bütün gece dışarıda bekletilen ya da yeni hazırlanmış, tuzlanmış sebzeler) yenmesi sonucu 5 yetişkinde; yüksek miktarda nitratça zengin sebzelerin tüketimi sonucunda 15 hastada (14-55 yaş aralığında) ve tuzlanmış sebze tüketen 33 denizcide Methemoglobinemi vakası rapor edilmiştir (Chan, 2011).

Nitritin insan sağlığı üzerine bir başka olumsuz etkisi, sekonder aminlerle tepkimeye girerek nitrozaminlerin oluşumuna neden olmasıdır. Bu bileşikler potansiyel olarak kanserojen, mutajen ve/veya teratojendir (Özdestan ve Üren, 2010; Shimada ve Ko, 2004).

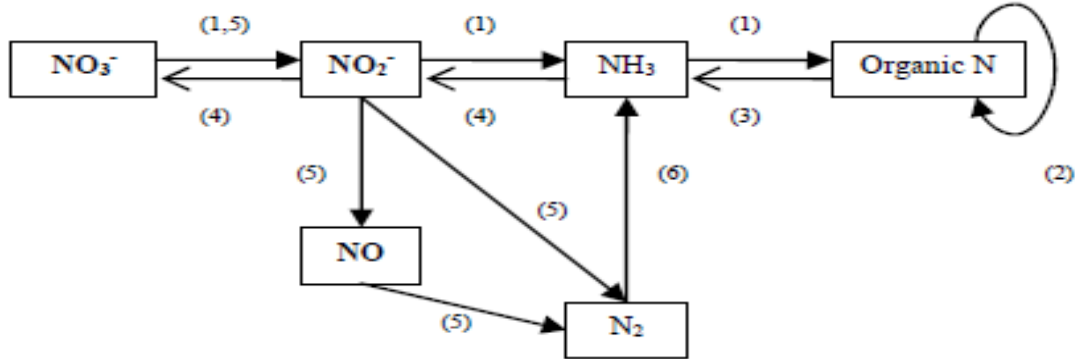
2.1. Nitrat ve Nitrit Oluşumu

2.1.1. Çevremizdeki Nitrat/Nitrit

Nitrat, suda, toprakta, bitkilerde, gıdalarda ve insan vücudunda yani her yerde bulunabilen bir iyondur. Nitrat ve nitrit, çevrede doğal olarak meydana gelen azot döngüsünün ara ürünleridir (Şekil 2.1.). Biyolojik reaksiyonlar başlıca altı ana proses içermektedir:

1. İnorganik formların (öncelikle amonyak ve nitrat) bitkiler ve mikroorganizmalar tarafından organik azot oluşturmak için asimilasyonu. Örneğin amino asitler, proteinler ve nükleik asitler.
2. Organik azotun bir organizmadan diğer organizmaya heterotrofik dönüşümü
3. Amonifikasyon, organik azotun amonyağa ayrışması
4. Nitrifikasyon, amonyağın nitrat ve nitrite oksidasyonu
5. Denitrifikasyon, anoksik koşullar altında nitratın nitrozoksit ve moleküler azota indirgenmesi

6. Azot fiksasyonu, azot gazının amonyak ve organik azota çeşitli organizmalar tarafından indirgenmesi (Merino, 2009)



Şekil 2.1. Biyolojik azot döngüsü (Merino, 2009)

2.1.2. Ekzojen Nitrat/Nitrit Kaynakları

Diyetle alınan nitratın çoğunluğunu %70-90 oranında sebzeler oluştururken, daha az oranda su ve diğer besinler oluşturmaktadır (Ayaz ve Yurttagül, 2013; Merino, 2009).

2.1.2.1. Bulaşan olarak nitrat/nitrit (içme suyu)

Su kalitesi ve su kaynaklarının kalitesi insan sağlığı açısından çok önemlidir. Sulardaki nitrat ve nitrit düzeyleri su kalitesinin önemli indikatörleridir. Yüzeysel ve yeraltı sularında nitrat miktarı normalde düşüktür. Yeraltı sularından gelen nitratın azotlu gübreler, hayvan dışkıları, atık sular, depolama, foseptik çukurları, kentsel akış (inşaat malzemeleri ve çöpler gibi çeşitli kirleticilerin bulaştığı yüzeysel su akışı) ve toprak organik maddesi gibi kaynakları bulunmaktadır (Merino, 2009).

Yoğun tarımsal faaliyetin sürdürüldüğü çoğu yerde taban suyunun nitrat içeriği kabul edilebilir düzeyin üzerine çıkmaktadır. Çoğu yerde taban suyu içme suyunun önemli bir kaynağı olduğu için bu istenmeyen bir durumdur (Güler, 2005).

Tarım toprakları, bitki besin maddelerinin bitkiler tarafından alınması, yıkanması ve erozyona uğraması sonucu zamanla fakirleşmektedir. Bu nedenle; tarımsal üretimin en önemli kaynağı olan toprak; gübreleme, zararlılarla mücadele, işleme, sulama gibi tarımsal işlemler ile verimli hale getirilmeye çalışılmaktadır. Toprağın verimliliğini sürdürebilmesinde, bitkilerce

kullanılan besin maddelerinin toprağa takviye edilmesi yani gübrenmesi önemli konulardan birisi olarak karşımıza çıkmaktadır ve tarımsal üretimde yüksek verim elde etmek için gübre uygulamaları zorunluluk olarak görülmektedir. Gübreler bu nedenle yıllardır önceliğini korumaktadırlar. Ancak uygulanan gübrelerin miktarları, çeşitleri ve uygulama zamanlarının farklılık göstermesi ve bu alandaki bilgi yetersizliği nedeniyle canlı sağlığı ve çevre olumsuz olarak etkilenmektedir. Yapılan yanlış gübre uygulamalarıyla topraklarda tuzlanma, ağır metal birikimi, besin maddesi dengesizliği, mikroorganizma etkinliğinin bozulması, sularda ötrofikasyon ve nitrat birikimi, havaya azot ve kükürt içeren gazların verilmesi, sera etkisi vb. sorunlar oluşmaktadır. Azotlu gübreleme uygulaması yeraltı sularının kirlenmesinde başlıca kaynaktır. Azotlu gübre ile toprağa uygulanan nitrat, yıkanma ile taban suyu kalitesini, nitroz oksit emisyonu ile havanın kalitesini etkilemektedir (Proias vd., 2010; Sönmez vd., 2008).

Sezgin (2009)'a göre, toprağa atılan azotun %50-70'inin bitkiler tarafından kullanıldığını, %2-20'inin buharlaşma ile kaybolduğunu, %15-25'inin killi toprakta bulunan organikler ile birleştiğini ve geri kalan %2-10'luk kısmının ise yüzey ve yeraltı sularına karıştığı ifade edilmiştir. Başka bir çalışmaya göre, beyaz lahanaya, soğan ve Brüksel lahanasında üretim sonrası toprakta kalan azot miktarının (20-75 kg N/ha) düşük olduğu, ancak ıspanak gibi olgunlaşmadan hasat edilen tarla sebzelerinde ise bu miktarın 200 kg N/ha'nın üzerinde olduğu belirtilmiştir. Hem azotun çevreye verdiği zararı azaltmak, hem de azotun kullanım etkinliğini artırmak için uygulanan azotun bitkinin ihtiyacı ile uyumlu olması gerektiği ve yetiştirme dönemi dışındaki kayıpları azaltıcı yönde tedbirler alınması gerektiği söylenmiştir (Güler, 2005; Proias vd., 2010).

Yeraltı sularında nitritin varlığı fekal kirliliğin kanıtıdır. Nitrit, çözünmüş oksijen ile nitrate okside olmaya hazırdır, böylece sudaki oksijen seviyesi azalmaktadır. Bu bileşiklerin yüksek konsantrasyonları halk sağlığı için önemli bir problem haline gelmektedir.

İçme suları nitrat ve nitrit mevzuatının başlıca önceliği yenidoğanların Methemoglobinemi'ye karşı korunması olmalıdır. İçme suyu ile yüksek miktarda nitrat alımı kanser, gebelikte düşük ve prematüre doğum gibi olaylarla da ilişkilendirilmektedir. İçme suyundaki nitrat miktarı 50 ppm'i aştığı durumlarda, su, insan diyetinin toplam nitrat alımının ana kaynağı olan sebzeleri geçebilir. Ülkemiz Sağlık Bakanlığı İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmeliği'ne (Resmi Gazete Tarihi: 17.02.2005 Resmî Gazete Sayısı: 25730) göre, nitrat limiti 50 mg/L, nitrit limiti 0,5 mg/L'dir.

2.1.2.2. Gıda katkısı olarak nitrat/nitrit

Nitrat ve nitrit, et ve et ürünlerinde (salam, sosis, sucuk) kırmızı rengi sağlamak, aromayı geliştirmek ve bazı mikroorganizmaları inhibe etmek için (özellikle de *C. botulinum*'a karşı) kullanılmaktadır. Nitrat ayrıca balık ürünlerinin korunmasında ve peynir üretiminde de kullanılır. Kürlenmiş etlerin, diyetle alınan nitritin %39'unu karşılamakta olduğu; fırınlanmış ürünler ve tahılların %34, sebzelerin %16, taze etlerin ise %8 oranında nitrit alımına katkıda bulunduğu saptanmıştır (Ayaz ve Yurttagül, 2006; Merino vd., 2000, Özdestand ve Üren, 2010).

Ülkemizde nitrat ve nitritin gıda maddelerine katılma miktarları Türk Gıda Kodeksi Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Gıda Katkı Maddeleri Tebliği (Tebliğ no: 2008/22) ile sınırlandırılmıştır. EK 1'de, nitrat ve nitritin hangi gıda maddelerine, hangi formlarda ve ne kadar katılması gerektiğini gösteren tablo verilmiştir.

2.1.2.3. Doğal bulaşan olarak nitrat/nitrit (sebzeler)

Sağlık problemine yol açmasından dolayı, pek çok ülkede nitrat ve nitrit üzerine araştırmalar yapılmaktadır. Sebzeler, nitratın vücuda alımında başlıca kaynaklardır. Nitrat başlıca sebzelerde bulunur çünkü bitkiler azotu topraktan iyonik formda almaktadırlar. Bitki tüketiminin normal diyetteki nitratın %87'sinin alımını oluşturduğu bu yüzden de sebzelerden alınan nitratın azaltılması tavsiye edilmektedir. Sebzelerde nitrat ve nitrit kontaminasyonu özellikle azotlu gübreler sonucu olmaktadır (Chung vd., 2004; Huarte-Mendiocoa vd., 1997; Merino vd., 2006).

Sebzeler nitrat içerikleri bakımından farklılıklar göstermektedir. Sebzeler taze ağırlıklarının kapsadığı nitrat içeriği bakımından şu şekilde sınıflandırılmıştır:

1. 200 mg/kg'dan daha az nitrat içeren sebzeler; kuşkonmaz, hindiba, fasulye, bezelye, mantar, patates, tatlı biber, tatlı patates, domates
2. 200-500 mg/kg arasında nitrat içeren sebzeler; karnabahar, salatalık, patlıcan, kavun, soğan, şalgam, brokoli
3. 500-1000 mg/kg arasında nitrat içeren sebzeler; beyaz ve kırmızı lahana, kıvırcık lahana, dereotu, şalgam
4. 1000-2500 mg/kg arasında nitrat içeren sebzeler; hindiba, rezene, yer lahanası, pırasa, maydanoz

5. 2500 mg/kg'dan fazla nitrat içerenler; ıspanak, tere, turp, roka, pazı, kereviz ve marul (Huarte-Mendiocoa vd., 1997, Tan, 2003; Ayaz ve Yurttagül, 2006; Ellias, 2010; Güneş, 1994; Merino vd., 2006; Prasad ve Chetty, 2008; Santamaria, 2006; Susin, Kmeci ve Gregorcic, 2006; Tamme, Reinik ve Roasto, 2010; Wolff ve Wasserman, 1972).

Sebzelerin nitrat konsantrasyonu genetik faktörlere (bitki türü, bitki dokusunun zarar görmesi vb.), çevresel değişkenlere (sezon, ışık, sıcaklık vb.) ve tarım uygulamalarına bağlıdır. Bununla birlikte çoğu sebzeler düşük miktarlarda nitrat içerirken; yapraklı sebzeler yüksek miktarlarda nitrat içermektedirler. Bunun zıttı olarak sebzeler iz miktarlarda nitrit içermektedirler. İyi koşullarda depolanmayan sebzeler ya da uzun süreler boyunca depolanan sebzelerde nitrit saptanabilmektedir. Bitkilerde toksik düzeylerde nitrit birikimine neden olan etmenler; yüksek sıcaklık, mikroorganizmalar, kontaminasyon, bitkinin başlangıç nitrat düzeyi, bitki enzimleri ve pH'nın etkisidir (Diraman, Gündüz ve Demirci, 2005; Oruç ve Ceylan, 2001).

Üretimin yapıldığı arazi yapısı, toprak özellikleri ve üreticilerin uyguladığı işlemler nitrat ve nitrit birikimini etkilemektedir. Artık vd. (2002) gübrelemenin yanı sıra nitrat birikimi üzerine tür, çeşit, bitki kısımları, vejetasyon periyodu, hasat zamanı, toprak özellikleri ve mevsim koşulları gibi faktörlerin etkili olduğunu belirtmişlerdir. Sebzelerdeki nitrat akümüasyonu üzerinde ışık ve sıcaklık gibi çevre faktörlerinin rol oynadığı ayrıca azotlu gübrelerin form ve dozlarının da etkili olduğunu belirtilmiştir (Sezgin 2009).

Değişik nedenlere bağlı olarak sebze de yüksek oranda biriken nitrat, hasattan sonraki devrelerde iki farklı biyokimyasal reaksiyonla nitrite indirgenmektedir. Birinci nitrit oluşumu, yetersiz taşıma ve depolama koşullarında ortaya çıkmaktadır. Buradaki indirgenme olayının nedeni oksijen yokluğu çeken sebzelerin intramoleküler solunumudur. Bu durumda nitrat "oksijen veren" olarak görev yapıp nitrite indirgenmektedir. Daha çok bakterilerin etkisiyle ortaya çıkan ikinci nitrit oluşumu ise sebzelerden yiyeceklerin hazırlanması ve bunların korunması sırasında ortaya çıkmaktadır.

Çizelge 2.1.'de Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'ndeki nitrat sınırları verilmiştir. Bu tabloda ıspanak, marul, roka ve bebek gıdaları limitleri belirtilmektedir. Sebzelerde nitrit için kodekste limit bulunmamaktadır.

Çizelge 2.1. Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği Nitrat Maksimum Limitleri Tablosu

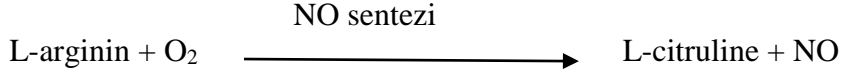
Gıda		Maksimum Limit (mg NO ₃ /kg)	
1.1.	Taze ıspanak (<i>Spinacia oleracea</i>)		3500
1.2.	Konserve edilmiş, derin dondurulmuş veya dondurulmuş ıspanak		2000
1.3.	Taze marul (<i>Latuca sativa</i> L.) (açıkta yetişen ve korunan marul)	1 Ekim – 31 Mart arasında hasat edilmiş -Örtü altında yetiştirilen marul	5000
		- Açık havada yetiştirilen marul	4000
		1 Nisan – 30 Eylül arasında hasat edilmiş -Örtü altında yetiştirilen marul	4000
		- Açık havada yetiştirilen marul	3000
1.4.	Aysberg tipi marul	Örtü altında yetiştirilen marul	2500
		Açık havada yetiştirilen marul	2000
1.5.	Roka (<i>Eruca sativa</i> , <i>Diplotaxis</i> sp., <i>Brassica tenuifolia</i> , <i>Sisymbrium tenuifolium</i>)	1 Ekim – 31 Mart arasında hasat edilmiş	7000
		1 Nisan – 30 Eylül arasında hasat edilmiş	6000
1.6.	Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları		200

2.1.3. Endojen Nitrat/Nitrit Kaynakları

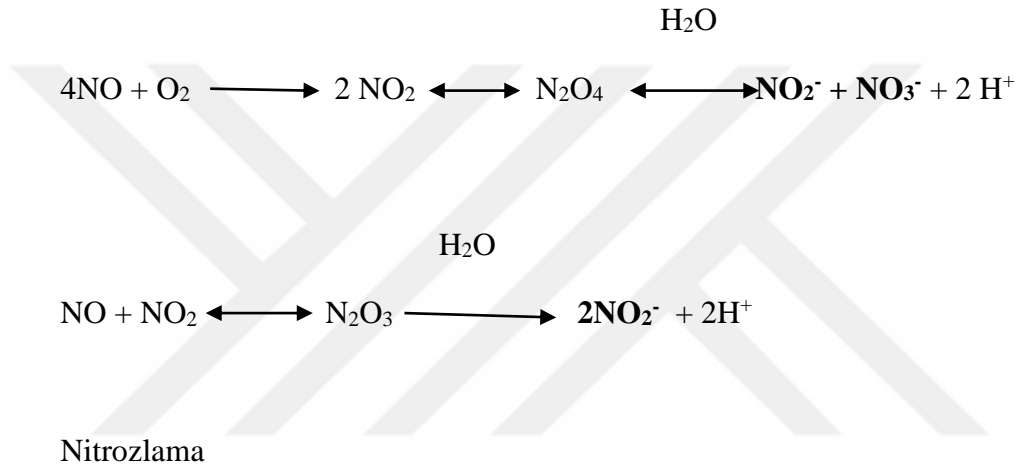
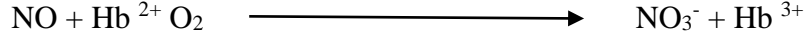
Nitrat aynı zamanda endojen olarak da oluşmaktadır. Nitrit ise endojen nitratın nitrite dönüşümüyle (yaklaşık %70-80) oluşur (Ayaz ve Yurttagül, 2013; Merino, 2009).

İnsanlarda nitrat ve nitrit, nitrik oksit üretmek için oluşan, biyokimyasal bir reaksiyonun sonucunda oluşmaktadır. İnsan vücudunda nitrat oluşumu 1900'lerin başlarında fark edilmiştir, fakat yaklaşık 60 yıldan fazla bir süre sonra yani 1980'lerin ortalarında nitrat sentezi açıklanabilmiştir. Esansiyel olmayan amino asit L-arginin, NO varlığında moleküler oksijen tarafından okside olur; L citruline ve nitrik oksit sentezlenir. Nitrik oksit oluşurken; radikaller, enzimler, oksihemoglobin, miyoglobin, oto-oksidasyon ve benzerlerini gerektiren, pek çok reaksiyon meydana gelir. Nitrat ve nitritin, L-arginin-nitrik oksit tepkimesinin ara ürünü olduğu öne sürülmektedir. Şekil 2.2.'de nitrat ve nitritin ürün olarak oluştuğu bazı reaksiyonlar verilmiştir.

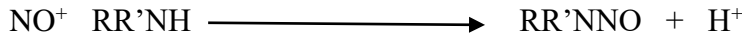
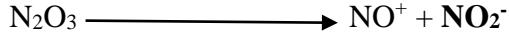
Nitrik oksit sentezi



Nitrik oksit oksidasyonu



Nitrozlama



Şekil 2.2. Son ürün olarak nitrat/nitrit oluşum reaksiyonları (Merino, 2009)

İnsanlardaki kanser oluşumunun %80'i gıda, su ve hava kaynaklı çevresel faktörler sonucudur. İlave olarak yetersiz beslenme, diyet alışkanlıkları ve yaşam stili insandaki kanser oluşumunun %40'ından direkt ya da indirekt sorumlu olabilir. Diyetle yüksek nitrat ve nitrit alımı, epidemiyolojik ve klinik çalışmalara göre insanda gastrik kanser etiyolojisinde etkilidir (Hsu vd., 2009).

Nitritin endojen oluşumu, özellikle diyet ile alınan nitratının, ağız içinde tükürükteki mikrobiyal aktivite sonucunda indirgenmesi ile oluşur. Oluşan bu miktar yaklaşık olarak toplam insan nitrit alımının % 70-80'i kadardır. Vücuda alınan nitratın % 5-7'si, nitrat indirgeyen bakterilerin bulunduğu dilde nitrite dönüşmektedir. Yüksek hızdaki bir dönüşüm ile bu oran %

20'lere çıkabilmektedir. Tükürükteki nitrit konsantrasyonları direkt olarak oral yoldan sindirilen nitrat ile ilgilidir; ama yüksek miktarda nitratın vücuda alımı ile dönüşüm doygunluğa ulaşabilmektedir. Gıdalarla alınan nitrit ve tükürükteki nitrit, sekonder ya da tersiyer aminlerle potansiyel kanserojen, mutojen ve/veya teratojen N-nitrozaminleri oluşturmak için reaksiyona girebilir ve insan sağlığı için potansiyel risk haline gelir. Epidemiyolojik çalışmalar, yüksek nitrit alımı ile mide kanseri riskindeki artış arasında bir bağlantı bulunduğunu göstermiştir. Enterik bakteriler de nitrat redüktaz enzimine sahiptirler (Certel vd., 2006; Chan, 2011; Chung vd., 2004; Dıraman vd., 2005; Shimada ve Ko, 2004; Sönmez vd., 2008; Merino, 2009; Proias vd., 2010; Özdekan ve Üren, 2010).

Mide asidi, nitrozlama reaksiyonlarını katalizlediğinden mide, endojen N-nitroza bileşiklerin sentezinde en riskli yerdir. Endojen N-nitroza bileşiklerine maruz kalmanın mide, özafagus ve mesane kanserindeki artışla ilgili olduğu belirtilmektedir (Hsu vd., 2009; Sönmez vd., 2008; Özdekan ve Üren, 2010).



Şekil 2.3. Nitratın, nitrat redüktaz enzimi ile nitrite indirgenme reaksiyonu (Merino, 2009)

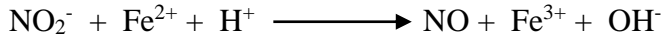
Nitratı, nitrit üreten nitrik oksiti, N-nitrozaminleri ve diğer reaktif azot ara ürünlerini metabolize etmek için pek çok tepkime vardır. Bir ya da başka bir bileşiğin üretilmesi enzimatik aktiviteye (redüktaz ya da oksidaz), oksijenasyon seviyesine, redoks potansiyeline, pH'ya, redoks durumuna bağlıdır (Merino, 2009).

Şekil 2.4.'te nitrat ve nitrit varlığında başlayan tepkimelere ait bazı örnekler verilmektedir.

Nitrit oksidasyonu (Oksihemoglobin)



Nitrit redüksiyonu (Deoksihemoglobin)

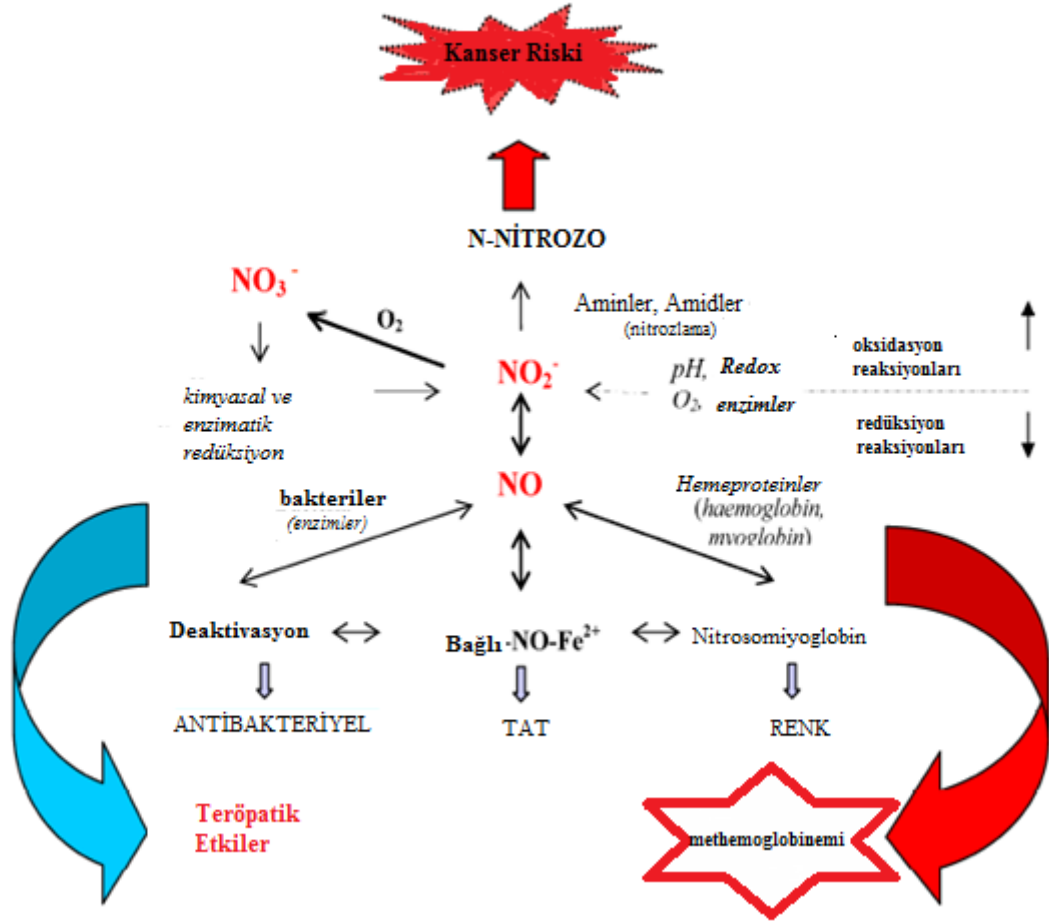


Nitrit asidifikasyonu



Şekil 2.4. Nitrat/nitritin öncü olduğu reaksiyonlar (Merino, 2009)

Nitrat ve nitrit iyonları, et ürünlerine gıda katkı maddesi olarak katıldıklarında olası gerçekleşebilecek reaksiyonlar Şekil 2.5.'te gösterilmiştir. Bunlar ve bunlar gibi pek çok biyokimyasal reaksiyon insan vücudunda nitrat ve nitrit, diyet ile birlikte bir bulaşan (içme suyu), doğal bulaşan (sebzeler) veya gıda katkı maddesi (et ürünleri) olarak tüketildiğinde gerçekleşmektedir (Merino, 2009).



Şekil 2.5. Nitrat, nitrit ve nitrik oksitin farklı oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonları (Merino, 2009)

2.2. Nitrat ve Nitrit Oluşumunu Etkileyen Faktörler

Nitrat, doğal olarak yapraklı sebzelerde bulunur ve nitrit genellikle ete sodyum ya da potasyum tuzu olarak ilave edilmektedir. İlave olarak nitrat ağız boşluğunda ya da midede nitrite indirgenir. Midenin içinde, amino asitler gibi azot içeren amin ve amitler ile reaksiyona giren nitrit, N-nitroza bileşikler olarak adlandırılan kanserojenik formlara dönüşürler (Hsu vd., 2009; Özdeştan ve Üren, 2010; Sönmez vd., 2008).

Sebzelerde nitrit ve nitrat birikimini etkileyen bazı faktörler vardır. Bitki kültürünün biyolojik özellikleri, gün ışığı yoğunluğu, toprak tipi, sıcaklık, nem, bitki sıklığı, bitki olgunluğu, çimlenme periyodu, hasat zamanı, sebze boyutu, depolama süresi ve azot kaynağı ve endojen nitrat redüktaz aktivitesi bu faktörlerdendir (Ayaz ve Yurttağül, 2013; Artık vd., 2002; Chung vd., 2004; Correia, Barroso, Barroso, Soares ve Oliveira, 2009; Dıraman vd., 2005; Hsu vd., 2009; Merino vd., 2006; Morohashi, Enya, Suzuki, Asada ve Kawata, 2010; Tamme vd., 2009; Yağmur, Okur, Tuncay ve Eşiyok, 2019).

Bitkilerde nitrat miktarı; bitkinin türü, genetik yapısı, yaşı, kısımları, çevre faktörlerine ve uygulanan tarımsal işlem şekline göre farklılık göstermektedir. Bitki türleri arasında olduğu kadar bitkinin kök, gövde, yaprak, meyve ve tohumlarında bulunan nitrat içeriği de değişebilmektedir. Yaprak sapı ve gövdede nitrat miktarı yüksek düzeyde, yaprak ve kökte orta düzeyde, meyve ve çiçeklerde ise çok düşük düzeylerde bulunmaktadır. Kuraklık, ışık yoğunluğunun azalması, bitki dokusunun zarar görmesi, azotlu gübrenin fazla kullanımı gibi faktörler bitkilerde nitrat birikimini artırmaktadır. Proteinlerin oluşumunda önemli rol üstlenen fosfor, potasyum ve kükürt ise bitkide nitrat birikiminin azalmasına neden olmaktadır. Seralarda yetiştirilen sebzelerde hem gübrelemenin hem de çevre koşullarının etkisi ile bahçe şartlarında yetiştirilen sebzelere nazaran daha fazla nitrat birikmektedir. Ayrıca organik tarım yapılması halinde ise sebzelerde nitrat seviyesinin daha düşük seviyelerde kalması beklenmektedir (Chung vd., 2004; Elias, 2010; Sezgin, 2009; Zengin, 1997).

Azotlu gübreleme ve ışık yoğunluğu, sebzelerdeki nitrat yoğunluğu için en önemli faktörler olarak belirlenmiştir (Correia vd., 2010; Santamaria, 2006).

2019 yılı verilerine göre ülkemizde en çok kullanılan gübre çeşidi azotlu gübrelerdir. Azotlu gübrelerden üre %46 azotlu gübre kullanım miktarı 1.756.277 ton olmuş ve en fazla tüketilen gübre cinsi olmuştur (Anonim d 2020). Çizelge 2.2.'de 2019 yılı Türkiye'de kullanılan gübre çeşitleri ve miktarları ton cinsinden verilmiştir.

Çizelge 2.2. 2019 yılı Türkiye'de kullanılan gübre çeşitleri ve miktarları (ton) (Anonim d, 2020)

Gübre Çeşidi	Kullanım Miktarı (ton)
--------------	------------------------

Üre %46 azotlu gübre	1.756.277
Amonyum Nitrat (%26 N)	918.600
20-20-0	910.885
Amonyum Sülfat	641.991
Diamonyum Fosfat	610.637
20-20-0-Zn Kompoze	396.430
15-15-15 Kompoze	306.446
15-15-15-Zn Kompoze	141.113
12-30-12	74.648
Triple Süper Fosfat	18.196
20-10-10	15.246
12-20-12	911

Azot, diğer tarım ürünlerinin yetiştiriciliğinde olduğu gibi sebze yetiştiriciliğinde de en fazla kullanılan besin elementi olup, eksikliğinde ürün ve kalite kayıplarına yol açmaktadır. Azotlu gübrelerin bitkisel üretimde verim artışı üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle tüketimleri giderek aşırı düzeylere ulaşmaktadır. Aşırı dozlarda azotlu gübre tüketimi, sebze bitkilerinin azotlu gübrelerle karşı çok iyi tepki göstermeleri nedeniyle ürün miktarını hızla arttırmakta ancak ürün kalitesinde bozulma, çevre kirliliği ve bu besinlerle beslenen insan ve hayvanlarda çeşitli sağlık sorunlarını da ortaya çıkarmaktadır (Topçuoğlu, Kütük, Demir ve Özçoban, 1997).

Üre %46 azotlu gübre; azotlu gübreler içinde azot miktarı en yüksek olan, granül yapılı, beyaz renkli, suda kolay ve çok eriyen bir gübredir. Hem topraktan, hem yapraktan uygulamayla bitkilerin azot ihtiyacını karşılar. Formülü $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ -%46 N (azot) şeklindedir. Bünyesinde karbon (C) bulunması ve yapısındaki azotun NH_2 formunda olması nedeniyle amidli bir gübredir. Suda kolay erimesine rağmen bünyesindeki azot (NH_2) bitki kökleri tarafından hemen alınabilir formda değildir. Bünyesindeki azotun yararlı hale geçebilmesi için topraktaki üre bakterilerinin enzimatik reaksiyonla üreyi amonyum (NH_4) azotu formuna çevirmesi gerekir. Bunun için toprağın sıcaklığı ve topraktaki üre bakterisi miktarı

(konsantrasyonu) önemlidir. Bu nedenle üre gübresi yavaş etkili gübre grubuna girmektedir (Anonim b 2020, Anonim c 2020).

Ispanak bitkisi yetiştirilirken, özellikle azotlu gübrelere dayalı bir gübreleme yapılmaktadır. Ispanak en yüksek düzeyde nitrat içeren ve depolayabilen sebzeler arasında yer almaktadır. Bu yüzden de ıspanak yetiştirilirken verilecek azotlu gübre miktarına dikkat etmek gerekmektedir. Ispanak, azotlu gübrelemeye karşı duyarlı olan; bünyesinde yüksek miktarda nitrat depolayabilen bir bitkidir (Sezgin, 2009; Stagnari vd., 2007).

2.3. Ispanak

Yeşil yapraklı sebzelerden olan ıspanak, dünyada ve ülkemizde yaygın olarak tüketilen yaprağı yenen sebzelerdendir. Yetiştirilmesinin kolaylığı ve hasada geliş süresinin kısalığı nedeniyle üretimi yaygın olarak yapılmaktadır.

Ispanak, düşük kalorilidir ve C vitamini, A vitamini ve özellikle demir gibi minerallerin iyi bir kaynağıdır. Ispanağın %90'ı su, %3,2'si azotlu bileşikler, %0,4'ü yağ, %3,6'sı karbonhidrat, %0,7'si ham selüloz ve %1,5'i mineral maddeden ibarettir. Ispanağın 100 g'ındaki besin değerleri Çizelge 2.3.'te verilmiştir. Bu özellikler, ıspanağın insan sağlığı ve beslenmesindeki önemini arttırmaktadır (Citak ve Sönmez, 2010; Stagnari, Bitetto ve Pisante, 2007; Zhang, Lin, Zhang, Zheng ve Du, 2005).

Çizelge 2.3. Ispanak bitkisinin 100 g'ındaki besin değerleri (Citak ve Sönmez, 2010; Stagnari, Bitetto ve Pisante, 2007; Zhang, Lin, Zhang, Zheng ve Du, 2005)

Enerji	25 cal
--------	--------

Protein	3 g
Karbonhidrat	3,6 g
Kolesterol	0
Yağ	0,3 g
Lif	2,1 g
Fosfor	38 mg
Kalsiyum	170 mg
Demir	2,2 mg
Sodyum	50 mg
Potasyum	500 mg
A vitamini	8100 IU
B1 vitamini	0,07 mg
B2 vitamini	0,14 mg
B3 vitamini	0,5 mg
Folik asit	150 mcg
C vitamini	28 mg
E vitamini	1,7 mg

Dünya ıspanak üretimi 2019 yılında 30 milyon ton olmuştur. 2019 yılında Çin, yaklaşık 28 milyon ton ıspanak yetiştirerek, dünya üretiminin yaklaşık %91'ini gerçekleştirmiştir. 2019 yılında dünyada yaklaşık 930 bin hektar alanda ıspanak üretimi yapılmıştır. Ispanak üretimi yapılan alanların %78'e yakını Çin'de bulunmaktadır. 2019 yılı verilerine göre Türkiye dünya ıspanak üretiminde üçüncü sırada yer almaktadır (FAOStat).

Ispanak, ülkemizin birçok yöresinde yetişen bir sebzedir. 2019 yılında 230 bin ton olan ıspanak üretiminin yaklaşık %25'i İzmir'de ve %14'ü Ankara'da gerçekleştirilmiştir. Türkiye'de yaklaşık 160 bin dekarı aşan alanda ıspanak üretimi yapılmaktadır. Üretim yapılan alanların %22'si İzmir'dedir. 1960'lı yılların başında 100 bin tonun altında olan ıspanak üretimi, 2000'li yıllarda 200 bini tonu aşmıştır. Ispanak üretim alanları, aynı dönemde 10 bin

hektardan 17 bin hektara ulaşmıştır (TUİK). Türkiye İstatistik Kurumu (TUİK) verilerine göre Çizelge 2.4.'te yıllara göre Türkiye'deki ıspanak ekim alan miktarları ve Türkiye'deki ıspanak üretim miktarları verilmiştir.

Çizelge 2.4. 2004-2019 yılları arasındaki Türkiye'de ıspanak ekilen alan miktarı (dekar) ve ıspanak üretim miktarı (ton)

Yıllar	Alan (dekar)	Üretim Miktarı (ton)
2004	214070	213000
2005	219020	238000
2006	213458	242231
2007	195279	235731
2008	194538	225746
2009	193018	225343
2010	187726	218291
2011	187027	221632
2012	184899	222225
2013	181372	220274
2014	171145	207676
2015	165789	208403
2016	161510	210999
2017	163729	222177
2018	163910	225174
2019	162589	229793

2.4. Geçmiş Dönemlerde Yapılan Çalışmalar

Tarım toprakları, bitki besin maddelerinin bitkiler tarafından alınması, yıkanması ve erozyona uğraması sonucu zamanla fakirleşmektedir. Bu nedenle; tarımsal üretimin en önemli kaynağı olan toprak; gübreleme, zararlılarla mücadele, işleme, sulama gibi tarımsal işlemler ile

verimli hale getirilmeye çalışılmaktadır. Toprağın verimliliğini sürdürebilmesinde bitkilerce azaltılan besin maddelerinin toprağa takviye edilmesi, yani gübrenmesi önemli konulardan birisidir. Bitkisel üretimde verim ve kalitenin artırılması için doğru gübreleme oldukça önemlidir. Gübrelerden en üst düzeyde fayda sağlanabilmesi için bitki istekleri, iklim, toprak yapısı, toprak pH'sı ve vejetasyon dönemi dikkate alınarak doğru bitkide, doğru yerde, doğru zamanda, doğru gübrenin kullanılması gerekmektedir. Gübrenin gereken cins ve miktarlarda uygulanmasıyla; aşırı gübre kullanımı sonucu verimde kalite bozulması, tarım topraklarının verimliliğini kaybetmesi, çevreyi olumsuz etkilemesi, kaynak israfı vb. sorunlar engellendiği gibi, gereğinden az kullanılması sonucu karşılaşılan verim ve kalite düşüklüğünün önüne de geçilmektedir (Erarslan, İnal, Güneş, Erdal ve Coşkan, 2009; Sönmez vd., 2008).

Bitki besin elementleri içinde azot alınımının gereğinden fazla olması veya alınan azotun proteine kadar olan dönüşümünün engellenmesi, bitkide azot birikimine neden olmaktadır. Azotun form ve miktarı, ışık yoğunluğu, CO₂ konsantrasyonu, sıcaklık ve bitkinin genetik özellikleri NO₃ ve NO₂ birikimine etki etmektedir. Ayrıca hava sıcaklığının yüksek olması ve ışık miktarının az olması birçok bitki çeşidinde nitrat birikimine neden olmaktadır. Kuraklık dönemlerinde topraktaki nitrat azotu yıkanamayıp birikir ve bitkiler tarafından daha çok absorbe edilir. Kuraklık ve nitrat redüktaz enzim aktivitesi arasında ters bir ilişki bulunmaktadır. Nitrat içeren gübreler de daha fazla NO₃ birikimine neden olmaktadır (Ayaz ve Yurttagül, 2006; Sönmez vd., 2008; Zengin, 1997).

Azotlu gübrelerin toprak ve bitki analizlerine göre uygun form, doz ve önerilen şekilde uygulanması, hem bitkinin bu besin maddesinden verimli bir şekilde yararlanmasını sağlamakta hem de çevre ve insan sağlığına olumsuz etkisi en az düzeyde olmaktadır. Son yıllarda azotlu gübre kullanımında yapılan hatalar (aşırı doz, yanlış uygulama yöntemleri), pek çok sorunu da beraberinde getirmektedir. Gerek çevre gerekse insan sağlığını olumsuz yönde etkileyen bu sorunların başında, "nitrat birikimi" gelmektedir (Cangi ve Acar, 2013).

İnsan vücuduna alınan günlük nitratın yaklaşık %80'i gibi büyük bir kısmının sebzelerle beraber alındığı bilinmektedir. Beslenmede önemli yer tutan sebzelerin, nitrat içeriği yüksek kaynaklar arasında yer alması ve insan sağlığı açısından fazla miktarda nitrat ve nitrit içeren gıda maddelerinin olumsuz etkilerinin ortaya çıkması, bu konu üzerindeki çalışmaları yoğunlaştırmıştır (Chan, 2011; Chou vd., 2003; Correia vd., 2010; Prasad ve Chetty, 2007; Salehzadeh, Maleki, Rezaee, Shahmoradi ve Ponnet, 2020).

Citak ve Sönmez (2010), matador tipi ıspanağı geleneksel yöntemle ve organik olarak 2 sezon (sonbahar ve kış) boyunca yetiştirmişlerdir. Geleneksel yöntemde ticari kimyasal gübre kullanılırken, organik uygulama için tavuk gübresi, çiftlik gübresi ve kan ununu gerek tek başına gerekse karıştırarak kullanmışlardır. Genel olarak sonbahar sezonunda ıspanağın daha iyi geliştiği, daha fazla verim alındığı ve daha düşük nitrat içeriğine sahip olduğunu saptamışlardır. Sadece C vitamini miktarları, kış sezonu ıspanaklarında daha yüksek olarak bulunmuştur.

Japonya’da yapılan bir çalışmada, 326 adet sebze ve meyvenin nitrat konsantrasyonu incelenmiştir. Maksimum nitrat konsantrasyonu komatsuna ve mizuna örneklerinde 6000 mgkg⁻¹ olarak tespit edilmiştir. Ispanaklarda nitrat konsantrasyon aralığı 10 ile 6000 mgkg⁻¹ olmuştur. Ispanağın günlük tüketiminin 21 gram ve Japon turpunun günlük tüketiminin 38 gram olduğunu saptamışlardır. Bunların tüketimi sonucu günlük nitrat alımının sırasıyla 0,7 ve 0,8 mgkg⁻¹ olduğu tahmin etmişler ve bu değerlerin nitrat günlük kabul edilebilir alım (ADI) miktarının sırasıyla %19 ve %23’üne denk geldiği belirlemişlerdir (Morohashi vd. 2010).

Kaminishi ve Kita (2006), ıspanakların nitrat ve oksalat içeriklerini araştırmışlardır. Bu amaçla nitrat ve oksalatın mevsimsel değişimini hesaplayıp; büyüme hızı ve nitrat ve oksalat konsantrasyonları arasındaki ilişkiyi açıklamaya çalışmışlardır. Araştırmalarında 182 çeşit ıspanağı 100 kg N ha⁻¹ azotlu gübreleme uygulayarak 4 ayrı mevsimde (kış, ilkbahar, yaz ve sonbahar) yetiştirmişlerdir. Ortalama nitrat miktarı, kış ayında yetiştirilen ıspanaklarda (3797 mg kg⁻¹ taze ağırlıkta) ortalamaları arasında istatistiksel açıdan fark bulunmayan diğer üç mevsimde yetiştirilenlere kıyasla daha düşük (4122-4328 mg kg⁻¹ taze ağırlıkta) olarak tespit edilmiştir. Bunun tersine, oksalat konsantrasyonlarında mevsimsel farklılıklar saptanmıştır. En düşük oksalat miktarı sonbaharda (6149 mg kg⁻¹ taze ağırlıkta), sonra yaz (7525 mg kg⁻¹ taze ağırlıkta) ve ilkbaharda (8903 mg kg⁻¹ taze ağırlıkta), ve en yüksek de kışın (10929 mg kg⁻¹ taze ağırlıkta) saptanmıştır. Hasat etmek için gerekli ortalama gün sayısı ile ortalama nitrat miktarının, arasında orta derecede negatif bir korelasyon olduğu (r=0,411; P<0,001); ortalama oksalat miktarı ile arasında ise kuvvetli pozitif korelasyon olduğu (r=0,566; P<0,001) saptanmıştır. Nitrat ve oksalat arasında da orta pozitif bir korelasyon bulunmuştur (r=0,325; P<0,001). Bununla birlikte, hızlı büyüyen çeşitler en yüksek nitrat ve en düşük oksalat içeriğine; yavaş büyüyen çeşitler ise en düşük nitrat ve en yüksek oksalat içeriğine sahip olmuşlardır. Bu sonuçlara göre büyüme hızının, ıspanakta nitrat ve oksalat konsantrasyonunda önemi olduğunu söylemişlerdir.

Yapılan başka bir araştırmada, ıspanak yaprağında ve ıspanağın sapında nitrat birikimi üzerine, farklı gübre tipleri ve dozajlarının etkisi araştırılmıştır. Ayrıca, gübrelemenin toprak kimyasal özellikleri üzerine etkisini de incelemişleridir. Beř farklı dozajda organik gübreleme (kompost gübre) (10, 20, 30, 40 ve 50 t/ha) ve tek dozajda kimyasal gübreleme (150 (N):150 (P):150 (K) kg/ha) uygulanarak ıspanaklar ekilmiştir. Genel olarak yaprak saplarında saptanan nitrat miktarındaki artış yapraklardakinden yüksek olmuştur. Yaprak saplarındaki nitrat birikimi organik, kimyasal ve kontrol gübreleme uygulamalarında sırasıyla; %110, %108 ve %107 olarak bulunmuştur. Dokulardaki nitrat seviyesi, genel olarak organik gübreleme dozajı arttıkça dūřmuřtur. Kimyasal gübre kullanımı sonucunda hem yapraklarda hem de yaprak sapında en yüksek nitrat konsantrasyonları elde edilmiştir. Ispanak yapraklarında en yüksek verim (27,2 t/ha) kimyasal gübre uygulaması ile alınmıştır ayrıca en yüksek dozajda organik gübreleme uygulamasında da bu sonuqla benzer verim elde edilmiştir (27,1 t/ha). En büyük yaprak alanına, kimyasal gübreleme uygulaması ya da en yüksek dozajda organik gübreleme (40 ve 50 t/ha) ile sahip olunmuştur. Diđer taraftan toprağın pH'sının, EC (elektriksel kondüktivite), organik madde, N, P ve K seviyelerinin organik gübre kullanımı ile arttığı bulunmuştur (Abubaker, Abu-Zahra, Alzu, Ammari ve Tahboub, 2010).

Chen vd. (2004), beş farklı azotlu gübreleme (KNO_3) (0; 0,15; 0,30; 0,45 ve 0,60 gNkg⁻¹) ile yetiştirdikleri kolza, Çin lahanası ve ıspanakta; azotun bitki gelişimine etkisini, nitrat birikimini ve nitrat redüktaz aktivitesini, ekimden 9 hafta sonra araştırmışlar ve optimum verimi 0,30 gNkg⁻¹ gübre uygulaması ile üretilmiş sebzelerden almışlardır. 0,45 gNkg⁻¹ gübre miktarının üzerinde bitki gelişiminin azaldığını saptamışlardır. Uygulanan nitrat miktarı arttıkça bitkilerin bütününde ve bazı bölümlerinde (kökleri dışında) nitrat miktarının yükseldiğini belirlemişlerdir. En yüksek nitrat redüktaz aktivitesinin 0,45 gNkg⁻¹ gübre uygulaması ile üretilmiş sebzelerde olduğunu tespit etmişlerdir.

Tokat bölgesi çiftçi koşullarında yetiştiriciliği yapılan bazı kışlık sebzelerin, yöresel azotlu gübre uygulamalarının nitrat akümülyasyonuna etkisinin belirlendiği bir araştırmada; kışın yetiştiriciliği yapılan ıspanak, lahanası, pırasası ve marul gibi sebzelerde nitrat, ayrıca bu sebzelerin yetiştirildiği arazilerin 0-20 cm'lik derinliğinde nitrat ve tekstür tayinleri yapılmıştır. Araştırma sonuqlarına göre, ortalama nitrat düzeyleri, taze ağırlık esasına göre ıspanak için 910-2360 mg/kg, lahanası için 945-1785 mg/kg, pırasası için 750-1947 mg/kg ve marul için 1401-2202 mg/kg arasında değişmiştir. Sebzelerin nitrat kapsamı, yöresel azotlu gübre uygulamalarından özellikle nitrat formunda azotlu gübre uygulamaları ile artış göstermiş, ancak çoğu sebzede

belirlenen nitrat miktarları insan sağlığı için tavsiye edilen limit değerlerden (WHO ve FAO'ya göre 60 kg ağırlığındaki bir insan için günlük vücuda alınan nitrat düzeyi 2000 mg'ın altında olmalıdır) düşük bulunmuştur. Ispanak bitkisinde 2059, 2230, 2250, 2255, 2360 mg/kg ile 5 örnekleme alanında, marul bitkisinde 2155, 2156, 2178, 2202 mg/kg ile 4 örnekleme alanında nitrat düzeyleri, WHO ve FAO tarafından önerilen sınır değerlerden bir miktar yüksek tespit edilmiştir. Elde edilen bulgular, genel olarak yöre sebzelerinde nitrat akümülyasyonu açısından belirtilen dönem için önemli bir sorun bulunmadığını göstermektedir (Karaman, Brohi, Güneş ve Alparslan, 2000).

Santamaria, Elia, Serio ve Todaro (1999), 15 ay boyunca, 26 farklı sebzededen, toplam 327 tane numunenin nitrat ve oksalat miktarlarını araştırmışlardır. Araştırmaya göre; yapraklı sebzeler (roka, kereviz, maydanoz ve ıspanak), soğan, kök, filiz, çiçek ve yumru sebzelerden daha yüksek miktarlarda nitrat içermektedirler. Ispanak ve İsviçre pazısında oksalat seviyelerinin yüksek olduğu saptanmıştır. İtalya'da sebze tüketilerek alınan ortalama nitrat miktarının 71 mg olduğu; ıspanak ve İsviçre pazısının birlikte tüketildiği zaman, günlük nitrat alımının %47'sini oluşturduğu tespit edilmiştir.

İsveç'te 10 yıl boyunca yapılan bir araştırmaya göre incelenen marul ve ıspanak örneklerinin nitrat miktarları, 1997 Avrupa Komisyonu tarafından belirlenen maksimum seviyelerinin altında olduğu tespit edilmiştir. İyi tarım uygulamalarını kullanan çiftçilerin bu sonuçlara katkısı olduğu belirtilmiştir. 2000 yılından sonra kullanılan organik tarım üretiminin, geleneksel üretime kıyasla düşük nitrat seviyeleri gösterdiği saptanmıştır (Merino vd., 2006).

Yeni hasat edilen bitkilerde nitrite rastlanılmamaktadır. Ancak hasattan sonra taşıma ve depolama koşullarının uygun olmaması nedeniyle sebzedeki nitrat hızlı bir şekilde nitrite indirgenmektedir. Bu indirgenme mikrobiyolojik yolla veya sebzenin intramoleküler solunumu ile ortaya çıkmaktadır (Sezgin, 2009).

Heisler, Sciliano, Krulick, Feinberg ve Scwartz (1974), öğütülmüş taze ıspanak ve pancarların oda koşullarında depolanması sırasında, nitrit ve sekonder aminlerin varlığında oluşan nitrozamin için uygun ortam olan asidik pH'nın meydana gelebileceğini söylemişlerdir. Kıyılmış ıspanak, kıyılmış ya da parçalanmış taze pancar veya pancar suyunda hızlıca nitrit oluştuğunu belirtmişlerdir.

Pek çok farklı tarladan toplanan, 34 adet lahana, marul, turp, ıspanak ve maydanoz örneklerinin analiz edilmesi sonucunda, nitrat miktarlarının 54 ve 2440 mg NO₃⁻ kg⁻¹; nitrit

miktarlarının ise 1,1 ve 57 mg NO₂⁻ kg⁻¹ arasında değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. Ispanak ve marul örneklerinin nitrat miktarlarının maksimum kalıntı limitlerini aşmadığı belirtilmiştir (Correia vd., 2010).

Yeni Zelanda ıspanağı ile iki yıl boyunca çalışma yapan Jaworska (2005a), bunların nitrit, nitrat ve oksalat eriklerini incelemiştir. Taze üründe nitrat miktarı 449-2804 mg NO₃⁻ /kg, nitrit miktarı 0,09-0,77 mg NO₂⁻/kg ve toplam oksalat miktarı 506-981 mg/100 g olarak tespit edilmiştir. Nitrat, nitrit ve oksalatın, bitkinin yenilebilir kısmında olmasına, araştırma yılına ve hasat zamanına bağlı olduğu fakat yetiştirme şeklinden etkilenmediğini tespit etmişlerdir. Saplı yapraklardaki nitrit ve nitrat miktarı sadece yapraklardakinden daha fazla olarak tespit edilmiştir. Temmuzda hasat edilen ıspanakların en düşük nitrit ve en yüksek nitrat içeriğine; eylülde hasat edilenlerin ise en düşük nitrat ve oksalat fakat en yüksek nitrit içerine sahip oldukları tespit edilmiştir.

Chung vd. (2004), dört şit sebzenin (ıspanak, ta papatya, organik Çin ıspanağı ve organik Çin lahanası) nitrit ve nitrat içeriklerini buzdolabı (5±1°C) ve ortam sıcaklığında (22±1°C) 7 gün boyunca incelemişlerdir. Ortam sıcaklığında depolama boyunca nc günden sonra nitrat seviyelerinin belirgin bir şekilde düştüğü; nitrit seviyelerin de depolamanın dördüncü gününde itibaren arttığını tespit etmişlerdir. Bununla birlikte buzdolabında depolamanın sebzelerin nitrit ve nitrat içeriklerini değiştirmediğini belirtmişlerdir.

Dıraman vd. (2005) Tekirdağ'da yaptıkları bir araştırmada, ıspanak, marul, taze fasulye, patates, elma ve üzüm örneklerinden toplam 96 tanesinin nitrat ve nitrit içeriklerini moleküler absorpsiyon spektrofotometresi yöntemi ile tespit etmişlerdir. Ispanak, marul, taze fasulye, patates, elma ve üzüm örneklerinde taze ağırlık üzerinden nitrat miktarları sırasıyla 362,5; 685,6; 168,6; 777,9; 18,1 ve 16,6 mg/kg olarak bulduklarını ve bu değerlerin Türk Gıda Kodeksi'ne göre maksimum değerlerin altında olduğunu söylemişlerdir. Nitrit miktarlarını ise çok düşük ve önemsiz miktarda bulmuşlardır (0 ile 3,57 mg/kg taze ağırlık aralığında).

Oruç ve Ceylan (2001), brokoli, ıspanak, marul, beyaz lahana, pırasa ve rokadaki nitrat ve nitrit konsantrasyonunun belirlenmesi için yaptıkları çalışmada; toplam 51 sebze numunesini spektrofotometrik yöntemle analiz etmişlerdir. Nitrat konsantrasyonları nitrat azotu olarak minimum 0,50 ppm; maksimum 206 ppm olarak tespit etmişlerdir. Sebzelerdeki nitrat miktarları büyükten küçüğe doğru roka, marul, taze ıspanak, brokoli, beyaz lahana ve pırasa olarak sıralanmıştır. Yöntemin duyarlılık sınırları içinde nitrit tespit edememişlerdir.

Araştırmanın sonuçlarına göre, analizi yapılan sebzelerin nitrat ve nitrit konsantrasyonlarının insan ve hayvan sağlığı açısından bir risk oluşturmayacağı kanısına varmışlardır.

Ayaz, Topçu ve Yurttagül (2007), 7 farklı sebze çeşidinden (domates, havuç, baş marul, yapraklı marul, göbek marul, maydanoz ve ıspanak) 258 tane örneğin, nitrit ve nitrat içeriklerini 6 ay boyunca spektrofotometrik yöntem kullanarak incelemişlerdir. Bu sebzelerin, diyetle nitrat alımının başlıca kaynakları olduğunu belirtmişlerdir. Nitrat içerikleri sırasıyla maydanozda 1513,36 mg kg⁻¹; ıspanakta 1042,81 mgkg⁻¹; marulda 1042,81 mgkg⁻¹; göbek marulda 914,22 mgkg⁻¹; kıvırcık salatada 623,38 mgkg⁻¹; havuçta 190,03 mgkg⁻¹ ve domateste 11,06 mgkg⁻¹ tespit edilmiştir. Ortalama nitrit değerleri ıspanak, maydanoz, marul, göbek marul, kıvırcık salata, havuç ve domateste sırasıyla; 2,31; 1,78; 0,98; 0,92; 0,84; 0,65 ve 0,36 mgkg⁻¹ taze ağırlıkta bulunmuştur.

Gıda Mühendisliği alanındaki gelişmeler sayesinde, tarım ürünleri hasat sonrasında teknolojik işlemlerle daha iyi korunmakta, zayıt önlenmekte ve hatta tarımsal üretim uygulamalarından kaynaklanan olumsuzlukların giderilmesine çalışılmaktadır. Bazı teknolojik işlemler, sebzelerin nitrat ve nitrit içeriklerinin azalmasına yardımcı olmaktadır.

Shimada ve Ko (2004) tahtsai, ıspanak, cningentsai ve pakchoi ile yaptıkları bir çalışmada, bu bitkilerin nitrat miktarının 100 g yenilebilir porsiyonda 300 mg'dan daha fazla olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca, kaynatma ve suya sokma işlemlerinin de nitrat içeriğinde azalmaya yol açtığını saptamışlardır.

Nejat-zadeh-Barandozi ve Gholami-Borujeni (2019), pırasa ve ıspanak ile yaptıkları çalışmada, taze sebzelerdeki nitriti iz miktarda; nitratı ise 36-328 ppm KNO₃ seviyelerinde tespit etmişlerdir. Ispanaktaki nitrat miktarının pırasadan daha fazla olduğunu fakat yasal limitlerden de düşük olduğunu söylemişlerdir. Ev koşullarına göre uyguladıkları kaynatma işlemi ile nitrat miktarının, pırasada %23 oranında, ıspanakta %61 oranında düştüğünü söylemişlerdir.

Aoun vd. (2018), çeşitli zaman ve sıcaklık uygulamaları ile suda haşlama işleminin sebzelerdeki nitrat miktarını kontrol etmede faydalı olduğunu söylemişlerdir. Yaptıkları çalışmada; 60, 70 ve 80°C'de ıspanak yapraklarını 15 dakika haşlamışlardır. Sıcaklık arttıkça nitrat içeriğinin azaldığı saptanmıştır. 60°C haşlama sıcaklığında, düşük seyreden nitrat difüzyon hızının 70°C'ye çıkılması ile birlikte daha da arttığı tespit edilmiştir. En yüksek nitrat difüzyon hızı 80°C'de haşlanan örneklerde olmuştur ve istatistiksel açıdan (P≤0,05) 70°C'de

haşlananlardan farklı çıkmıştır. 60°C’de haşlama işlemi sonucu elde edilen nitrat difüzyon hızı, 80°C’dekinden 4 kat daha düşük olmuştur.

Jaworska, Kmiecik ve Maciejaszek (2001), konservelenmiş ıspanak ve Yeni Zelanda ıspanağı ile bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmaya göre Yeni Zelanda ıspanağı nitrit miktarı dışında analiz ettikleri tüm parametrelerde (kuru madde, toplam şeker, nişasta, diyet lifi, toplam azot, toplam asitlik, kül, pH, C vitamini, klorofil miktarı ve nitrat) %1-63 arasında bir düşüş saptamışlardır. En büyük düşüşler toplam asitlik ve C vitamininde olurken, Yeni Zelanda ıspanağında aynı anda klorofil miktarı da çok düşmüştür. Bir yıllık depolama boyunca ise iki üründe de nitrit miktarı %44-66 yükselmiş ve nitrat miktarları %8-11 oranında azalmıştır. Ispanakta klorofil miktarı %51 düşmüş ve Yeni Zelanda ıspanağında toplam asitlik ve C vitamini %12 ve %37 azalmıştır. Bir yıllık depolama sonrasında Yeni Zelanda ıspanağının %35 daha az kuru ağırlık, %4-6 daha az nitrit ve nitrat, %20-50 daha az nişasta, diyet lif, toplam azot, kül ve toplam asit, %55 daha az klorofil ve %69 C vitamini içerdiği saptanmıştır. Ürünlerin organoleptik kalitelerinin iyi olduğu belirtilmiştir.

Ayaz ve Yurttagül (2013), nitrat ve nitrit içeriklerini spektrofotometrik yöntemle belirlemek üzere, 24 adet ıspanağa; yıkama, buzdolabında bekletme, pişirme ve dondurarak depolama gibi farklı işlemler uygulamışlardır. Yıkama ($P>0,05$) ve suda pişirme ($P<0,05$) ile nitrat miktarının bir miktar azaldığı, susuz pişirme ($P>0,05$) ile ise bir miktar arttığını tespit etmişlerdir. Nitrit miktarları, ise hem susuz ($P>0,05$) hem de suda pişirme ($P<0,05$) ile azalmıştır. Buzdolabında açık ya da kapalı olarak bekletilmenin nitrat üzerine bir etkisi tespit edilmemiştir. Fakat nitrit, açık ortamda bekletilen ıspanakta azalmış ($P<0,05$), kapalı ortamdakinde artmıştır ($P>0,05$). Dondurarak depolama boyunca nitrit ve nitrat değişmemiştir.

2004 yılında yapılan bir çalışmada, dereotlarının yapraklı kısmında ve bütün bitkide (sap ve kök ile birlikte yapraklar) nitrat, nitrit ve oksalat içeriklerini kıyaslamışlardır. Dondurma ve soğukta depolama işlemlerinin de bu bileşiklere etkisini araştırmışlardır. Haşlama işlemi uygulayarak ya da uygulamadan dereotlarını -20 ve -30°C’de 12 ay boyunca depolanmışlardır. Her üç ayda bir örneklerin analizlerini yapmışlardır. Dereotu yapraklarının bütün bitkiye kıyasla daha düşük nitrat miktarına (%54), daha yüksek nitrit ve oksalat (%26) miktarına sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Haşlama işleminin nitrat, nitrit ve oksalat miktarını azalttığını saptamışlardır. Dondurma işleminin analiz edilen bileşenlere etkisinin olmadığı belirlemişlerdir (Kmiecik, Lisiewska ve Slupski, 2004).

Jaworska (2005b) yaptığı diğeri bir çalışmada, ıspanak ve Yeni Zelanda ıspanağı örneklerinin haşlanması, ardından dondurulması, sterilizasyonu ve depolaması boyunca nitrat, nitrit ve oksalat içeriklerini kıyaslamıştır. İki dakikalık haşlama işleminin, dört dakikalık pişirme işlemine kıyasla, bu bileşenlerin azalmasına daha büyük ölçüde katkıda bulunduğunu tespit etmişlerdir. Ön işlem gören hammaddelerin daha az nitrat (%4-14), nitrit (%0-16), suda çözünebilir oksalat (%15-24) ve toplam oksalat (%9-19) içerdiklerini söylemişlerdir. Dondurma işlemi sonrasında nitrit miktarı %8-78 kadar, sterilizasyon sonrası % 8-41 kadar artmıştır. Konservleme işleminin ayrıca oksalat içeriğinde %21-38 kadar, suda çözünebilir oksalat içeriğinde % 5-26 kadar ve toplam oksalat içeriğinde %5-26 kadar azalmaya sebep olduğu bulunmuştur. Bir yıllık depolama sonucunda, konservenmiş olanların dondurulmuş olanlardan daha düşük miktarda bu bileşenleri içerdiği (sadece Yeni Zelanda ıspanağındaki toplam oksalat dışında) tespit edilmiştir. Yeni Zelanda ıspanak konservelerinin, ıspanak ürünlerinden daha az nitrit ve oksalat; daha fazla nitrat içerdiğini saptamışlardır.

Prasad ve Chetty (2008), akış enjeksiyon analiz tekniğini (FIA) kullanarak dört farklı yapraklı sebze çeşidinde (Çin lahanası, kereviz, marul ve İngiliz lahanası), nitrat-N içeriklerini incelemişlerdir. Nitrat-N ekstrakte etmek için iki farklı yöntem (aktif karbon ve alkali ekstraksiyon) denemişler ve aktif karbon ekstraksiyonunu diğerine tercih ederek uygulamışlardır. Aktif karbon ekstraksiyonu ile elde ettikleri ortalama geri kazanım oranı %100,62 olarak saptanmıştır. Nitrat-N içeriğine, pişirmenin (kaynatma, fırında pişirme ve kızartma) ve dondurma etkisini de araştırmışlardır. Seçilen yapraklı sebzelerin nitrat içeriğini, renk reaktifi olarak sulfanilamid ve N-(1-naftil) etilendiamindihidroklorid gerektiren Greiss protokolü ile birleştirilmiş FIA ile tespit etmişlerdir. Nitratı, 1,0'dan 20,0 mg L⁻¹'ye lineer bir aralıkta 0,042 mg kg⁻¹ metot dedeksiyon limiti ile saptamışlardır. Çalışmanın sonuçlarına göre yapraklı sebzelerin nitrat içeriklerini 1297 ile 5658 mg kg⁻¹ aralığında bulmuşlardır. Kaynatma işleminin nitrat içeriğini %47-56 düşürdüğü, soya yağında kızartma işleminin nitratı %159-307 yükselttiğini tespit etmişlerdir. Fırında pişirme işleminin nitrat üzerine bir etkisinin olmadığını bulmuşlardır. Dondurma işleminin ise nitrat değerlerinde yedi günlük depolama periyodu boyunca hafif bir dalgalanmaya sebep olduğunu bulmuşlardır.

Sezgin (2014), ıspanak, lahana, brokoli ve pazı yaprağı sebzelerinin nitrat ve nitrit seviyeleri belirleyerek; sebzelere haşlama ve dondurma işlemleri uygulamış daha sonra bu sebzeleri -24°C'de 6 ay süre ile muhafaza etmiştir. Haşlama işlemi ve dondurarak muhafaza işlemi sonrasında sebzelerde nitrat ve nitrit analizlerini tekrar yapmış ve bu teknolojik

işlemlerin nitrat ve nitrit seviyelerine etkileri belirlenmeye çalışılmıştır. Araştırmada her iki teknolojik işlemin de nitrat ve nitrit seviyesini azaltmada önemli ($P<0.01$) etkide olduğu belirlenmiştir. Taze sebzedeki nitrat seviyesi haşlama işlemi sonrasında ortalama %49,45 oranında, dondurma işlemi sonrasında %11,44 oranında azaldığı, nitrit seviyesinin ise haşlama işlemi ile ortalama %48,43 oranında, dondurma işlemi ile ortalama %6,25 azaldığını tespit edilmiştir.

İspanya’da brokoli ile yapılan bir araştırmaya göre, taze örneklerde iz miktarda nitrit ve düşük miktarda nitrat (48-97 ppm KNO_3) saptanmıştır. Endüstriyel dondurma işleminden sonra ise nitrat miktarlarında bir artış tespit etmişlerdir (127-232 ppm KNO_3) ve bu artışın işleme suyundaki yüksek miktardaki nitrat kaynaklı olabileceğini söylemişlerdir. Pişirme işleminin nitrat seviyesini düşürdüğünü (%22 ve %79 arasında); taze ve dondurulmuş sebzeler arasındaki azalma seviyelerinde fark tespit edilmemiştir. Nitrit miktarlarının dondurma işleminden ya da pişirme işleminden çok az etkilendiği bulunmuştur (Huarte-Mendicoa vd., 1997).

Gaiser, Rathjen ve Spiess (1996), haşlama işleminin sebzelerdeki nitrat konsantrasyonunu azaltmak için iyi bir seçenek olduğunu belirtmişlerdir. Nitrat gibi iyonik maddelerin, $57^{\circ}C$ üzerinde ekstrakte olduklarını; düşük sıcaklıklarda hücre membranlarının seçiciliklerini koruyup, çözünenleri geçirdiğini ve yüksek sıcaklıkların daha yüksek geçirgenlik hızına yol açtığını; 80 ve $90^{\circ}C$ arasında sadece küçük farklılıkların bulunduğunu söylemişlerdir.

Keshavarz (2015), evde pişirme etkisinin ve buzdolabında muhafazanın, ıspanaktaki nitrit ve nitrat üzerine etkisini araştırmıştır. Ispanak bitkisini, yenilebilir olmayan kısımları uzaklaştırıldıktan sonra üç kez yıkamış; sularını süzmüş ve ardından kapalı bir kaptaki üzerine su ilave etmeden, bütün suyu buharlaşana kadar ısıtmış; ardından da tüm suyu buharlaştırmış ve buzdolabına koymuştur. HPLC’de yapılan nitrit ve nitrat analizlerinden sonra, çiğ ıspanakların ortalama nitrat miktarı $336,54 \pm 182,2$ mg/kg ve nitrit miktarı $26,49 \pm 10,07$ mg/kg olarak ölçülmüştür. Pişirme işlemi, nitrat miktarında önemli bir artışa sebep olurken; buzdolabında bekletme işleminin belirgin düzeyde azalmaya yol açtığı saptanmıştır. Bunun yanında, nitrit seviyesindeki pişirme sonrası meydana gelen azalmanın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir. Buzdolabında bekletme işleminin nitrit miktarına belirgin bir etki etmediği görülmüştür. Soğutmanın aksine, su ilavesiz evde pişirme yönteminin nitrat alımını azaltmada etkin bir metot olmadığı sonucuna varılmıştır.

Chung vd. (2011), yapraklı sebzeler, baklagiller, kök sebzeler, yumru sebzeler ve meyvemsi sebzelerden oluşan 73 farklı sebze tipinden 708 adet numunenin nitrat ve nitrit içeriklerini incelemişlerdir. Nitrat analizini iyon kromatografisi metodu ile; nitrit analizini flow enjeksiyon metodu ile yapmışlardır. Nitrat seviyeleri <4-6300 mg/kg ve nitrit seviyeleri <0,8-9,0 mg/kg aralığında tespit edilmiştir. Yapraklı sebzelerin kök sebzelerden; yumru sebzelerin meyvelerden ve baklagillerden daha fazla nitrat içerdiği bulunmuştur. %80'den fazla sebzelerin ortalama nitrat içeriğinin 2000 mg/kg'dan daha az olduğu saptanmıştır; ancak yapraklı sebzelerden, Çin ıspanağı, Shanghai lahanası ve Çin beyaz lahanasının nitrat içeriğinin 3500 mg/kg'dan fazla olduğunu söylemişlerdir. Diğer taraftan nitrit içerikleri genel olarak 1 mg/kg'dan düşük olmuştur. 1-3 dakikalık haşlama işleminin, sebzelerde nitrat içeriğini önemli ölçüde (%12-31) azalttığını söylemişlerdir.

Bosch, Mata, Penuele, Galan ve Ruiz (1995), ıspanakları haşlamışlar; haşladıktan sonra hem haşlama sularını hem de ıspanakları farklı süreler boyunca buzdolabında bekletmişler ya da dondurmuşlardır. Örneklerin nitrit miktarlarını iyon kromatografisi yöntemini kullanarak tespit etmişlerdir. Sonuçlara göre dondurma işleminin numunelerin nitrit seviyelerinde bir değişikliğe yol açmadığı; fakat buzdolabında depolama işleminin 4-8 gün sonra, önemli ölçüde artışa yol açtığını saptamışlardır.

Nitrat ve nitriti tespit etmek için kullanılan pek çok metot vardır. Gıdalarda ve zirai ürünlerde, nitratın tespit edilmesinde kullanılan analitik metotlar yüksek basınçlı sıvı kromatografisi, iyon kromatografisi, sıvı kromatografisi, gaz kromatografisi, spektrofotometre, polarografi, seçici iyon elektrot potansiyometresi, kapiler elektroforez, elektron paramagnetik rezonansı içerir (Chou, Chung ve Hwang, 2003; Michalski ve Kurzyca, 2006; Nam vd., 2008; Pinto, Petisca, Amaro, Pinho ve Ferreira, 2010; Shimada ve Ko, 2004).

Reflectometer Nitratecheck ya da RQflex gibi bazı hızlı nitrat testleri de topraktaki ya da zirai ürünlerdeki nitrat miktarının kontrolünde kullanılmaktadır. Bu metotlar nispeten daha ucuzdur; fakat okuma aralığı yüksektir (Nitratecheck:5-500 mg NO₃⁻/L, RQflex:3-90 mg NO₃⁻/L), ve kesinlikleri matrikse bağlıdır (Nam vd., 2008).

Gıdalardaki nitrat ve nitriti saptamak için genellikle spektrofotometrik metotlar kullanılmaktadır; fakat iz miktarlardaki analitlerin saptanmasındaki düşük hassasiyet, matriks girişimlerinden dolayı güvenilir sonuçlara yol açabilmektedir. HPLC metotları genel olarak

spektrofotometrik yöntemlere göre daha hızlı, daha doğru ve daha yüksek hassasiyete sahiptir (Chou vd., 2003).

Bu çalışma ile farklı gübreleme miktarlarına göre yetiştirilen ıspanak örneklerinin nitrat ve nitrit miktarlarının HPLC cihazı kullanılarak belirlenmesi, bu teknolojik işlemlerin ve depolamanın nitrat ve nitrit miktarlarına etkisinin saptanması amaçlanmıştır.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

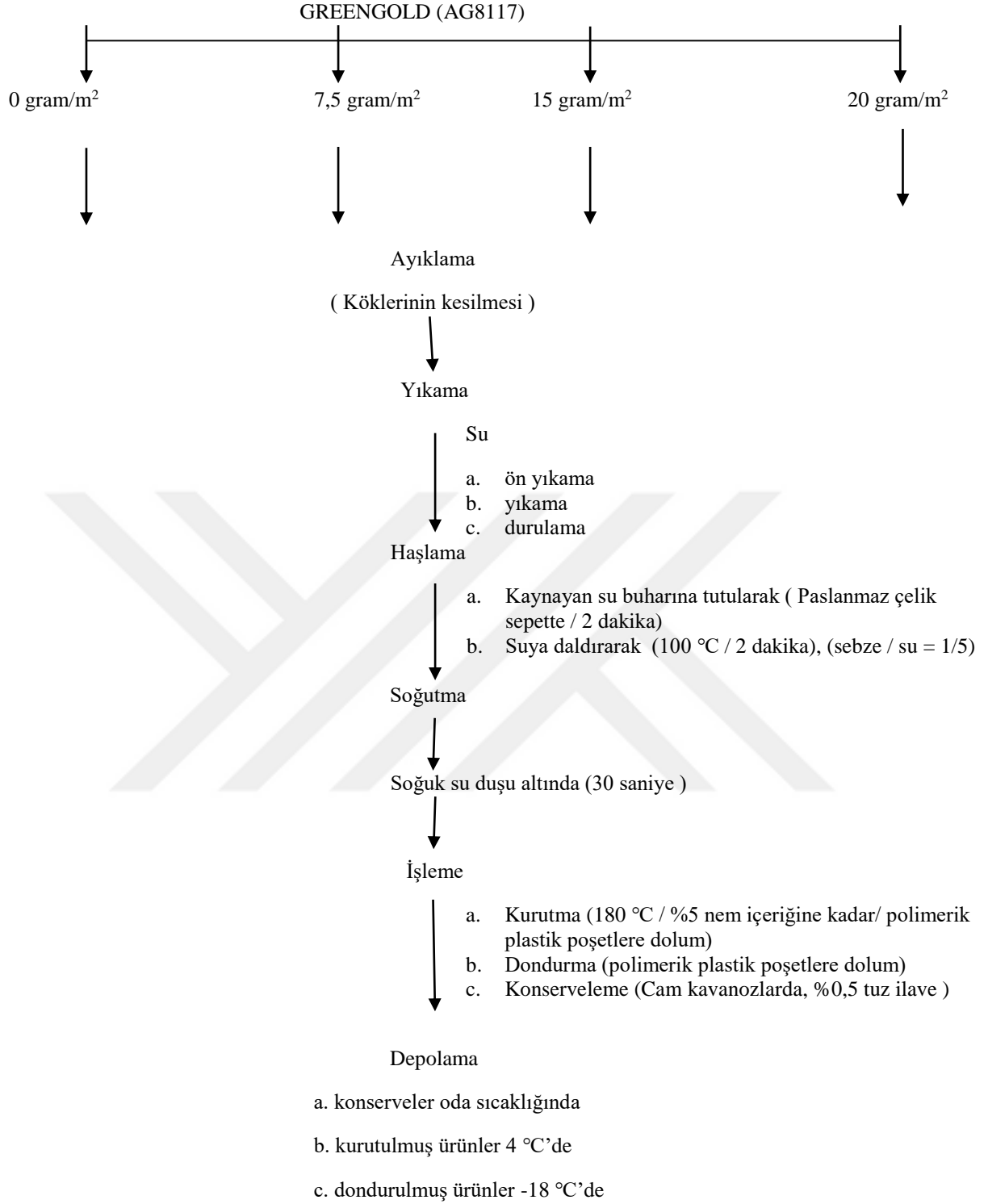
3.1. Materyal

Araştırma, Tekirdağ Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü bahçesinde iki yıl (2013-2014) boyunca yürütülmüştür. Deneme toprağına, Tekirdağ Ticaret Borsası Laboratuvarı'nda toprak analizi yaptırılmıştır. Deneme toprağına ait analiz sonuçları Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Deneme toprağına ait analiz sonuçları

PARAMETRE	SONUÇ	BİRİM	DEĞERLENDİRME	METOT
pH	7,64		Hafif alkali	Saturasyon
Tuz	0,06	%	Tuzluluk tehlikesi yok	Saturasyon
Kireç	2,46	%	Az kireçli	Kalsimetrik
İşba	59,00		Killi tınlı	Saturasyon
Organik Madde	1,06	%	Az	Walkey-Black
Toplam azot	0,05	%	Az	Kjeldahl
Fosfor (P)	73,90	ppm	Çok fazla	Olsen-ICP
Potasyum (K)	290,36	ppm	Yeterli	A.Asetat-ICP
Kalsiyum (Ca)	5194,97	ppm	Fazla	A.Asetat-ICP
Magnezyum (Mg)	432,07	ppm	Yeterli	A.Asetat-ICP
Demir (Fe)	8,05	ppm	Yeterli	DTPA-ICP
Bakır (Cu)	1,45	ppm	Yeterli	DTPA-ICP
Çinko (Zn)	1,33	ppm	Az	DTPA-ICP
Mangan (Mn)	4,05	ppm	Yeterli	DTPA-ICP

Ispanak çeşidi olarak Greengold (AG8117) tipi hibrit ıspanak, gübre çeşidi olarak Gübretaş marka üre %46 azotlu gübre kullanılmıştır. Ispanak örneklerinin işlenmesine ait şema Şekil 3.1.'de ve ıspanak örneklerinin ekim tarihlerini gösteren tablo Çizelge 3.2.'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Ispanak örneklerinin işlenmesine ait şema

Çizelge 3.2. Ispanak örneklerinin ekim tarihleri

Yıllar	Ekim zamanı	Gübreleme Zamanı	Hasat Zamanı
--------	-------------	------------------	--------------

1. Yıl	24.10.2013	12.11.2013	10.12.2013
2. Yıl	24.10.2014	22.11.2014	20.12.2014

Üre %46 azotlu gübre 0; 7,5; 15 ve 20 gram/m² düzeylerinde uygulanmıştır. Sulama, toprağın su kapsamına göre yapılmıştır.

Bitkiler toprak yüzeyinden kökleri ile birlikte gübrenme oranlarına göre ayrılarak, hasat edilmişlerdir. Analiz edilmeden önce kökler yapraklardan ayrılmıştır. Numuneler bekletilmeden analizleri yapılmıştır. Analizleri yapılan numuneler 1 yıl boyunca depolanmış; her 3 ayda bir depolama analizleri yapılmıştır.

Nitrit ve nitrat analizleri, Tekirdağ Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü'nde yapılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Ayıklama ve Yıkama

Gübrenme oranlarına göre hasat edilen ıspanaklar ayıklanıp kök kısımlarından ayrıldıktan sonra musluk suyu ile yıkanmışlardır. Ispanak örneklerinin yıkanma süreleri ortalama 5 dakika sürmüştür. Yıkanan ıspanaklar, süzgeçlerde yaklaşık olarak 3-4 dakika fazla sularının süzülmesi için bekletilmişlerdir. Yıkanmış ve süzölmüş sebzeler, ev tipi bir robotta yaklaşık 3 dakika homojen hale getirilmiştir.

3.2.2. Haşlama Ön İşlemi

Ispanaklara iki farklı haşlama işlemi uygulanmıştır. Birinci haşlama işleminde ıspanaklar kaynayan su buharına tutularak; ikincisinde ise ıspanaklar kaynayan suya daldırılarak yapılmıştır.

Kaynayan su buharına tutarak haşlama işlemi için, paslanmaz çelik sepetlere konulan ıspanaklar, 2 dakika boyunca su buharına tutulmuşlardır. Arkasından hemen soğuk su altında 30 saniye boyunca bekletilmişlerdir.

Kaynayan suya daldırarak haşlama işleminde ise; yine çelik sepetlere konulan ıspanaklar, sebze/su oranı 1/5 olacak şekilde, 100°C'deki kaynayan suda 2 dakika

bekletilmişlerdir. Ardından soğuk su altında 30 saniye boyunca soğutulmuşlardır ve haşlanan ıspanaklar sularının süzülmesi için yaklaşık 3-4 dakika bekletilmişlerdir.

3.2.3. Ispanak Örneklerinin İşlenmesi

Daldırılarak haşlanan ıspanaklar ve buhara tutularak haşlanan ıspanaklar, bu işlemlerden sonra 3 farklı işleme tabi tutulmuşlardır. Bunlar kurutma, dondurma ve konservelemedir.

3.2.3.1. Kurutma

Kurutma işlemi ev tipi fırında, 180°C'de, fırın tepsilerine ıspanaklar tek sıra halinde dizilerek gerçekleştirilmiştir (Cemeroğlu, 2009). Ardından kurutulan ıspanaklar, polimerik plastik poşetlere doldurulmuş, havası iyice çıkarılmış, ağzı sıkıca kapatılmıştır. Kurutulmuş ıspanaklar buzdolabında +4°C'de depolanmışlardır.

3.2.3.2. Dondurma

Haşlandıktan sonra suları süzülen ıspanaklar, polimerik plastik poşetlere doldurulup, havası iyice çıkarılmış, ağzı sıkıca kapatılmıştır. Ispanaklar, ev tipi derin dondurucuda <-18°C'de dondurulmuşlardır.

3.2.3.3. Konserveleme

Konserveleme işlemi için cam kavanozlar kullanılmıştır. Haşlanan ıspanaklar, kavanozlara doldurulmuş; üzerlerine %0,5 tuz içeren salamura ilave edilmiş ve kapakları kapatılmıştır (Cemeroğlu, 2009). Konserveler, 121°C'de 15 dakikada, otoklavlanmışlardır (Hirayama Hiclave HVE-50). Otoklavlanma işlemi biyolojik indikatör (*Geobacillus stearothermophilus*) ile kontrol edilmiştir. Konservenmiş ıspanaklar, oda sıcaklığında muhafaza edilmişlerdir.

3.2.4. Depolama

Ispanak örnekleri 1 sene boyunca depolanmışlardır ve her 3 ayda bir nitrit ve nitrat analizleri yapılmıştır. Kurutulmuş ıspanaklar ev tipi buzdolabında +4°C'de 1 yıl boyunca

depolanmışlardır. Dondurulmuş ıspanaklar, ev tipi derin dondurucuda $<-18^{\circ}\text{C}$ 'de 1 yıl boyunca depolanmışlardır. Konservelenmiş ıspanaklar, oda sıcaklığında 1 yıl boyunca depolanmışlardır.

3.2.5. Ispanakta Nitrat ve Nitrit Analizi

Ispanak örneklerinin nitrat ve nitrit içeriklerinin saptanması, NMKL (Nordic Committee On Food Analysis) No:165, 2000 metoduna göre yapılmıştır. Bu yöntemin amacı, analiz edilen örneklerin nitrat ve nitrit içeriklerinin sıcak su ve asetonitril ile ekstrakte edilip bekletilmeden HPLC (yüksek basınçlı sıvı kromatografisi) cihazında (Agilent 1100 series) 205 nm dalga boyunda saptanmasına dayanmaktadır. Analizde kullanılan kimyasallar aşağıda verilmiştir:

Asetonitril	: %99,9 saflıkta Merck Co. (Germany)
Gliserol	: %99,5 saflıkta Merck Co. (Germany)
Lityum hidroksit monohidrat	: %99 saflıkta Merck Co. (Germany)
Borik asit	: %99,5 saflıkta Merck Co. (Germany)
Hidroklorik asit, HCl (1,8 g/ml, %36'lık)	: Merck Co. (Germany)
Potasyum nitrat	: Supelco Analytical (USA)
Sodyum nitrit	: Supelco Analytical (USA)
Glukonik asit çözeltisi	: Merck Co. (Germany)

Analizde kullanılan çözeltiler aşağıda verilmiştir:

Glukonik asit çözeltisi: 50 g/100 ml konsantrasyona sahiptir.

Lityum borat glukonat buffer çözeltisi: 1000 ml'lik ölçülü balona ultra saf su konulur. Üzerine 34 g borik asit ve 19,6 ml glukonik asit çözeltisi ilave edilir. 19,26 g lityum hidroksit monohidrat ve 125 ml gliserol de ilave edildikten sonra çizgisine kadar ultra saf su ile tamamlanıp iyice karıştırılmıştır.

Hidroklorik asit 1,8 mol/L: 100 ml'lik ölçülü balona 15 ml hidroklorik asit konulup ultra saf su ile çizgisine tamamlandıktan sonra karıştırılmıştır.

Hidroklorik asit 0,1 mol/L: : 100 ml'lik ölçülü balona 5 ml hidroklorik asit konulup ultra saf ile çizgisine tamamlanmış ve karıştırılmıştır.

Nitrit ve nitrat stok çözeltisi: 1,5 g sodyum nitrit ve 1,629 g sodyum nitrat 1000 ml'lik balona konulduktan sonra ultra saf su ile tamamlanmıştır.

Nitrit ve nitrat standart çözeltileri: 6 adet 100 ml'lik ölçülü balona, sırasıyla; 0 ml; 0,1 ml; 0,3 ml; 0,5 ml; 1 ml ve 2,0 ml nitrit ve nitrat stok çözeltilerinden konulmuştur. Ultra saf su ile çizgilerine tamamlanmış ve karıştırılmıştır. Böylece bu çözeltilerin 1 litresinde, sırasıyla 0 mg; 1,0 mg; 3,0 mg; 5,0 mg; 10 mg ve 20 mg nitrit/nitrat iyonu olmuştur.

Mobil faz: 1000 ml'lik ölçülü balona 500 ml ultra saf konulup üzerine 17 ml lityum borat glukonat buffer ve 125 ml asetonitril ilave edilmiştir. Ultra saf su ile çizgisine tamamlanıp, iyice karıştırılmıştır. Ardından ph'sı hidroklorik asit ile $6,5 \pm 0,1$ 'e ayarlanmıştır. Gözenek genişliği 0,22 μm 'lik gözenek boyutlu filtreden süzölmüştür.

HPLC koşulları:

Analitik kolon : Waters IC Pak HC 4,6 \times 150 mm, 10 μm gözenek boyutlu

Dalga boyu : 205 nm

Enjeksiyon hacmi : 100 μL

Akış hızı : 1 ml/dakika

Homojenize edilmiş numuneler, 150 ml'lik erlenlere 10 mg hassasiyetle, yaklaşık olarak 10 g olarak tartılmışlardır. Üzerlerine 50 ml sıcak su (55°C) ilave edilmiştir. Ardından numuneler 200 ml'lik ölçülü balona, erlen ultra saf su ile yıkanarak transfer edilmişlerdir. Balona 50 ml asetonitril ilave edildikten sonra manuel olarak yavaşça karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Soğuduktan sonra ultra saf su ile çizgisine tamamlanmıştır. Filtre kağıdından süzölmüştür. Süzüntüler, okuması için viallere alınıp HPLC cihazına verilmiştir. Cihazda okunan sonuçlar, eşitlik (3.1) de yerine konulup hesaplanmıştır.

$$W_{(NO_2^-/NO_3^-)} = \frac{200 * A_{(NO_2^-/NO_3^-)}}{m} * F \quad (3.1)$$

- $W_{(NO_2/NO_3)}$: mg cinsinden, kg başına düşen nitrit ve/veya nitrat iyonları
- $A_{(NO_2/NO_3)}$: mg/L cinsinden, kalibrasyon grafiğinden gelen nitrit ve/veya nitrat değeri
- 200 : ml cinsinden ölçülü balon hacmi
- m : g cinsinden numune miktarı
- F : dilüsyon faktörü

3.2.6. Metot Parametrelerinin Belirlenmesi

Nitrit ve nitrat analizinde kullanılan metot (NMKL (Nordic Committee On Food Analysis No:165, 2000) uluslararası bir metottur. Geçerli kılınmış bu metodu, tez kapsamında kullanıma almadan önce metodun çalışabilirliğinin, uygun performans kriterleri ile ispat edilmesini sağlamak için bazı metot parametreleri belirlenmiştir. Metot parametresi olarak; lineerite, cihaz LOD/LOQ'su ve geri kazanım oranı belirlenmiştir. Lineerite çalışması için, kalibrasyon grafiği oluşturulması, rezidüel analizi ve %sapma analizi uygulanmıştır. LOD/LOQ çalışmaları için lineerite çalışma sonuçları kullanılmıştır. Uluslararası düzeyde yeterlilik testi ve kalite kontrol materyali sağlayan FAPAS®'tan alınan kalite kontrol materyali 1582QC Lettuce Puree ile nitrat; nitrit içermediği belirlenen bir marul numunesi ile nitrit geri kazanım çalışmaları yapılmıştır.

3.2.6.1. Lineerite

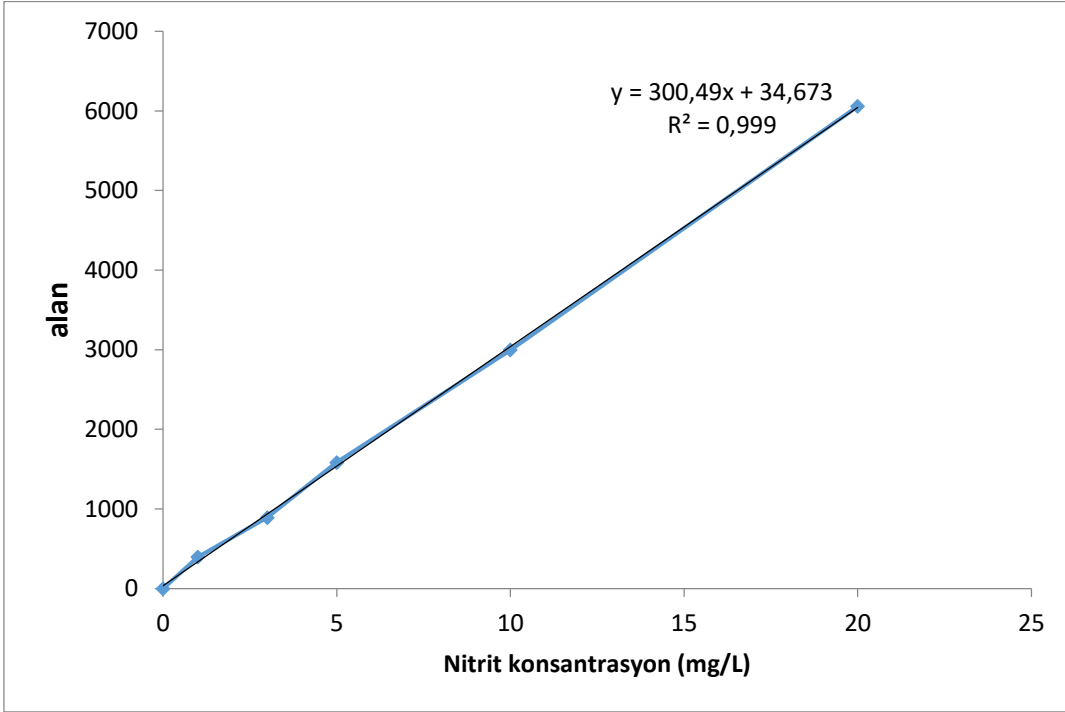
Kalibrasyon grafiği için 0, 1, 3, 5, 10 ve 20 ppm'lik nitrat ve nitrit standart çözeltileri hazırlanmıştır. Bunlar viallere alınarak HPLC cihazına yerleştirilmişlerdir. Cihazda 205 nm dalga boyunda okunduktan sonra, elde edilen pik alanlarına göre cihaza nitrit ve nitrat için ayrı ayrı lineer kalibrasyon grafikleri çizdirilmiştir. Çizdirilen her iki grafiğin de R^2 değerleri 0,999 olarak tespit edilmiştir. Çizelge 3.3.'te HPLC cihazında çizdirilen nitrit kalibrasyon grafiğine ait verilerin olduğu tablo bulunmaktadır.

Çizelge 3.3. Nitrit kalibrasyon grafiği verileri

Ortalama Alınma Zamanı	Miktar (mg/L)	Alan
------------------------	---------------	------

12,463	0	0
12,463	1	395,83
12,463	3	892,37
12,463	5	1584,05
12,463	10	2997,72
12,463	20	6057,25

Şekil 3.2.'de nitrit verileri ile oluşturulan lineer kalibrasyon grafiği verilmiştir.



Şekil 3.2. Nitrit kalibrasyon grafiği

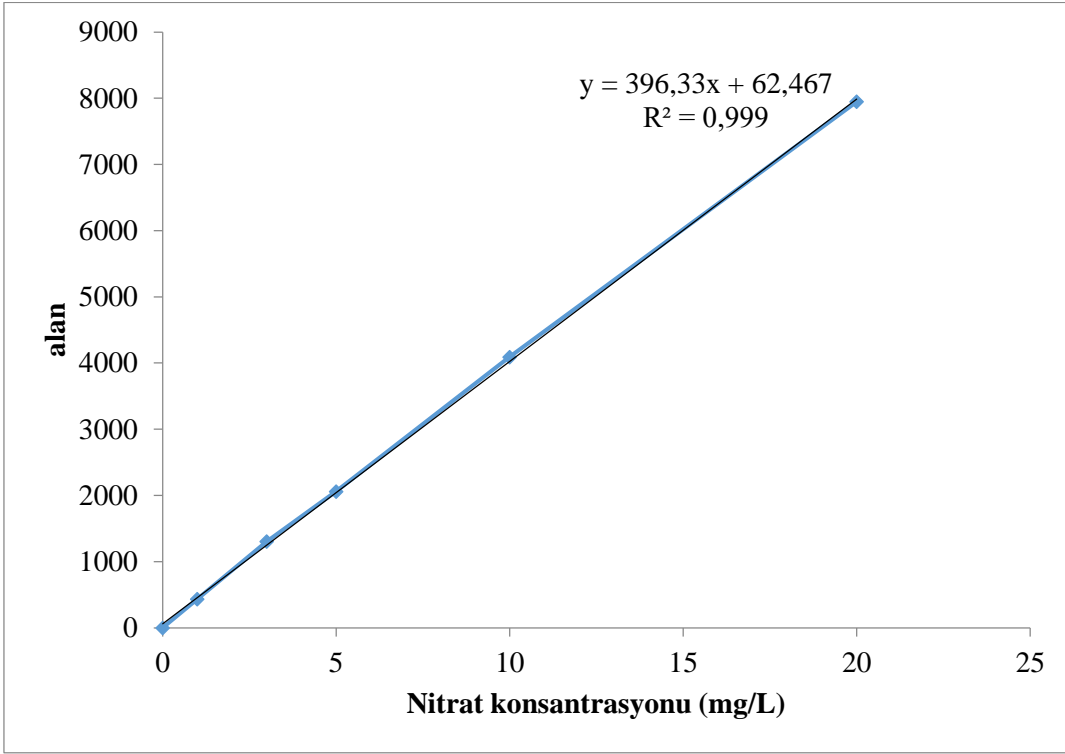
HPLC cihazında çizdirilen nitrat grafiğinin olduğu verilerinin bulunduğu tablo Çizelge 3.4.'te verilmiştir.

Çizelge 3.4. Nitrat kalibrasyon grafiği verileri

Ortalama Alınma Zamanı	Miktar (mg/L)	Alan
32,368	0	0

32,368	1	433,87
32,368	3	1301,36
32,368	5	2059,10
32,368	10	4089,49
32,368	20	7947,10

Şekil 3.3.'te nitrat verileri ile oluşturulan lineer kalibrasyon grafiği verilmiştir.

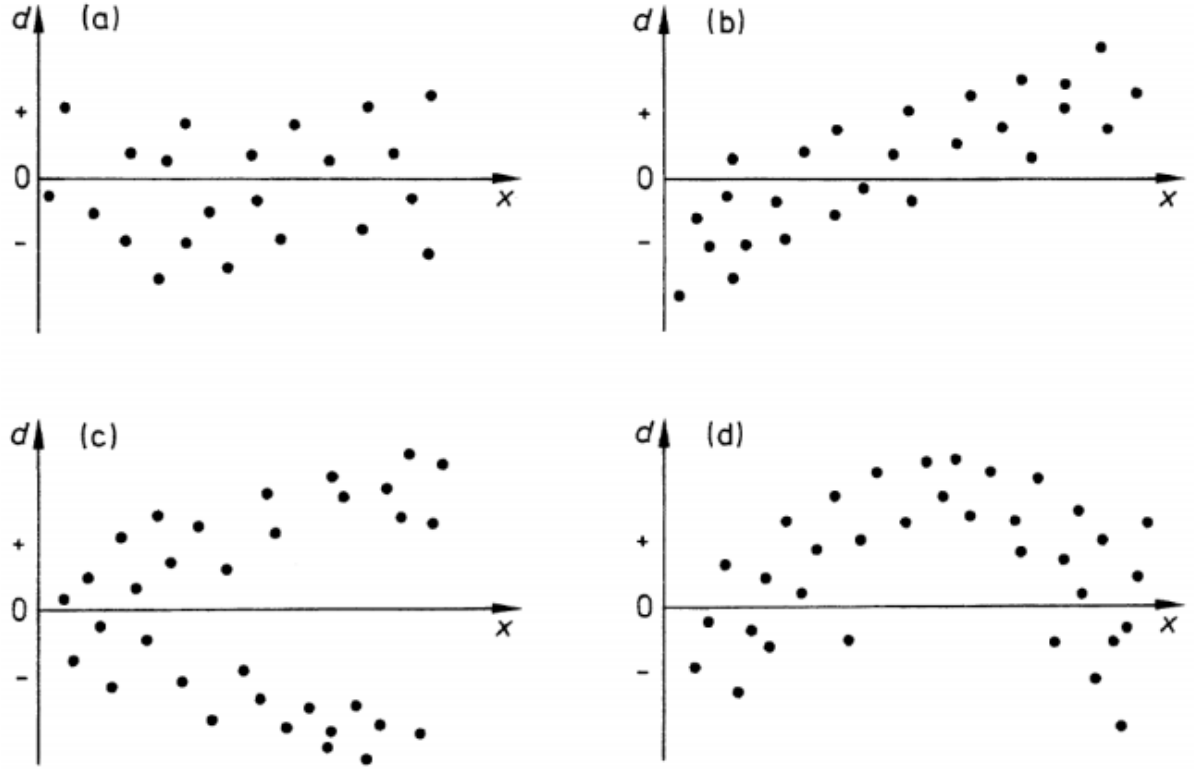


Şekil 3.3. Nitrat kalibrasyon grafiği

3.2.6.2. Kalibrasyon grafiği için rezidüel analizi

Kalibrasyon eğrisinin uygunluğunu test etmek için rezidüel analizi yapılmıştır. Rezidüel, her bir konsantrasyon değeri için, ölçülen alan değeri (y) ile kalibrasyon fonksiyonu kullanılarak hesaplanan alan değeri (y_i) arasındaki farktır. Bu analiz, görsel olarak yapılmaktadır ve verilerin normal bir dağılım göstermesi beklenmektedir. Şekil 3.4.'te rezidüel görsel değerlendirme tablosu örnekleri verilmiştir. Eğer seçilen kalibrasyon yaklaşımı doğruysa, rezidüeller normal dağılım göstermektedir (Şekil 3.4.a). Eğer rezidüeller başka bir eğilim gösteriyorsa (Şekil 3.4. b c d) kullanılan regresyon yaklaşımı doğrulanmak zorundadır.

Örneğin Şekil 3.4.d'deki gibi bir durumda ikinci dereceden fonksiyon hesaplanmalıdır (Anonim a; Sante, 2019).



- a) İdeal bir görünüm, örneğin seçilen model yaklaşım doğru,
- b) Lineer bir eğilim var, muhtemelen yanlış bir yaklaşım veya hesaplama hatası,
- c) Artan varyanslar, örneğin varyansların homojen olmayışı,
- d) Lineer olmayan bir görüntü, yanlış regresyon fonksiyonu seçiminin sonucu,

Şekil 3.4. Rezidüel görsel değerlendirme tablosu örnekleri (Anonim a)

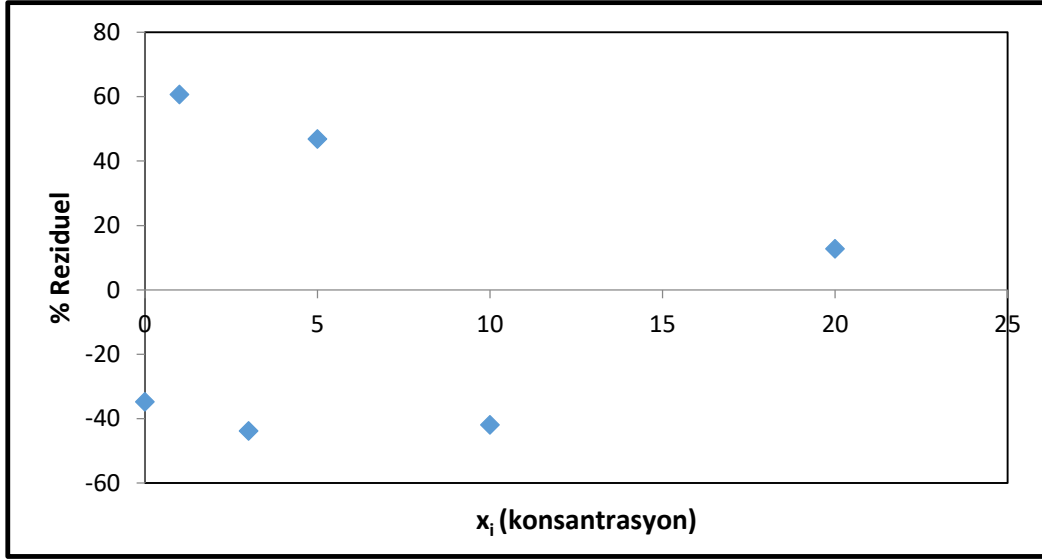
Çizdirilen nitrit grafiğine ait rezidüel tablosu Çizelge 3.5.'te ve rezidüel kontrolü görsel değerlendirme tablosu Çizelge 3.6.'da verilmiştir.

Çizelge 3.5. Nitrit kalibrasyon grafiği için rezidüel tablosu

X_i (Konsantrasyon) mg/L	Y_i (Alan)	$Y_{i,hesaplanan}$	Rezidüel = $Y_{i,hesaplanan} - Y_i$
1	395,83	335	61
3	892,37	936	-44

5	1584,05	1537	47
10	2997,72	3040	-42
20	6057,25	6044	13

Çizelge 3.6. Nitrit kalibrasyon grafiği rezidüel görsel değerlendirme tablosu



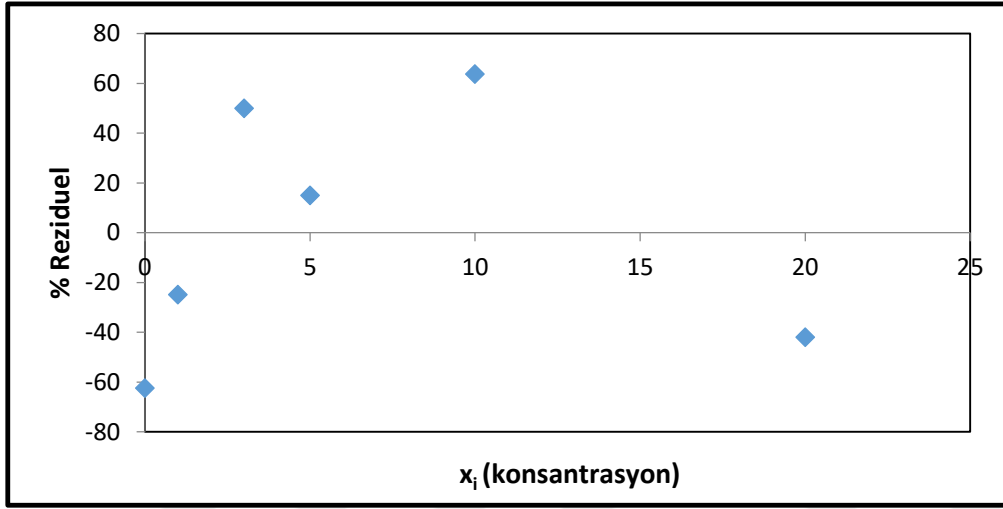
Çizdirilen nitrat grafiğine ait rezidüel tablosu Çizelge 3.7.'de ve rezidüel kontrolü görsel değerlendirme tablosu Çizelge 3.8.'de verilmiştir.

Çizelge 3.7. Nitrat kalibrasyon grafiği için rezidüel tablosu

X_i (Konsantrasyon) mg/L	Y_i (Alan)	$Y_{i,hesaplanan}$	Rezidüel = $Y_{i,hesaplanan} - Y_i$
1	434	459	-25

3	1301	1251	50
5	2059	2044	15
10	4089	4026	64
20	7947	7989	-42

Çizelge 3.8. Nitrat kalibrasyon grafiği rezidüel görsel değerlendirme tablosu



Rezidüel kontrolü görsel değerlendirme tablolarına göre, hem nitrit hem de nitrat kalibrasyon grafikleri için seçilen lineer kalibrasyon fonksiyonunun ideal görünüm olan normal dağılımı gösterdiği için uygun olduğu görülmüştür.

3.2.6.3. Kalibrasyon grafiği için % sapma kontrolü

Kalibrasyon standartlarının kalibrasyon fonksiyonu kullanılarak hesaplanan konsantrasyonları ($x_{i, hesaplanan}$) gerçek konsantrasyonlardan (x_i) $\pm 20\%$ 'den fazla sapma göstermemelidir. Kalibrasyon fonksiyonu kullanılarak hesaplanan konsantrasyon değerinin gerçek konsantrasyon değerinden sapmasının $\leq 20\%$ olması koşulu hem nitrit hem de nitrat grafik verileri için kontrol edilmiştir. Bu koşulun uygunluğu da kalibrasyon fonksiyonunun, bu grafik için uygun olduğu anlamına gelmektedir (Sante, 2019).

Çizelge 3.9.'da nitrit grafiği için ve Çizelge 3.10.'da nitrat grafiği için % sapma kontrol tabloları verilmiştir. Bu tablolara göre her iki kalibrasyon grafiğinin de % sapma kontrollerinin $\leq 20\%$ koşulunu sağladığı ve uygun çıktığı görülmüştür.

Çizelge 3.9. Nitrit kalibrasyon grafiği % sapma kontrol tablosu

X_i (Kons.) mg/L	Y_i (Alan)	$X_{i,hesaplanan}$	Sapma = $X_{i,hesaplanan}-X_i$	% Sapma= $((Sapma/X_i) * 100)$	Sapma kontrolü
1	395,83	1,200	0,2	20	Uygun
3	892,37	2,854	-0,1	-4,9	Uygun
5	1584,05	5,156	0,2	3,1	Uygun
10	2997,72	9,861	-0,1	-1,4	Uygun
20	6057,25	20,043	0,0	0,2	Uygun

Çizelge 3.10. Nitrat kalibrasyon grafiği % sapma kontrol tablosu

X_i (Kons.) mg/L	Y_i (Alan)	$X_{i,hesaplanan}$	Sapma = $X_{i,hesaplanan}-X_i$	% Sapma $((Sapma/X_i) * 100)$	Sapma kontrolü
1	434	0,937	-0,1	-6,3	Uygun
3	1301	3,126	0,1	4,2	Uygun
5	2059	5,038	0,0	0,8	Uygun
10	4089	10,161	0,2	1,6	Uygun
20	7947	19,894	-0,1	-0,5	Uygun

3.2.6.4. Cihaz LOD/LOQ çalışması

Genel olarak; tespit limiti (LOD), metodun laboratuvar koşullarında örnekteki varlığını tespit edebildiği ancak kesin miktarını ölçemediği en düşük analit konsantrasyonu; tayin limiti (LOQ) ise miktarsal olarak tespit edilebilen en düşük analit konsantrasyonu olarak tanımlanabilir.

Linearite çalışması sonuçları kullanılarak cihaz LOD ve LOQ değerleri hesaplanmıştır. Bu hesaplama yöntemi kalibrasyon eğrisinin çizdirildiği cihazlar için uygulanabilmektedir. Öncelikle rezidüel standart sapma (S_{res}) hesaplanmıştır (Eşitlik 3.2).

$$S_{res} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (Y_{i, hesaplanan} - Y_{ölçülen})^2}{n-2}} \quad (3.2)$$

$Y_{i, hesaplanan}$: Kalibrasyon fonksiyonu denkliği kullanılarak hesaplanan response değeri

$Y_{ölçülen}$: Kalibrasyon standardının ölçülen response değeri

n : Toplam okuma sayısı

Hesaplanan rezidüel standart sapma (S_{res}) ve regresyon analizi sonucu elde edilen eğim değeri (b) kullanılarak LOD ve LOQ hesaplanmıştır (Eşitlik 3.3 ve 3.4). Elde edilen LOD cihaz LOD'si; LOQ cihaz LOQ'sudur (Çizelge 3.11.).

$$LOD = 3x \frac{S_{res}}{b} \quad (3.3)$$

$$LOQ = 10x \frac{S_{res}}{b} \quad (3.4)$$

S_{res} : Rezidüel standart sapma

b : Kalibrasyon grafiği eğim değeri ($y=a+bx$)

Çizelge 3.11. Nitrat ve nitrit için S_{res} , cihaz LOD ve cihaz LOQ değerleri

	S_{res}	LOD (mg/kg)	LOQ (mg/kg)
Nitrat	0,139	0,001	0,004
Nitrit	0,189	0,002	0,006

3.2.6.5. FAPAS® kalite kontrol materyali ile nitrat geri kazanım çalışması

Numunelerin cihazda okunmasından önce, uluslararası düzeyde yeterlilik testi ve kalite kontrol materyali sağlayan FAPAS®'tan alınan kalite kontrol materyali 1582QC Lettuce Puree,

aynı diğer ıspanak örnekleri gibi analiz edilip geri kazanım çalışması yapılmıştır. Kalite kontrol materyali olan marul püresinde, belirli bir miktarda nitrat bulunmaktadır.

Kalite kontrol materyali olan Lettuce Puree (marul püresi) örnekleri 150 ml'lik erlene 10 mg hassasiyetle, yaklaşık olarak 10 g olarak tartılmışlardır. Üzerlerine 50 ml sıcak su (55°C) ilave edilmiştir. Ardından numuneler 200 ml'lik ölçülü balona, erlen ultra saf su ile yıkanarak transfer edilmiştir. Balona 50 ml asetonyril ilave ilave edildikten sonra manuel olarak yavaşça karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Soğuduktan sonra ultra saf su ile çizgisine tamamlanmıştır. Filtre kağıdından süzölmüştür. Süzöntü, HPLC (yüksek basınçlı sıvı kromatografisi) cihazında 205 nm dalga boyunda okutulmuştur. 1582QC Lettuce Puree 897 ppm nitrat içermektedir. Geri kazanım sonuçları aşağıdaki Çizelge 3.12.'de verilmiştir. Chung vd. (2011) de yaptıkları bir araştırmada, FAPAS® kalite kontrol materyalleri kullanmışlardır.

Çizelge 3.12. FAPAS® 1582QC Lettuce Puree nitrat geri kazanım verileri, (mg/kg)

Enjeksiyon Sayısı	Tespit Edilen Değer (mg/kg)	Gerçek Değer (mg/kg)	% Geri Kazanım
1	909,72	897	101,42
2	916,56	897	102,18
3	901,41	897	100,49
4	905,23	897	100,92
5	907,41	897	101,16

Elde edilen geri kazanım sonuçları %100,49 ile %102,18 arasında değişmiştir. Analit konsantrasyonuna göre beklenen geri kazanım oranı değerleri %90-107 arasındadır. Buna göre FAPAS® 1582QC Lettuce Puree ile elde edilen geri kazanım oranları belirtilen sınırlar içerisinde kalmıştır (Anonim a).

3.2.6.6. Nitrit geri kazanım çalışması

Numunelerin cihazda okunmasından önce, içerisinde nitrit olmadığı saptanmış bulunan kör marul numunesi üzerine belirli bir miktar nitrit standardı ilave edildikten sonra, aynı diğer ıspanak örnekleri gibi analiz edilip geri kazanım çalışması yapılmıştır.

Kör marul numuneleri, 150 ml'lik erlene 10 mg hassasiyetle, yaklaşık olarak 10 g olarak tartılmışlardır. Üzerine taze hazırlanmış 1000 ppm'lik nitrit standardından 1 ml standart ilavesi yapılmış ardından 50 ml sıcak su (55 °C) ilave edilmiştir. Ardından numuneler 200 ml'lik ölçülü balona, erlen ultra saf su ile yıkanarak transfer edilmiştir. Balona 50 ml asetonitril ilave edildiikten sonra manuel olarak yavaşça karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Soğuduktan sonra ultra saf su ile çizgisine tamamlanmıştır. Filtre kağıdından süzümüştür. Süzüntü, okuması için vialer alınıp HPLC cihazına verilmiştir; 205 nm dalga boyunda okutulmuştur. Sonuçlar Çizelge 3.13.'te verilmiştir.

Elde edilen geri kazanım sonuçları %91,20 ile %103,97 arasında değişmiştir. Analit konsantrasyonuna göre beklenen geri kazanım oranı değerleri %90-107 arasındadır. Buna göre kör marul örneği ile elde edilen geri kazanım oranları belirtilen sınırlar içerisinde kalmıştır (Anonim a).

Çizelge 3.13. Marul nitrit geri kazanım verileri, (mg/kg)

Enjeksiyon Sayısı	Tespit Edilen Değer (mg/kg)	Gerçek Değer (mg/kg)	% Geri Kazanım
1	103,97	100	103,97
2	92,65	100	92,65
3	91,20	100	91,20
4	102,40	100	102,40
5	95,41	100	95,41

3.2.7. İstatistiksel Analizler

Araştırmada 2 yıl üst üste, 4 farklı gübre oranında ıspanak ekilmiş; hasat edildikten sonra her bir grup 2 farklı haşlama işlemine tabi tutulmuş; ardından da, yine her bir grup ayrı ayrı kurutulmuş, dondurulmuş ve konservelenmiştir. Tüm işlenmiş ıspanaklar, işlenme şekillerine göre uygun bir şekilde 1 yıl boyunca depolanmışlardır ve her 3 ayda bir nitrat ve nitrit içeriklerinin saptanması için analiz edilmişlerdir.

Tamamen şansa bağlı deneme planına göre, 2x3x4 faktöriyel deneme esasına göre 2 tekerrür olarak yürütülmüştür. Deneme 2 yıl tekrarlanmıştır. Her yılın istatistik analizleri kendi

içerisinde yapılarak yıllar karşılaştırılmıştır. 4 farklı gübre oranı ile yetiştirilmiş örnekler için sonuçlar kendi içinde değerlendirilmiştir. Denemeye esas olan ana faktörler 3 adettir (ön işlem, son işlem ve depolama). İki adet ön işlem (buharda ve daldırarak haşlama), üç adet son işlem (kurutma, dondurma ve konserveleme) ve dört adet depolamadan (0, 4, 8 ve 12. Aylar) oluşmuştur. Gruplar arası farklılıklar, çift yönlü varyans analizi uygulanarak %5 güven aralığında ($P<0,05$) belirlenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla sonuçlar Statistica 5 programı kullanılarak değerlendirilmiş ve önemli bulunan ana varyasyon kaynaklarına ait ortalamalar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile karşılaştırılmıştır.

Ayrıca elde edilen veriler, Design Expert 7.0.3. Trial (ABD) programında faktöriyel dizayn bölümü kullanılarak tekrar analiz edilmiş ve minimum nitrat sonucunu veren deneme noktaları optimizasyon ile tahmin edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Taze Ispanak Örneklerinin Nitrat ve Nitrit Düzeyleri

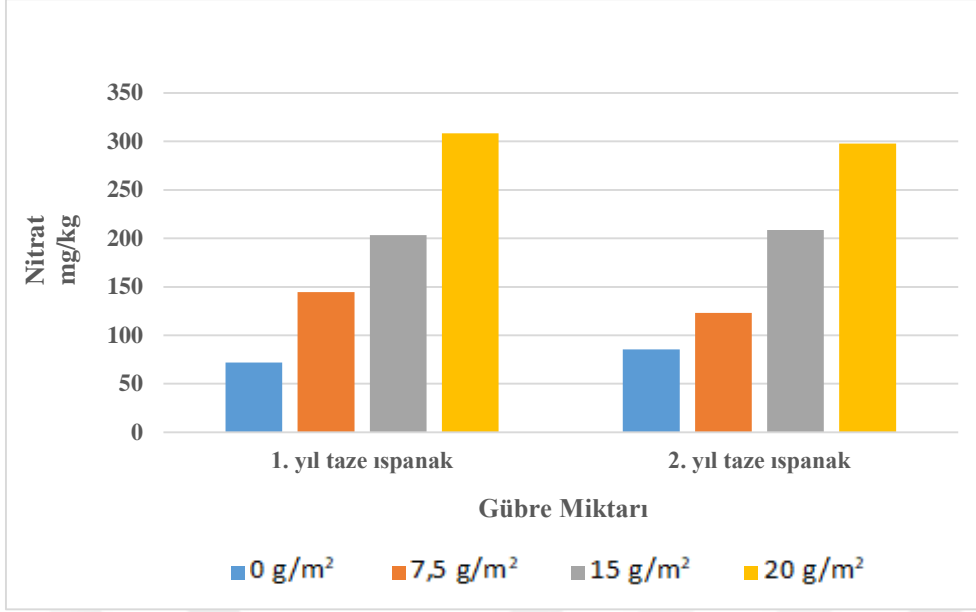
Taze ıspanak örnekleri, nitrat ve nitrit içeriklerinin belirlenmesi amacıyla hasat edildikten hemen sonra bekletilmeden analize alınmışlardır. Taze ıspanak örneklerinin gübreleme miktarlarına göre, nitrat ve nitrit içerikleri Çizelge 4.1.'de verilmiştir. Taze ıspanak örneklerinde nitrit tespit edilememiştir (<LOD).

Çizelge 4.1. Taze ıspanak örneklerindeki nitrat ve nitrit miktarları, (mg/kg)

Gübreleme	Nitrat (mg/kg)		Nitrit (mg/kg)	
	1. Yıl	2. Yıl	1. Yıl	2. Yıl
0 g/m ²	72,05±4,07	85,45±7,10	< LOD	< LOD
7,5 g/m ²	144,58±9,48	123,07±3,42	< LOD	< LOD
15 g/m ²	203,41±8,09	208,50±17,60	< LOD	< LOD
20 g/m ²	308,43±18,95	297,86±9,07	< LOD	< LOD

*LOD değeri nitrit için 0,002 mg/kg'dır.

Farklı gübreleme oranlarına göre taze ıspanak örneklerinin 1. ve 2. Yıl nitrat verileri Şekil 4.1.'de verilmiştir. Gübreleme miktarı arttıkça nitrat miktarının da arttığı gözlenmektedir.



Şekil 4.1. Farklı gübreleme oranlarına göre taze ıspanak örneklerinin 1. ve 2. Yıl nitrat verileri, mg/kg

Ispanak örneklerindeki nitrat miktarının, gübreleme miktarındaki artış ile orantılı olarak arttığı gözlenmiştir. Hiç gübreleme uygulanmamış ıspanaklarda (0 g/m^2) nitrat miktarı 72,05 ve 85,45 mg/kg; $7,5 \text{ g/m}^2$ gübreleme uygulananlarda 165,43 ve 123,07 mg/kg; 15 g/m^2 gübreleme uygulananlarda 203,41 ve 208,5 mg/kg ve 20 g/m^2 gübreleme uygulananlarda 308,43 ve 297,86 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'ne göre ıspanakta bulunması gereken maksimum nitrat miktarı 3500 mg/kg'dır. Tespit edilen sonuçlara göre, yetiştirilen ıspanak örneklerinin nitrat miktarının, kodekste yer alan limitin çok altında olduğu gözlenmektedir. Literatürlerde sebzeler, nitrat içerikleri bakımından sınıflandırıldıklarında 5 farklı gruba ayrılmışlardır. Bu sınıflandırmaya göre; Tekirdağ ilinde Dıraman vd. (2005) tarafından yapılan araştırma sonuçlarına benzer olarak, ıspanak örneklerinin nitrat içeriği bakımından 2. Gruba (200-500 mg/kg arasında nitrat içeren sebzeler) girdikleri saptanmıştır. Genellikle ıspanaklar bu sınıflandırmada 5. Gruba (2500 mg/kg'dan fazla nitrat içerenler) girerken, bu çalışmada 2. Gruba girmesi, sağlık açısından da risk teşkil etmediğini göstermektedir. Zengin (1997)'e göre insan sağlığı açısından sebzelerde 300 mg/kg'dan fazla nitrat bulunmaması önerilmektedir. Tespit edilen nitrat miktarlarının insan sağlığı için zararlı olacak düzeyde olmadığı ifade edilebilir.

Artan azot dozlarının bitkide nitrat birikimine yol açmasının yanı sıra, bitkideki nitrat birikimi bitki bölümlerinde de farklılık göstermektedir. Genel olarak bitkinin kök ve gövdesinde yaprağa kıyasla daha fazla nitrat birikmektedir. Seralarda yüksek sıcaklık ve düşük

ışık şiddeti nedeniyle sebzelerdeki nitrat birikiminin arttığını belirtilmiştir. Kuraklık nedeniyle de normal büyüme ve gelişim için gerekli suyu alamayan bitkide nitrat biriktiği ve böylece suyun yetersizliğinden dolayı bitkilerde nitritin amonyağa dönüşümünün azaldığı, protein sentezinin engellendiği belirtilmektedir. Proteinlerin oluşumunda önemli rol üstlenen fosfor, potasyum ve kükürt ise bitkide nitrat birikiminin azalmasına neden olmaktadır. Nitrat ve nitrit miktarı, uygun olmayan taşıma ve depolama koşullarından da etkilenmektedir. Ayrıca sebzelerin yıkanması ile nitrat miktarının da azaldığı saptanmıştır. Nitrat ve nitritin suda çözünen bileşikler olması nedeniyle yıkama suyuna kolaylıkla geçerek miktarlarının azaldığı saptanmıştır (Zengin, 1997; Jaworska, 2005b; Sezgin, 2009). Bu çalışmada bitkinin kök kısımları kullanılmamıştır; ıspanaklar serada ve yaz ayları gibi kurak bir dönemde yetiştirilmemiş ve toprak yapısında fosfor yüksek miktarda tespit edilmiştir. Ispanaklar hasat edildikten sonra hiç bekletilmemişler ve analize alınmadan önce yıkanmışlardır. Tüm bu sebepler, ıspanaklardaki nitrat ve nitrit miktarında azalma yönünde etkili olmuş olabilmektedir.

Özdestan ve Üren (2008) Ege bölgesinde sıklıkla tüketilen 8 farklı sebzedden aldıkları 24 örneğin ortalama nitrat miktarının 2008 mg/kg olduğunu, en fazla nitrat miktarını 4653 mg/kg ile turp otu örneğinde, en düşük nitrat miktarını ise 383 mg/kg seviye ile ıspanakta belirlemişlerdir. Bu sonuca göre de bu çalışmada tespit edilen nitrat miktarları benzerlik göstermektedir.

Önceki yıllarda yapılan pek çok araştırma da göstermektedir ki artan gübreleme miktarları ile ürünlerde biriken nitrat miktarı da artmaktadır.

Goh ve Vityakon (1986), 5 farklı azotlu gübre çeşidini kullanarak (amonyum sülfat, amonyum sülfat+N, potasyum nitrat, tavuk gübresi ve üre), her birinde 5 farklı dozajda uygulama yaparak (0, 150, 300, 450 ve 600 kg N/ha) ıspanak ve şeker pancarı yetiştirmişlerdir. Toplam azotun ve nitrat azotunun uygulanan azot miktarı ile doğru orantılı olarak arttığını tespit etmişlerdir. Potasyum nitrat uygulamasının en yüksek azot alım seviyelerine; tavuk gübresi uygulamasının ise en düşük seviyelere yol açtığını bulmuşlardır. Bitkide biriken nitratın, sadece en yüksek dozda gübre uygulamasında (600 kg N/ha) sağlık için tehlike yaratabilecek sınıra ulaştığını söylemişlerdir.

Marul bitkisi ile yapılan bir çalışmada, %26'lık NH_4NO_3 (amonyum nitrat) kullanılarak sırasıyla 0, 10, 20, 30 ve 40 kg/da N azot olacak şekilde ekim yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda marul bitkisindeki % toplam N miktarlarının % 2,89-4,84; NO_3-N 436-1924

ppm/taze ağırlık, NO₂-N ise 1,30-3,39 ppm/taze ağırlık arasında değiştiğini ve marulda en yüksek % toplam N 4,84; NO₃-N 1924 ppm/taze ağırlık ve NO₂-N 3,39 ppm/taze ağırlık ile 40 kg/da N dozunda ekim yapılanlarda bulunmuştur (Mordoğan, Ceylan, Çakıcı ve Yoldaş, 2001).

Chen vd. (2004); 5 farklı dozajda (0; 0,15; 0,30; 0,45 ve 0,60 gNkg⁻¹) KNO₃ formunda gübre kullanarak, kolza, Çin lahanası ve ıspanak yetiştirmişlerdir. Hasat sonrası bitkilerin kök, yaprak sapı ve yapraklarındaki nitrat miktarlarını incelemişlerdir. Uygulanan nitrat miktarı arttıkça, bitkinin kökleri dışında, diğer bölgelerinde de nitrat konsantrasyonunun arttığını saptamışlardır. Üç sebzenin de nitrat içeriği dağılımının benzer olduğunu saptamışlardır. Genel olarak, en yüksek nitrat miktarını bitkilerin yaprak saplarında; en düşüğünü ise köklerde tespit etmişlerdir.

Marvi (2009) tarafından yapılan çalışmada, azotlu gübre kullanarak ıspanak yetiştirmiştir. Sırasıyla gübre miktarları 0, 150, 200, 250 ve 300 kg N/ha olmuştur. Verim ve nitrat alımı, azot uygulama hızı ile bağlantılı olarak artmıştır. En yüksek azot seviyesi (300 kg N/ha) bitkilerin maksimum nitrat miktarı (2772 mg/kg) ile sonuçlanmıştır.

Ahmadi, Akbarpour, Dashti ve Shojaeian (2010), üre %46 azotlu gübre kullanarak (0, 50, 100, 150 ve 200 kg/ha) 5 farklı ıspanak yetiştirmişlerdir. Farklı gübreleme oranlarının ıspanaklardaki verim, nitrat birikimi ve bazı özellikler üzerine etkilerini incelemişlerdir. Üre miktarının artmasıyla; verimin, bitki başına düşen yaprak miktarının ve nitrat içeriğinin arttığını tespit etmişlerdir. Azotlu gübre miktarının nitrat birikimi üzerine etkisinin istatistiksel olarak önemli (P<0,01) olduğunu tespit etmişlerdir. Bitki başına düşen yaprak sayısı, verim ve nitrat içeriği, en yüksek gübre (200 kg/ha) ile ekim yapılan ıspanaklarda, en düşük olanlar ise kontrol örneklerinde tespit edilmiştir. Ancak ıspanakların nitrat miktarını, bu çalışmadan farklı olarak daha yüksek (601,4 mg/kg'dan 5353,3 mg/kg'a) saptamışlardır.

2011 yılında yapılan bir araştırmada, iki yıl boyunca sırasıyla 150, 225 ve 300 kg N/ha miktarlarında azotlu gübreleme yapılarak ıspanak yetiştirilmiş ve bunların nitrat miktarları ölçülmüştür. 300 kg N/ha gübreleme yapılan ıspanakların en yüksek nitrat içeriğine sahip olduğu saptanmıştır (Canali vd., 2011).

2012 yılında yapılan bir araştırmada, farklı azotlu gübre form ve dozlarının salamuralık asma yapraklarında nitrat birikimine bakılmıştır. Gübre olarak 3 farklı gübre; amonyum sülfat, amonyum nitrat ve üre; üç farklı dozda (5, 10 ve 15 kg/daN) kullanılmıştır. Yapılan analizlerde

azot miktarlarının artmasıyla asma yapraklarındaki nitrat miktarının da arttığı saptanmıştır (Cangi ve Acar, 2013).

Mondal ve Nad (2012), sülfür (45 kg S/ha) ve fosfor (P, 90 kg P₂O₅/ha) uygulaması ile beraber artan azot seviyeleri (60, 120 ve 240 kgN/ha) ile ıspanak yetiştirmişlerdir. Azot artışı ile nitrat miktarının arttığını saptamışlardır.

Yapılan bu çalışmada, gübreleme miktarı arttıkça, elde edilen örneklerin nitrat miktarının da arttığı; bu sonucun Oruç ve Ceylan (2001); Chen vd. (2004); Marvi (2009); Ahmadi vd.. (2010); Canali vd. (2011); Cangi ve Acar (2013) ve Mondal ve Nad (2012)'ın yaptıkları çalışmalar ile uyumlu olduğu gözlenmiştir.

Ancak taze ıspanak örneklerinde nitrit tespit edilememiştir. Bilindiği üzere sebzelerin nitrat ve nitrit içerikleri bitkinin türü, yaşı, genetik yapısı, toprağın özellikleri, mevsimsel ve bölgesel farklılık, kuraklık, ışık, sıcaklık, sulama durumu, bitkiye uygulanan azotlu gübrenin çeşit ve dozu gibi çevresel faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir. Sebzenin içerdiği nitrit miktarı bu etmenlerin yanısıra yetersiz taşıma ve depolama koşullarından da etkilenmektedir. Nitrit, taze hasar görmemiş bitki dokularında genellikle düşüktür. Bitkide nitrit miktarlarında artış endojen nitrit redüktaz enzim aktivitesindeki azalma veya mikrobiyal nitratın nitrite indirgenmesiyle açıklanabilmektedir (Heisler vd., 1974).

Bitkide nitrit oluşumu ışık ve oksijen gibi pek çok faktörün etkisi altındadır. Bu yüzden sebzelerin hasat edilmesinden depolanmasına ve analize hazırlanmalarına kadar geçen süre içinde nitrat ve nitrit içeriği bakımından pek çok değişmelerin olması muhtemeldir. Bu nedenlerle aynı işlem uygulanmış bitkilerin kendi aralarında bile nitrat ve nitrit içeriği bakımından büyük farklılıklar görülebilmektedir (Güneş, 1994).

Dıraman vd., 2005 yılında Tekirdağ ilinde taze ıspanaklarda yaptıkları çalışmada tespit ettikleri nitrit miktarı da çok düşük ve önemsiz miktarda (0 ile 3,57 mg/kg taze ağırlık aralığında) bulunmuştur. Shokrzadeh, Shokravie, Ebadi, Babae ve Tarighati (2007) de, İran'da yaptıkları bir çalışmada, satın aldıkları ıspanaklarda nitrit tespit edememişlerdir. Oruç ve Ceylan (2001) da Bursa'da yaptıkları çalışmada ıspanak örneklerinde nitrit tespit edememişlerdir. Özdestan ve Üren (2008) Ege bölgesinde sıklıkla tüketilen 8 farklı sebzeden aldıkları 24 örnek içinde 26,33 mg/kg ile semizotu örneğini en fazla nitrit konsantrasyonuna sahip bulurken; ıspanak ve şevketi bostan örneklerinde nitrit tespit edememişlerdir. Jaworska (2005b), ıspanağın nitrit seviyesinin 0,09-0,77 mgNO₂/kg yaş ağırlık gibi düşük miktarlar

arasında değiştiğini tespit etmiştir. Yine Jaworska ve Kmiecik (1999) başka bir çalışmada ıspanakların nitrit miktarını 0,06-0,08 mgNO₂/kg yaş ağırlık olarak saptamışlardır. Bu çalışmada bulunan sonuçlar, yukarıdaki çalışmalardaki sonuçlarla uyumludur.

Keshavarz, Mazloomi ve Babajafari (2015) ıspanaklar ile yaptıkları bir çalıřmada, taze ıspanaklarda nitrit miktarını 26,49 mg/kg bulduklarını belirtmiřlerdir. Bu miktarın, ıspanakta yapılan bařka çalıřmalar sonucu elde edilen ve genellikle 2 mg/kg'dan daha dūřuk miktarlarda bulunan nitrit için yūkek olduęunu sūylemiřlerdir. Bu miktarın artmasının sebzenin çeřidine, ıřęa, gūbre tipi ve miktarına baęlı olabileceęini sūylemiřlerdir. Dięer bir nedenin de zayıf depolama kořulları olduęunu; yaklařık bir gūn sūren, tarlada hasat edildięi andan itibaren, tařıma sırasında ve satın aldıkları manava ulařıncaya kadar zayıf depolama kořullarına maruz kalmıř olabileceęini dūřūnmūřlerdir.

4.2. Ispanak rneklerine Uygulanan İřlemler ve Depolama Sonrası Nitrat ve Nitrit Dūzeyleri

Ispanak örneklerine, hasat edildikten sonra ön işlem olarak iki farklı haşlama işlemi uygulanmıştır. Birinci haşlama işleminde ıspanaklar kaynayan su buharına tutulmuş; ikincisinde ise ıspanaklar kaynayan suya daldırılmıştır. Kaynayan su buharına tutarak haşlama işlemi için, paslanmaz elik sepetlere konulan ıspanaklar, 2 dakika boyunca su buharına tutulmuşlardır. Arkasından hemen soğuk su altında 30 saniye boyunca bekletilmişlerdir. Kaynayan suya daldırarak haşlama işleminde ise; yine elik sepetlere konulan ıspanaklar, sebze/su oranı 1/5 olacak şekilde, 100°C'deki kaynayan suda 2 dakika bekletilmişlerdir. Ardından soğuk su altında 30 saniye boyunca soğutulmuşlardır ve haşlanan ıspanaklar sularının sūzūlmesi için yaklaşık 3-4 dakika bekletilmişlerdir.

Hařlama işleminde sonra ıspanaklar, 3 farklı işleme tabi tutulmuşlardır. Bunlar kurutma, dondurma ve konservelemedir. Kurutma işlemi ev tipi fırında, 180°C'de, fırın tepsilerinde; dondurma işlemi, polimerik plastik poşetlere doldurulup, ev tipi derin dondurucuda <-18°C'de ve konserveleme işlemi ise cam kavanozlarda, ūzerlerine %0,5 tuz içeren salamura ilave edilip kapakları kapatıldıktan sonra otoklavda gerçekleştirilmiştir.

4.2.1. Varyans Analiz Tabloları

Tamamen řansa baęlı deneme planına göre, 2x3x4 faktöriyel deneme esasına göre 2 tekerrür olarak yūrtūlmūřtir. İki ayrı hasat yılına ait 4 farklı gūbre oranı ile yetiřtirilmiř

örneklere ait sonuçlar kendi içinde değerlendirilmiştir. Denemeye esas olan ana faktörler 3 adettir (ön işlem, son işlem ve depolama). İki adet ön işlem (buharda ve daldırarak haşlama), üç adet son işlem (kurutma, dondurma ve konserveleme) ve dört adet depolamadan (0, 4, 8 ve 12. Aylar) oluşmuştur.

Çizelge 4.2.'de 1. Yılda 0 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.2. 1. Yıl, 0 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KT	KO	F _h	P
	1	146778,1	146778,1	3932,511	0,000
Ön İşlem (O)	1	234,1	234,1	6,273	0,020
Son İşlem (S)	2	2561,7	1280,9	34,317	0,000
Depolama (D)	3	1047,4	349,1	9,354	0,000
(O)*(S)	2	408,4	204,2	5,471	0,011
(O)*(D)	3	240,7	80,2	2,150	0,120
(S)*(D)	6	785,3	130,9	3,506	0,012
(O)*(S)*(D)	6	685,0	114,2	3,059	0,023
Hata	24	895,8	37,3		
Toplam	47	6858,3			

1. Yıl 0 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarları üzerine ön işlem, son işlem, depolama ile ön işlem*son işlem, son işlem*depolama, ön işlem*son işlem*depolama interaksiyonları önemli bulunmuştur (P<0,05). Ön işlem*depolama interaksiyonu önemsiz bulunmuştur (P>0,05).

Çizelge 4.3'te 2. Yılda 0 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.3. 2. Yıl, 0 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KT	KO	F _h	P
	1	217695,9	217695,9	28024,85	0,000
Ön İşlem (O)	1	271,9	271,9	35,00	0,000
Son İşlem (S)	2	402,4	201,2	25,90	0,000
Depolama (D)	3	866,2	288,7	37,17	0,000
(O)*(S)	2	98,5	49,3	6,34	0,006
(O)*(D)	3	248,4	82,8	10,66	0,000
(S)*(D)	6	432,7	72,1	9,28	0,000
(O)*(S)*(D)	6	589,1	98,2	12,64	0,000
Hata	24	186,4	7,8		
Toplam	47	3095,7			

2. Yıl, 0 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarlarına ön işlem, son işlem, depolama ve ön işlem*son işlem interaksyonu, ön işlem*depolama interaksyonu, son işlem*depolama interaksyonu ve ön işlem*son işlem*depolama interaksyonunun etkilerinin hepsi önemli bulunmuştur (P<0,05).

Çizelge 4.4.'te 1. Yılda 7,5 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları verilmiştir.

1. Yıl, 7,5 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarları üzerine ön işlem*depolama interaksyonu önemsiz bulunmuştur (P>0,05). Ön işlem, depolama, son işlem ile ön işlem*son işlem interaksyonunun, son işlem*depolama interaksyonunun ve ön işlem*son işlem*depolama interaksyonunun etkisi önemli bulunmuştur (P<0,05).

Çizelge 4.4. 1. Yıl, 7,5 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KT	KO	F _h	P
----------------------	----	----	----	----------------	---

	1	923804,7	923804,7	9239,762	0,000
Ön İşlem (O)	1	1850,7	1850,7	18,510	0,000
Son İşlem (S)	2	4964,2	2482,1	24,826	0,000
Depolama (D)	3	1338,4	446,1	4,462	0,013
(O)*(S)	2	5961,7	2980,8	29,814	0,000
(O)*(D)	3	280,9	93,6	0,936	0,439
(S)*(D)	6	3487,6	581,3	5,814	0,001
(O)*(S)*(D)	6	4667,7	777,9	7,781	0,000
Hata	24	2399,6	100,0		
Toplam	47	24950,7			

Çizelge 4.5'te 2. Yılda 7,5 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları verilmiştir.

2. Yıl, 7,5 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarları üzerine, ön işlem, son işlem, depolama ile son işlem*depolama interaksiyonu önemli bulunurken (P<0,05); ön işlem*son işlem, ön işlem*depolama ve ön işlem*son işlem*depolama interaksiyonları önemsiz bulunmuştur (P>0,05).

Çizelge 4.5. 2. Yıl, 7,5 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KT	KO	F _h	P
	1	486967,7	486967,7	38307,72	0,000

Ön İşlem (O)	1	563,2	563,2	44,30	0,000
Son İşlem (S)	2	477,0	238,5	18,76	0,000
Depolama (D)	3	1027,8	342,6	26,95	0,000
(O)*(S)	2	55,2	27,6	2,17	0,136
(O)*(D)	3	24,3	8,1	0,64	0,599
(S)*(D)	6	194,9	32,5	2,56	0,04
(O)*(S)*(D)	6	98,5	16,4	1,29	0,299
Hata	24	305,1	12,7		
Toplam	47	2746,0			

Çizelge 4.6'da 1. Yılda 15 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları verilmiştir.

1. Yıl, 15 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarları üzerine ön işlem, son işlem ve depolamanın, ön işlem*son işlem, ön işlem*depolama, son işlem*depolama ve ön işlem*son işlem*depolama interaksiyonlarının etkisi önemli bulunmuştur (P<0,05).

Çizelge 4.6. 1. Yıl, 15 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KT	KO	F _h	P
	1	1413375	1413375	17983,02	0,000
Ön İşlem (O)	1	12913	12913	164,30	0,000
Son İşlem (S)	2	5132	2566	32,65	0,000

Depolama (D)	3	5414	1805	22,93	0,000
(O)*(S)	2	5302	2651	33,73	0,000
(O)*(D)	3	1011	337	4,29	0,015
(S)*(D)	6	2663	444	5,65	0,001
(O)*(S)*(D)	6	2587	431	5,48	0,001
Hata	24	1886	79		
Toplam	47	36908			

Çizelge 4.7'de 2. Yılda 15 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.7. 2. Yıl, 15 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KT	KO	F _h	P
	1	1271893	1271893	107903,1	0,000
Ön İşlem (O)	1	17409	17409	1476,9	0,000
Son İşlem (S)	2	901	450	38,2	0,000
Depolama (D)	3	3502	1167	99,0	0,000
(O)*(S)	2	619	309	26,2	0,000
(O)*(D)	3	66	22	1,9	0,163
(S)*(D)	6	917	153	13,0	0,000
(O)*(S)*(D)	6	233	39	3,3	0,017
Hata	24	283	12		
Toplam	47	23929			

2. Yıl, 15 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarlarına ön işlem, son işlem ve depolamanın, ön işlem*son işlem interaksyonu, son işlem*depolama ve ön işlem*son işlem*depolama interaksyonlarının etkilerinin P<0,05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Ön işlem*depolama interaksyonu ise istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur (P>0,05).

Çizelge 4.8'de 1. Yılda 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.8. 1. Yıl, 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KT	KO	F _h	P
	1	3003235	3003235	17442,27	0,000
Ön İşlem (O)	1	8	8	0,04	0,836
Son İşlem (S)	2	50527	25263	146,73	0,000
Depolama (D)	3	20753	6918	40,18	0,000
(O)*(S)	2	113	56	0,33	0,724
(O)*(D)	3	433	144	0,84	0,487
(S)*(D)	6	19981	3330	19,34	0,000
(O)*(S)*(D)	6	1987	331	1,92	0,118
Hata	24	4132	172		
Toplam	47	97933			

1. Yıl, 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarları üzerine ön işlem ile ön işlem*son işlem, ön işlem*depolama ve ön işlem*son işlem*depolama interaksiyonlarının etkisi önemsiz bulunurken (P>0,05); son işlem ve depolama ile son işlem*depolama interaksiyonunun etkileri önemli bulunmuştur (P<0,05).

Çizelge 4.9'da 2. Yılda 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları tablosu bulunmaktadır.

Çizelge 4.9. 2. Yıl, 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KT	KO	F _h	P
	1	4092754	4092754	167766,1	0,000
Ön İşlem (O)	1	1021	1021	41,9	0,000

Son İşlem (S)	2	7970	3985	163,3	0,000
Depolama (D)	3	2478	826	33,9	0,000
(O)*(S)	2	8505	4253	174,3	0,000
(O)*(D)	3	1819	606	24,9	0,000
(S)*(D)	6	6729	1121	46,0	0,000
(O)*(S)*(D)	6	2977	496	20,3	0,000
Hata	24	585	24		
Toplam	47	32086			

2. Yıl, 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarları üzerine, ön işlem, son işlem ve depolamanın, ön işlem*son işlem, ön işlem*depolama, son işlem*depolama ve ön işlem*son işlem*depolama interaksiyonlarının etkilerinin hepsi önemli bulunmuştur (P<0,05).

1. yıl 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örnekleri dışında, tüm ıspanak örneklerinin nitrat miktarı üzerine ön işlemin etkisinin istatistiki olarak önemli olduğu tespit edilmiştir (P<0,05).

Kurutma, dondurma ve konserveleme son işlemlerinin, gerek 1. Yılda gerekse 2. Yılda 4 farklı gübreleme işlemiyle üretilen ıspanak örneklerindeki nitrat miktarları üzerine etkisinin istatistiki olarak önemli olduğu tespit edilmiştir (P<0,05).

12 ay boyunca yapılan depolama işleminin de nitrat miktarı üzerine etkisinin istatistiki olarak önemli olduğu saptanmıştır (P<0,05).

4.2.2. Haşlama İşleminin Ispanak Numunelerinin Nitrat ve Nitrit Düzeylerine Etkisi

Ispanak örneklerine, hasat edildikten sonra ön işlem olarak iki farklı haşlama işlemi uygulanmıştır. Birinci haşlama işleminde ıspanaklar kaynayan su buharına tutulmuş; ikincisinde ise ıspanaklar kaynayan suya daldırılmıştır.

Çizelge 4.10'da 1. Yıl 0 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinde buharda ve daldırarak haşlama ön işlem verilerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları verilmiştir. 12. ay kurutma ve konserveleme işlemlerindeki istatistiksel fark dışında tüm

örneklerin buharda ya da daldırarak haşlama işlemleri arasında istatistiksel olarak fark tespit edilmemiştir ($P>0,05$).



Çizelge 4.10. 1. Yıl, 0 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin, haşlama ön işlemi verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları

DEPOLAMA (ay)	SON İŞLEM	ÖN İŞLEM	NİTRAT (mg/kg)	NİTRİT (mg/kg)
0.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	67,10±5,60 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	67,40±9,04 ^A	<LOD
	Dondurma	Buharda haşlama	62,89±2,28 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	57,28±11,22 ^A	<LOD
	Konserveleme	Buharda haşlama	62,89±2,28 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	57,28±11,22 ^A	<LOD

4.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	64,43±3,62 ^A	0,50±0,03
		Daldırarak haşlama	62,13±2,59 ^A	<LOD
	Dondurma	Buharda haşlama	66,80±9,54 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	56,86±4,34 ^A	<LOD
	Konserveleme	Buharda haşlama	45,49±7,42 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	41,23±0,94 ^A	<LOD
8.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	70,77±8,81 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	61,11±1,21 ^A	<LOD
	Dondurma	Buharda haşlama	61,61±0,50 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	47,62±3,98 ^A	<LOD
	Konserveleme	Buharda haşlama	40,81±0,83 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	32,88±5,66 ^A	<LOD
12.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	45,50±6,42 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	72,48±2,56 ^B	<LOD
	Dondurma	Buharda haşlama	49,58±10,75 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	45,50±6,42 ^A	<LOD
	Konserveleme	Buharda haşlama	52,22±1,58 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	35,30±0,27 ^B	<LOD

*Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

**Aynı son işleme tabi tutulmuş, aynı süre depolanmış örneklerden farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P<0,05$).

***Nitrit LOD değeri 0,002 mg/kg'dır.

Çizelge 4.11'de 2. Yıl gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinde buharda ve daldırarak haşlama ön işlem verilerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları verilmiştir. 0. ay dondurma, konserveleme; 4. ay dondurma; 8. ay kurutma, konserveleme ve 12. ay konserveleme işlemlerindeki istatistiksel fark dışında tüm örneklerin buharda ya da daldırarak haşlama işlemleri arasında istatistiksel olarak fark tespit edilmiştir ($P<0,05$).

Çizelge 4.11. 2. Yıl, 0 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin, haşlama ön işlemi verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları

DEPOLAMA (ay)	SON İŞLEM	ÖN İŞLEM	NİTRAT (mg/kg)	NİTRİT (mg/kg)
0.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	79,49±1,76 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	65,70±1,59 ^B	0,34±0,02
	Dondurma	Buharda haşlama	75,69±7,38 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	69,03±4,10 ^A	<LOD
	Konserveleme	Buharda haşlama	75,69±7,38 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	69,03±4,10 ^A	<LOD
4.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	75,38±0,15 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	62,48±1,11 ^B	<LOD
		Buharda haşlama	74,16±1,78 ^A	<LOD

	Dondurma	Daldırarak haşlama	69,40±0,05 ^A	<LOD
	Konserveleme	Buharda haşlama	73,75±0,34 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	65,28±4,53 ^B	<LOD
8.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	70,54±0,31 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	71,44±1,53 ^A	0,28±0,00
	Dondurma	Buharda haşlama	70,24±0,25 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	62,31±1,98 ^B	<LOD
	Konserveleme	Buharda haşlama	60,65±0,35 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	57,53±0,69 ^A	<LOD
12.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	59,37±0,14 ^B	<LOD
		Daldırarak haşlama	78,58±0,97 ^A	<LOD
	Dondurma	Buharda haşlama	69,91±0,47 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	55,03±1,41 ^B	<LOD
	Konserveleme	Buharda haşlama	51,82±0,51 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	53,78±1,58 ^A	<LOD

*Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

**Aynı son işleme tabi tutulmuş, aynı süre depolanmış örneklerden farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P<0,05$).

***Nitrit LOD değeri 0,002mg/kg'dır.

Çizelge 4.12'de 1. Yıl 7,5 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinde buharda ve daldırarak haşlama ön işlem verilerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları verilmiştir. 0. ay kurutma, dondurma, konserveleme; 4. ay kurutma, konserveleme ve 8. ay kurutma ve dondurma işlemlerindeki istatistiksel fark dışında tüm örneklerin buharda ya da daldırarak haşlama işlemleri arasında istatistiksel olarak fark tespit edilmiştir ($P<0,05$).

Çizelge 4.12. 1. Yıl, 7,5 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin, haşlama ön işlemi verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları

DEPOLAMA (ay)	SON İŞLEM	ÖN İŞLEM	NİTRAT (mg/kg)	NİTRİT (mg/kg)
0.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	144,87±15,40 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	132,93±3,59 ^A	<LOD
	Dondurma	Buharda haşlama	150,71±11,75 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	137,37±3,02 ^A	<LOD
	Konserveleme	Buharda haşlama	150,71±11,75 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	137,37±3,02 ^A	<LOD
4.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	154,13±11,95 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	155,67±21,30 ^A	<LOD
	Dondurma	Buharda haşlama	158,26±11,01 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	132,84±2,97 ^B	<LOD
		Buharda haşlama	131,71±14,45 ^A	<LOD

	Konserveleme	Daldırarak haşlama	115,44±6,44 ^A	<LOD
8.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	145,96±7,40 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	164,50±8,26 ^A	<LOD
	Dondurma	Buharda haşlama	151,01±13,66 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	128,45±11,02 ^A	<LOD
	Konserveleme	Buharda haşlama	155,68±7,40 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	104,30±5,20 ^B	<LOD
12.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	124,79±4,55 ^B	<LOD
		Daldırarak haşlama	141,75±13,79 ^A	<LOD
	Dondurma	Buharda haşlama	135,90±6,51 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	106,51±7,41 ^B	<LOD
	Konserveleme	Buharda haşlama	135,54±6,65 ^A	<LOD
		Daldırarak haşlama	84,15±3,51 ^B	<LOD

*Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

**Aynı son işleme tabi tutulmuş, aynı süre depolanmış örneklerden farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistik olarak birbirinden farklıdır ($P<0,05$).

***Nitrit LOD değeri 0,002mg/kg'dır.

Çizelge 4.13'te 2. Yıl 7,5 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinde buharda ve daldırarak haşlama ön işlem verilerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları verilmiştir. 0. ay dondurma, konserveleme; 4. ay kurutma, dondurma, konserveleme; 8. ay kurutma, dondurma ve 12. ay kurutma işlemlerindeki istatistiksel fark dışında tüm örneklerin buharda ya da daldırarak haşlama işlemleri arasında istatistiksel olarak fark tespit edilmiştir ($P<0,05$).

Çizelge 4.13. 2. Yıl, 7,5 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin, haşlama ön işlemi verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları

DEPOLAMA (ay)	SON İŞLEM	ÖN İŞLEM	NİTRAT (mg/kg)	NİTRİT (mg/kg)
0.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	106,35±6,33 ^A	0,80±0,01
		Daldırarak	99,70±3,11 ^B	0,87±0,14
	Dondurma	Buharda haşlama	111,62±7,18 ^A	<LOD
		Daldırarak	105,04±7,06 ^A	0,38±0,02
	Konserveleme	Buharda haşlama	111,62±7,18 ^A	<LOD
		Daldırarak	102,65±2,91 ^A	0,38±0,02
4.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	103,11±1,55 ^A	0,46±0,03
		Daldırarak	98,43±0,75 ^A	0,27±0,03
	Dondurma	Buharda haşlama	110,20±2,20 ^A	0,41±0,04
		Daldırarak	103,18±4,21 ^A	<LOD
	Konserveleme	Buharda haşlama	105,27±0,22 ^A	0,22±0,01
		Daldırarak	102,65±2,91 ^A	<LOD
		Buharda haşlama	97,31±1,43 ^A	0,40±0,00

8.Ay	Kurutma	Daldırarak	93,24±1,08 ^A	<LOD
		Dondurma	Buharda haşlama	105,91±0,48 ^A
	Daldırarak		98,53±0,73 ^A	<LOD
	Konserveleme	Buharda haşlama	99,75±0,09 ^A	<LOD
		Daldırarak	89,29±1,56 ^B	<LOD
	12.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	91,99±0,02 ^A
Daldırarak			91,98±2,76 ^A	<LOD
Dondurma		Buharda haşlama	108,55±1,63 ^A	<LOD
		Daldırarak	97,71±0,32 ^B	<LOD
Konserveleme		Buharda haşlama	98,11±0,80 ^A	<LOD
		Daldırarak	82,80±1,03 ^B	<LOD

*Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

**Aynı son işleme tabi tutulmuş, aynı süre depolanmış örneklerden farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P<0,05$).

***Nitrit LOD değeri 0,002mg/kg'dır.

Çizelge 4.14'te 1. Yıl 15 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinde buharda ve daldırarak haşlama ön işlem verilerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları verilmiştir. 1.Yıl 15 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinden 8. ay ve 12. ay konservelenen ıspanaklar dışında tüm ıspanak örneklerinde ön işlemler birbirlerinden istatistiki olarak farklı çıkmıştır ($P<0,05$).

Çizelge 4.14. 1. Yıl, 15 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin, haşlama ön işlemi verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları

DEPOLAMA	SON İŞLEM	ÖN İŞLEM	NİTRAT	NİTRİT
0.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	208,26±5,20 ^A	<LOD
		Daldırarak	162,04±2,81 ^B	<LOD
	Dondurma	Buharda haşlama	200,63±17,01 ^A	<LOD
		Daldırarak	156,36±2,13 ^B	<LOD
	Konserveleme	Buharda haşlama	200,63±17,01 ^A	<LOD
		Daldırarak	156,36±2,13 ^B	<LOD
4.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	224,95±5,86 ^A	<LOD
		Daldırarak	176,02±7,47 ^B	<LOD
	Dondurma	Buharda haşlama	191,09±13,88 ^A	0,30±0,00
		Daldırarak	161,57±1,88 ^B	<LOD
	Konserveleme	Buharda haşlama	161,13±1,24 ^A	<LOD
		Daldırarak	181,50±14,25 ^B	<LOD
8.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	201,81±1,96 ^A	0,26±0,01
		Daldırarak	146,20±7,21 ^B	<LOD
		Buharda haşlama	201,40±0,04 ^A	<LOD

	Dondurma	Daldırarak	149,79±13,13 ^B	<LOD
	Konserveleme	Buharda haşlama	147,99±8,86 ^A	<LOD
		Daldırarak	148,57±11,70 ^A	<LOD
12.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	184,90±5,67 ^A	<LOD
		Daldırarak	151,00±3,20 ^B	<LOD
	Dondurma	Buharda haşlama	206,87±8,17 ^A	<LOD
		Daldırarak	135,77±7,32 ^B	<LOD
	Konserveleme	Buharda haşlama	126,34±8,40 ^A	<LOD
		Daldırarak	137,16±9,78 ^A	<LOD

*Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

**Aynı son işleme tabi tutulmuş, aynı süre depolanmış örneklerden farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır (P<0,05).

***Nitrit LOD değeri 0,002mg/kg'dır.

Çizelge 4.15'te 2. Yıl 15 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinde buharda ve daldırarak haşlama ön işlem verilerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları verilmiştir. 2. Yıl, 15 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örnekleri için buharda haşlama ve daldırarak haşlama işlemleri arasında istatistiksel olarak fark tespit edilmiştir (P<0,05).

Çizelge 4.15. 2. Yıl, 15 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin, haşlama ön işlemi verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları

DEPOLAMA	SON İŞLEM	ÖN İŞLEM	NİTRAT	NİTRİT
0.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	188,59±3,59 ^A	0,72±0,14
		Daldırarak	140,49±0,64 ^B	<LOD
	Dondurma	Buharda haşlama	188,87±10,44 ^A	<LOD
		Daldırarak	160,44±0,67 ^B	<LOD
	Konserveleme	Buharda haşlama	188,87±10,44 ^A	<LOD
		Daldırarak	160,44±0,67 ^B	<LOD
4.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	192,15±0,82 ^A	<LOD
		Daldırarak	137,85±0,51 ^B	<LOD
	Dondurma	Buharda haşlama	186,49±2,63 ^A	<LOD
		Daldırarak	158,95±2,64 ^B	<LOD
	Konserveleme	Buharda haşlama	186,30±1,10 ^A	<LOD
		Daldırarak	157,19±3,83 ^B	<LOD
8.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	181,18±0,49 ^A	0,22±0,01
		Daldırarak	133,49±2,02 ^B	<LOD
	Dondurma	Buharda haşlama	187,59±2,18 ^A	<LOD
		Daldırarak	150,35±0,16 ^B	<LOD
		Buharda haşlama	169,85±0,50 ^A	<LOD

	Konserveleme	Daldırarak	137,38±1,73 ^B	<LOD
12.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	173,56±0,92 ^A	<LOD
		Daldırarak	131,04±1,40 ^B	<LOD
	Dondurma	Buharda haşlama	181,13±1,25 ^A	<LOD
		Daldırarak	137,45±0,78 ^B	<LOD
	Konserveleme	Buharda haşlama	157,34±0,94 ^A	<LOD
		Daldırarak	119,78±1,35 ^B	<LOD

*Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

**Aynı son işleme tabi tutulmuş, aynı süre depolanmış örneklerden farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P<0,05$).

***Nitrit LOD değeri 0,002mg/kg'dır.

Çizelge 4.16'da 1. Yıl 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinde buharda ve daldırarak haşlama ön işlem verilerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları verilmiştir. 1. Yıl, 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örnekleri için; daldırarak haşlanmış örneklerin nitrat değerleri buharda haşlanmış olanlara kıyasla genellikle daha düşük olmasına rağmen; buharda haşlama ve daldırarak haşlama işlemleri arasında istatistiksel olarak fark tespit edilmemiştir ($P>0,05$).

Çizelge 4.16. 1. Yıl, 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin, haşlama ön işlemi verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları

DEPOLAMA	SON İŞLEM	ÖN İŞLEM	NİTRAT	NİTRİT
0.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	286,00±13,61 ^A	0,78±0,04
		Daldırarak	277,57±4,78 ^A	<LOD
	Dondurma	Buharda haşlama	284,73±21,06 ^A	<LOD
		Daldırarak	282,31±16,01 ^A	<LOD
	Konserveleme	Buharda haşlama	284,73±21,06 ^A	<LOD
		Daldırarak	282,31±16,01 ^A	<LOD
4.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	271,69±14,99 ^A	0,61±0,02
		Daldırarak	263,24±10,24 ^A	0,31±0,05
	Dondurma	Buharda haşlama	283,21±5,77 ^A	<LOD
		Daldırarak	280,53±25,32 ^A	<LOD
	Konserveleme	Buharda haşlama	205,70±2,40 ^A	<LOD
		Daldırarak	191,02±14,63 ^A	<LOD
8.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	253,16±11,00 ^A	0,57±0,02
		Daldırarak	250,94±13,85 ^A	0,24±0,01
	Dondurma	Buharda haşlama	280,43±0,06 ^A	0,25±0,00
		Daldırarak	310,73±14,44 ^A	<LOD
		Buharda haşlama	189,21±3,36 ^A	<LOD

	Konserveleme	Daldırarak	171,41±14,90 ^A	<LOD
12.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	257,91±9,66 ^A	0,52±0,01
		Daldırarak	261,17±9,61 ^A	0,21±0,01
	Dondurma	Buharda haşlama	265,42±5,86 ^A	0,21±0,01
		Daldırarak	253,65±9,89 ^A	<LOD
	Konserveleme	Buharda haşlama	144,17±5,61 ^A	<LOD
		Daldırarak	171,99±14,12 ^A	<LOD

*Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

**Aynı son işleme tabi tutulmuş, aynı süre depolanmış örneklerden farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır (P<0,05).

***Nitrit LOD değeri 0,002mg/kg'dır.

Çizelge 4.17'de 2. Yıl 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinde buharda ve daldırarak haşlama ön işlem verilerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları verilmiştir. 2. Yıl, 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinde, 4. ay kurutulan örnekler dışında, buharda haşlama ve daldırarak haşlama işlemleri arasında istatistiksel olarak fark tespit edilmiştir (P<0,05).

Çizelge 4.17. 2. Yıl, 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin, haşlama ön işlemi verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları

DEPOLAMA	SON İŞLEM	ÖN İŞLEM	NİTRAT	NİTRİT
0.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	324,78±5,73 ^A	0,79±0,02
		Daldırarak	290,61±13,93 ^B	0,40±0,00
	Dondurma	Buharda haşlama	281,02±0,58 ^A	<LOD
		Daldırarak	261,70±1,09 ^B	<LOD
	Konserveleme	Buharda haşlama	281,02±0,58 ^A	<LOD
		Daldırarak	261,70±1,09 ^B	<LOD
4.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	294,48±9,16 ^A	0,51±0,04
		Daldırarak	285,32±1,10 ^A	<LOD
	Dondurma	Buharda haşlama	342,62±2,52 ^A	0,41±0,04
		Daldırarak	315,99±0,09 ^B	<LOD
	Konserveleme	Buharda haşlama	255,56±7,83 ^B	<LOD
		Daldırarak	321,16±0,47 ^A	<LOD
8.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	302,22±2,59 ^A	0,50±0,03
		Daldırarak	287,21±1,40 ^B	0,31±0,00
	Dondurma	Buharda haşlama	335,49±0,83 ^A	<LOD
		Daldırarak	291,24±1,74 ^B	<LOD
	Konserveleme	Buharda haşlama	259,83±13,34 ^B	<LOD
		Daldırarak	289,57±1,17 ^A	<LOD
12.Ay	Kurutma	Buharda haşlama	300,19±1,75 ^A	0,47±0,01
		Daldırarak	284,39±0,96 ^B	0,21±0,01

	Dondurma	Buharda haşlama	334,89±0,10 ^A	<LOD
		Daldırarak	279,93±2,49 ^B	<LOD
	Konserveleme	Buharda haşlama	247,79±0,65 ^B	<LOD
		Daldırarak	279,87±0,19 ^A	<LOD

*Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

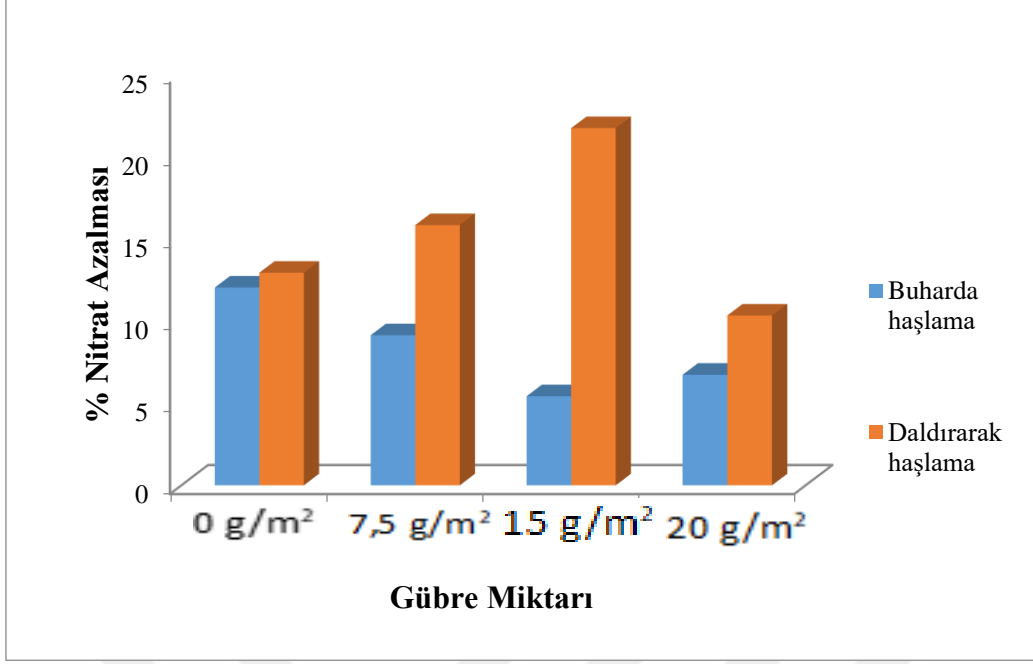
**Aynı son işleme tabi tutulmuş, aynı süre depolanmış örneklerden farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P<0,05$).

***Nitrit LOD değeri 0,002mg/kg'dır.

İki haşlama işleminden sonra da ölçülen nitrat değerlerinin, taze ıspanak nitrat değerlerinden daha düşük olduğu saptanmıştır. Hem buharda haşlama işlemi hem de daldırarak haşlama işlemleri sonucunda ıspanaklardaki nitrat miktarları azalmıştır.

Genel olarak, gerek buharda haşlama, gerekse daldırarak haşlama işleminin ıspanaklardaki nitrat miktarını azalttığı saptanmıştır. Buharda haşlanan ıspanaklarda 1. Yılda 0; 7,5; 15 ve 20 g/m² gübreleme miktarlarına göre sırasıyla; %12,71; 8,89; 1,37 ve 7,68 oranlarında nitrat miktarında azalma olmuştur. 2. Yılda ise buharda haşlanan ıspanaklardaki düşme oranları yine gübreleme oranlarına göre sırasıyla %11,42; 9,31; 9,42 ve 5,65 olmuştur. Daldırarak haşlanan ıspanaklarda sırasıyla; 1. Yılda ekilenlerde %6,68; 16,96; 20,34 ve 8,47 oranlarında nitrat miktarında azalma olmuştur. 2. Yılda ekilen ıspanaklardaki azalmalar ise sırasıyla %19,21; 14,66; 23,05 ve 12,14 olarak belirlenmiştir. Daldırarak haşlama işlemi, buharda haşlama işlemine kıyasla genel olarak daha fazla nitrat miktarında azalmaya yol açmıştır. Bunun nedeni daldırarak haşlama işlemi sırasında, nitratın suya geçmesi olabilir. Nitrat ve nitrit suda çözünen bileşikler olduğundan haşlama işlemi ile bu bileşiklerin haşlama suyuna geçmesi söz konusudur (Huarte-Mendicoa vd. 1997). Ezeagu and Fafunso (1995) yeşil yapraklı sebzelerin pişirme ve haşlama işleminin nitrat ve nitrit seviyesine etkisini konu alan çalışmalarında; pişirme ve haşlama ile sebzelerin nitrat seviyesinin azaldığını belirtmişlerdir.

1. Yıl ve 2. Yıl buharda ve daldırarak haşlama nitrat verilerinin ortalamaları alınarak elde edilen % nitrat azalması sonuçları Şekil 4.2.'de verilmiştir. Daldırarak haşlama işleminin buharda haşlama işlemine kıyasla nitrat miktarlarında daha fazla azalmaya sebep olduğu gözlenmektedir.



Şekil 4.2. Buharda ve daldırarak haşlama işlemleri sonrası nitrat miktarlarındaki % nitrat azalması grafiği

Sistrunk (1980) tarafından yapılan çalışmada; ıspanağa 85°C’de 5 dakika buhar uygulaması ile nitrat içeriğinin ortalama %13,8 oranında azaldığı, aynı sıcaklık derecesindeki sıcak suda haşlama ile nitrat içeriğinin ortalama %25 oranında azaldığını bulmuştur. Bu çalışmaya göre de daldırarak haşlama ile nitrat miktarındaki düşüş buharda haşlamaya kıyasla daha fazla olmuştur.

Ayaz ve Yurttagül (2013), ön haşlama işlemine (95 °C’de 120 saniye) tabi tuttukları ıspanakların nitrat miktarında %34,9 oranında azalma saptamışlarken; bu çalışmada buharda haşlanan ıspanaklarda 1. Yılda ortalama %7,66; 2. Yılda ortalama %8,95 ve daldırarak haşlananlarda 1. Yılda ortalama % 13,16; 2. Yılda ortalama % 17,26 oranında nitrat miktarında azalma saptanmıştır. Bu araştırma sonuçlarına benzer olarak Jaworska vd. (2001) yaptıkları çalışmada ıspanakların haşlanması ile %11 ila %20 oranında nitrat miktarında azalma tespit etmişlerdir.

Sebzelerde haşlama işleminin yapılması nitrat konsantrasyonunun azaltılması için uygun bir yöntemdir. Nitrat gibi iyonik bileşikler 57°C’nin üzerindeki sıcaklıklarda suya geçmektedir. Daha düşük sıcaklıklarda ise hücre membranlarının geçirgenliği bu bileşiklerin suya geçişini azaltmaktadır. Yüksek sıcaklıklarda ise (80-90°C) geçiş artmaktadır (Gaiser vd., 1996). Aoun vd. (2018) yaptıkları bir çalışmada, nitrati azalışının haşlama sıcaklığına bağlı

olduğu ve 80°C’de yapılan haşlama işleminin 60°C’de yapılan haşlama işleminde 3 kat daha fazla nitrat uzaklaştırmak için etkili olduğunu söylemişlerdir. Ayrıca haşlama suresinin de nitrat kaybı üzerine etkisi olduğunu belirtmişlerdir.

Soğukta ve dondurarak saklama, konserve ederek ya da kurutarak saklamada genellikle uygulanan ön işlem haşlama işlemidir (Cemeroğlu, 2007). Sebzelerde haşlama işleminin yapılması nitrat konsantrasyonunun azaltılması için uygun bir yöntemdir. Nitrat redüktaz aktivitesinin haşlama sırasında sıcaklığın etkisiyle azalmasıyla, nitratın nitrite dönüşümü de azalmaktadır (Bosch vd., 1995).

Lisiewska ve Kmiecik (1997) haşlama işlemi ile maydanozun nitrat miktarında %22-33, nitrit miktarında ise %43-55 oranında azalma tespit etmişlerdir. Yine aynı araştırmacılar 1999 yılındaki çalışmalarında taze soğanda n haşlama işlemi ile nitrat miktarında %26 oranında azalma belirlerken nitrit miktarının 3 katına çıktığını tespit etmişlerdir. Lisiewska ve Kmiecik (1997)’ın yaptığı çalışmadan farklı olarak, bu çalışmada ıspanaklardaki nitrat miktarlarındaki azalma %1,37 ila %23,35 arasında tespit edilmiştir.

Shimada ve Ko (2004) tahtsai, ıspanak, cningentsai ve pakchoi ile yaptıkları bir çalışmada; sebzeleri kaynatarak içindeki nitrat miktarlarını saptamışlardır. 3 dakika boyunca kaynatma ve 2 dakikalık daldırma işlemi sonucu örneklerin nitrat miktarının %41 ve %79 arasında azaldığını saptamışlardır.

Nejatzadeh-Barandozi ve Gholami-Borujeni (2019), pırasa ve ıspanak ile yaptıkları çalışmada, kaynatmanın etkisini incelemişlerdir. Sebzeleri kaynayan distile suda 1/1 (ağırlık/ağırlık) oranında 10-15 dakika boyunca pişirmişlerdir. Kaynatma işlemi sonucunda, ıspanakta nitrat miktarı %61, pırasada ise %23 oranında azalmıştır. Nitrit miktarı ise ıspanakta %29,9 ve pırasada %4 azalmıştır. Yaptıkları t testi sonucunda örneklerin %75’i için nitrat miktarındaki azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu ($P<0,0001$) bulunmuştur. Sebzelerdeki nitrat azalmasına karşılık haşlama suyundaki nitrat miktarının arttığını saptamışlardır.

Kmiecik vd. 2004 yılında dereotu ile yaptıkları bir araştırmaya göre; haşlama işleminin numunedeki nitrat, nitrit ve oksalat içeriğini azaltmada etkili olduğunu belirtmişlerdir.

Jaworska (2005b), iki ıspanak çeşidiyle yaptığı çalışmada ıspanakları dondurmuş ve konservelemiştir. Dondurma ve konserveleme işlemlerinden önce örnekleri haşlamıştır.

Dondurulacak ıspanaklar 4 dakika boyunca kaynayan suda su:sebze oranı 2:1 olacak şekilde pişirilmiş; konservelenecek olanlar ise 96-98⁰C'de minimum 2 dakika boyunca 5:1 su:sebze oranıyla haşlamıştır. Bu işlemlerin ıspanaklardaki nitrit miktarı dışında; nitrat ve oksalat miktarı üzerine önemli derecede etkisi olmuş ve belirgin bir düşüş meydana gelmiştir. Özellikle 2 dakikalık haşlama işleminin sonucunda saptanan azalma miktarının daha fazla olarak belirlenmiştir. 2 dakikalık haşlama işlemi sonrasında haşlanan ıspanakların tazelerinden %23-36 oranında daha az nitrat içerdiği; pişirme işleminden sonra ise %26-45 oranında bulunmuştur. Bu çalışmada da Jaworska (2005b) sonuçlarına benzer olarak daldırarak haşlanan ıspanaklarda nitrat miktarında azalma 1. Yıl ortalama %13,16; 2. Yıl ortalama %17,26 olurken; buharda haşlananlarda ise daha düşük olup 1. Yılda ortalama %7,66; 2. Yılda %8,95 olarak tespit edilmiştir.

Prasad ve Chetty (2008), yapraklı sebzelerle yaptıkları bir çalışmada, sebzeleri 10 dakika boyunca haşlamışlardır. Nitrat azotu çözünebilir olduğundan ve pişirme suyuna geçtiğinden; nitrat azotu miktarının kaynatma ile azaldığını tespit etmişlerdir. En yüksek miktarda nitrat azotu kaybı %59,14 ile kerevizde, ardından Çin lahanasında %56,04; marulda %49,66 ve İngiliz lahanasında %46,69 olarak bulunmuştur.

Chung vd. (2001) ıspanakların 1 dakika boyunca kaynayan suda haşlanması ile %12 ve 3 dakika boyunca kaynayan suda haşlanması ile %25 oranında nitrat miktarında azalma saptamışlardır. 10 dakikalık haşlama ile ise bu oranı %47 olarak tespit etmişlerdir. Ancak bu kadar uzun süre haşlamanın sebzelerin orijinal tekstürünü kaybetmesine ve aşırı yumuşamasına yol açtığını belirtmişlerdir. Bu çalışmada Chung vd. (2001)'nin haşlama yöntemine benzer olarak daldırarak haşlama işlemindeki azalma oranı bu sonuçlar ile paralellik göstermektedir.

Sezgin (2014), ıspanak, pazı yaprağı, brokoli ve lahana ile yaptığı çalışmada, örnekleri kaynayan saf suda 3,5-5 dakika boyunca haşlamış; ardından süzmüş ve yaklaşık 2 dakika bekletilerek soğutmuştur. Yapılan analizler sonucunda sebzelerin nitrat içeriklerinin haşlama işlemi sonrasında ortalama %49,45 oranında azaldığı ve bu düşüşün istatistiksel olarak önemli olduğunu ($P<0,01$) saptamıştır.

Keshavarz vd. (2015) evde pişirme metodu uyguladıkları ıspanakların nitrit ve nitrat miktarlarını tespit etmişlerdir. Ispanaklar kesilmiş, yıkanmış, süzölmüş ve ardından kapalı bir kaptaki tüm suyu buharlaşana kadar yaklaşık 40 dakika pişirilmiştir. Yapılan analizler sonrasında pişmiş ıspanakta nitrat miktarının %121 oranında arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak önemli

(P=0,012) olduğunu bulmuşlardır. Yaptıkları çalışmada, nitratin bu denli artmasını, pişirme işlemine su ilavesi yapmadıkları ve ıspanağın kendi suyu uçana kadar işleme devam ettikleri; yani haşlama suyu atılması gibi bir durum olamamasına bağlamışlardır. Yani suda çözünen nitratin muhtemelen ıspanak içinde kalıp yoğunlaştığını düşünmüşlerdir. Haşlama şekline, pişirme süresine ve sebze çeşidine bağlı olarak, nitrat ve nitrit değişimlerinin farklı olduğunu söylemişlerdir. Pişmiş ıspanakta nitrit miktarı da %12 oranında azalmıştır fakat bu düşüş istatistiksel olarak önemli olarak bulunmamıştır.

4.2.3. Son İşlemlerin Ispanak Numunelerinin Nitrat ve Nitrit Düzeylerine Etkisi

Haşlama işleminden sonra ıspanaklar, 3 farklı işleme tabi tutulmuşlardır. Bunlar kurutma, dondurma ve konservelemedir. Kurutma işlemi ev tipi fırında, 180°C’de, fırın tepsilerinde; dondurma işlemi, polimerik plastik poşetlere doldurulup, ev tipi derin dondurucuda <-18°C’de ve konserveleme işlemi ise cam kavanozlarda, üzerlerine %0,5 tuz içeren salamura ilave edilerek gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 4.18’de 1. Yıl 0 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinde kurutma, dondurma ve konserveleme verilerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.18. 1. Yıl, 0 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin son işlem verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları

ÖN İŞLEM	DEPOLAMA (ay)	SON İŞLEM	NİTRAT (mg/kg)	NİTRİT (mg/kg)
		Kurutma	67,10±5,60 ^A	<LOD

Buharda Haşlama	0. Ay	Dondurma	62,89±2,28 ^A	<LOD
		Konserveleme	62,89±2,28 ^A	<LOD
	4. Ay	Kurutma	64,43±3,62 ^A	0,50±0,03
		Dondurma	66,80±9,54 ^A	<LOD
		Konserveleme	45,49±7,42 ^B	<LOD
	8. Ay	Kurutma	70,77±8,81 ^A	<LOD
		Dondurma	61,61±0,50 ^A	<LOD
		Konserveleme	40,81±0,83 ^B	<LOD
	12. Ay	Kurutma	45,50±6,42 ^A	<LOD
		Dondurma	49,58±10,75 ^A	<LOD
		Konserveleme	52,22±1,58 ^A	<LOD
	Daldırarak Haşlama	0. Ay	Kurutma	67,40±9,04 ^A
Dondurma			57,28±11,22 ^A	<LOD
Konserveleme			57,28±11,22 ^A	<LOD
4. Ay		Kurutma	62,13±2,59 ^A	<LOD
		Dondurma	56,86±4,34 ^A	<LOD
		Konserveleme	41,23±0,94 ^B	<LOD
8. Ay		Kurutma	61,11±1,21 ^A	<LOD
		Dondurma	47,62±3,98 ^B	<LOD
		Konserveleme	32,88±5,66 ^C	<LOD
12. Ay		Kurutma	72,48±2,56 ^A	<LOD
		Dondurma	45,50±6,42 ^B	<LOD
		Konserveleme	35,30±0,27 ^B	<LOD

*Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

**Aynı ön işleme tabi tutulmuş, aynı süre depolanmış örneklerden farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P < 0,05$).

***Nitrit LOD değeri 0,002mg/kg'dır.

1. Yılda 0 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinden sadece buharda haşlanmış 0 ve 12. ay ile daldırarak haşlanmış 0. ay depolama sonuçlarında, son işlemler birbirlerinden istatistiki olarak farklı çıkmamıştır ($P > 0,05$).

1. Yılda 0 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma sonuçlarına göre en düşük nitrat içeriğine sahip örnekler, konservelenmiş ıspanak örnekleri olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.19'da 2. Yıl 0 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinde kurutma, dondurma ve konserveleme verilerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları verilmiştir.



Çizelge 4.19. 2. Yıl, 0 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin son işlem verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları

ÖN İŞLEM	DEPOLAMA (ay)	SON İŞLEM	NİTRAT (mg/kg)	NİTRİT (mg/kg)
	0. Ay	Kurutma	79,49±1,76 ^A	<LOD
		Dondurma	75,69±7,38 ^A	<LOD

Buharda Haşlama	4. Ay	Konserveleme	75,69±7,38 ^A	<LOD
		Kurutma	75,38±0,15 ^A	<LOD
		Dondurma	74,16±1,78 ^A	<LOD
	8. Ay	Konserveleme	73,75±0,34 ^A	<LOD
		Kurutma	70,54±0,31 ^A	<LOD
		Dondurma	70,24±0,25 ^A	<LOD
	12. Ay	Konserveleme	60,65±0,35 ^B	<LOD
		Kurutma	59,37±0,14 ^B	<LOD
		Dondurma	69,91±0,47 ^A	<LOD
Daldırarak Haşlama	0. Ay	Konserveleme	51,82±0,51 ^C	<LOD
		Kurutma	65,70±1,59 ^A	0,34±0,02
		Dondurma	69,03±4,10 ^A	<LOD
	4. Ay	Konserveleme	69,03±4,10 ^A	<LOD
		Kurutma	62,48±1,11 ^B	<LOD
		Dondurma	69,40±0,05 ^A	<LOD
	8. Ay	Konserveleme	65,28±4,53 ^{AB}	<LOD
		Kurutma	71,44±1,53 ^A	0,28±0,00
		Dondurma	62,31±1,98 ^B	<LOD
	12. Ay	Konserveleme	57,53±0,69 ^B	<LOD
		Kurutma	78,58±0,97 ^A	<LOD
		Dondurma	55,03±1,41 ^B	<LOD
		Konserveleme	53,78±1,58 ^B	<LOD

*Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

**Aynı ön işleme tabi tutulmuş, aynı süre depolanmış örneklerden farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistik olarak birbirinden farklıdır ($P<0,05$).

***Nitrit LOD değeri 0,002mg/kg'dır.

2. Yılda 0 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinden buharda haşlanmış örneklerin 0 ve 4. ay depolama sonuçları ile daldırarak haşlanmış örneklerin 0. ay depolama sonuçlarında son işlemler arasında istatistik olarak fark çıkmamıştır ($P>0,05$).

2. Yılda 0 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma sonuçlarına göre en düşük nitrat içeriğine sahip örnekler, konservenmiş ıspanak örnekleri olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.20'de 1. Yıl 7,5 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinde kurutma, dondurma ve konserveleme verilerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları verilmiştir.



Çizelge 4.20. 1. Yıl, 7,5 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin son işlem verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları

ÖN İŞLEM	DEPOLAMA (ay)	SON İŞLEM	NİTRAT (mg/kg)	NİTRİT (mg/kg)
Buharda Haşlama	0. Ay	Kurutma	144,87±15,40 ^A	<LOD
		Dondurma	150,71±11,75 ^A	<LOD
		Konserveleme	150,71±11,75 ^A	<LOD
	4. Ay	Kurutma	154,13±11,95 ^A	<LOD
		Dondurma	158,26±11,01 ^A	<LOD

	8. Ay	Konserveleme	131,71±14,45 ^B	<LOD	
		Kurutma	145,96±7,40 ^A	<LOD	
		Dondurma	151,01±13,66 ^A	<LOD	
	12. Ay	Konserveleme	155,68±7,40 ^A	<LOD	
		Kurutma	124,79±4,55 ^A	<LOD	
		Dondurma	135,90±6,51 ^A	<LOD	
	Daldırarak Haşlama	0. Ay	Konserveleme	135,54±6,65 ^A	<LOD
			Kurutma	132,93±3,59 ^A	<LOD
			Dondurma	137,37±3,02 ^A	<LOD
4. Ay		Konserveleme	137,37±3,02 ^A	<LOD	
		Kurutma	155,67±21,30 ^A	<LOD	
		Dondurma	132,84±2,97 ^B	<LOD	
8. Ay		Konserveleme	115,44±6,44 ^B	<LOD	
		Kurutma	164,50±8,26 ^A	<LOD	
		Dondurma	128,45±11,02 ^B	<LOD	
12. Ay	Konserveleme	104,30±5,20 ^C	<LOD		
	Kurutma	141,75±13,79 ^A	<LOD		
	Dondurma	106,51±7,41 ^B	<LOD		
		Konserveleme	84,15±3,51 ^C	<LOD	

*Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

**Aynı ön işleme tabii tutulmuş, aynı süre depolanmış örneklerden farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P < 0,05$).

***Nitrit LOD değeri 0,002mg/kg'dır.

1. Yılda 7,5 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanaklarda, buharda haşlanan 0, 8 ve 12. ay örnekler ile daldırarak haşlanan 0. ay örneklerin depolama sonuçlarında işlemler arasında istatistiki olarak fark çıkmamıştır ($P > 0,05$).

1. Yılda 7,5 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma sonuçlarına göre en düşük nitrat içeriğine sahip örnekler, konservenmiş ıspanak örnekleri olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.21'de 2. Yıl 7,5 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinde kurutma, dondurma ve konserveleme verilerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları verilmiştir.



Çizelge 4.21. 2. Yıl, 7,5 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin son işlem verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları

ÖN İŞLEM	DEPOLAMA (ay)	SON İŞLEM	NİTRAT (mg/kg)	NİTRİT (mg/kg)
Buharda Haşlama	0. Ay	Kurutma	106,35±6,33 ^A	0,80±0,01
		Dondurma	111,62±7,18 ^A	<LOD
		Konserveleme	111,62±7,18 ^A	<LOD
	4. Ay	Kurutma	103,11±1,55 ^A	0,46±0,03
		Dondurma	110,20±2,20 ^A	0,41±0,04

	8. Ay	Konserveleme	105,27±0,22 ^A	0,22±0,01	
		Kurutma	97,31±1,43 ^B	0,40±0,00	
		Dondurma	105,91±0,48 ^A	0,29±0,00	
	12. Ay	Konserveleme	99,75±0,09 ^{AB}	<LOD	
		Kurutma	91,99±0,02 ^B	<LOD	
		Dondurma	108,55±1,63 ^A	<LOD	
	Daldırarak Haşlama	0. Ay	Kurutma	99,70±3,11 ^A	0,87±0,14
			Dondurma	105,04±7,06 ^A	0,38±0,02
			Konserveleme	105,04±7,06 ^A	0,38±0,02
4. Ay		Kurutma	98,43±0,75 ^A	0,27±0,03	
		Dondurma	103,18±4,21 ^A	<LOD	
		Konserveleme	102,65±2,91 ^A	<LOD	
8. Ay		Kurutma	93,24±1,08 ^{AB}	<LOD	
		Dondurma	98,53±0,73 ^A	<LOD	
		Konserveleme	89,29±1,56 ^B	<LOD	
12. Ay		Kurutma	91,98±2,76 ^A	<LOD	
		Dondurma	97,71±0,32 ^A	<LOD	
		Konserveleme	82,80±1,03 ^B	<LOD	

*Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

**Aynı ön işleme tabi tutulmuş, aynı süre depolanmış örneklerden farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P < 0,05$).

***Nitrit LOD değeri 0,002mg/kg'dır.

2. Yılda 7,5 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanaklarda, hem buharda haşlanmış ıspanakların hem de daldırarak haşlanmış ıspanakların 0. ve 4. ay nitrat sonuçlarında son işlemler arasında istatistiki olarak fark çıkmamıştır ($P > 0,05$).

2. Yılda 7,5 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma sonuçlarına göre genel olarak en düşük nitrat içeriğine sahip örnekler, konservelenmiş ıspanak örnekleri olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.22’de 1. Yıl 15 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinde kurutma, dondurma ve konserveleme verilerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları verilmiştir.



Çizelge 4.22. 1. Yıl, 15 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin son işlem verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları

ÖN İŞLEM	DEPOLAMA (ay)	SON İŞLEM	NİTRAT (mg/kg)	NİTRİT (mg/kg)
Buharda Haşlama	0. Ay	Kurutma	208,26±5,20 ^A	<LOD
		Dondurma	200,63±17,01 ^A	<LOD
		Konserveleme	200,63±17,01 ^A	<LOD
	4. Ay	Kurutma	224,95±5,86 ^A	<LOD
		Dondurma	191,09±13,88 ^B	0,30±0,00

	8. Ay	Konserveleme	161,13±1,24 ^C	<LOD	
		Kurutma	201,81±1,96 ^A	0,26±0,01	
		Dondurma	201,40±0,04 ^A	<LOD	
	12. Ay	Konserveleme	147,99±8,86 ^B	<LOD	
		Kurutma	184,90±5,67 ^B	<LOD	
		Dondurma	206,87±8,17 ^A	<LOD	
	Daldırarak Haşlama	0. Ay	Konserveleme	126,34±8,40 ^C	<LOD
			Kurutma	162,04±2,81 ^A	<LOD
			Dondurma	156,36±2,13 ^A	<LOD
4. Ay		Konserveleme	156,36±2,13 ^A	<LOD	
		Kurutma	176,02±7,47 ^{AB}	<LOD	
		Dondurma	161,57±1,88 ^B	<LOD	
8. Ay		Konserveleme	181,50±14,25 ^A	<LOD	
		Kurutma	146,20±7,21 ^A	<LOD	
		Dondurma	149,79±13,13 ^A	<LOD	
12. Ay	Konserveleme	148,57±11,70 ^A	<LOD		
	Kurutma	151,00±3,20 ^A	<LOD		
	Dondurma	135,77±7,32 ^A	<LOD		
		Konserveleme	137,16±9,78 ^A	<LOD	

*Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

**Aynı ön işleme tabi tutulmuş, aynı süre depolanmış örneklerden farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P < 0,05$).

***Nitrit LOD değeri 0,002mg/kg'dır.

1. Yılda 15 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinden buharda haşlanmış olanların 0. ay ile daldırarak haşlanmış olanların 0, 8 ve 12. ay depolama sonuçlarında işlemler arasında istatistiki olarak fark tespit edilmemiştir ($P > 0,05$).

1. Yılda 15 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma sonuçlarına göre buharda haşlanmış örneklerde en düşük nitrat içeriğine sahip örnekler, konservelenmiş ıspanak örnekleri olarak belirlenirken; daldırarak haşlananlarda dondurulan örneklerde daha düşük nitrat miktarı saptanmıştır.

Çizelge 4.23'te 2. Yıl 15 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinde kurutma, dondurma ve konserveleme verilerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları verilmiştir.



Çizelge 4.23. 2. Yıl, 15 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin son işlem verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları

ÖN İŞLEM	DEPOLAMA (ay)	SON İŞLEM	NİTRAT (mg/kg)	NİTRİT (mg/kg)
Buharda Haşlama	0. Ay	Kurutma	188,59±3,59 ^A	0,72±0,14
		Dondurma	188,87±10,44 ^A	<LOD
		Konserveleme	188,87±10,44 ^A	<LOD
	4. Ay	Kurutma	192,15±0,82 ^A	<LOD
		Dondurma	186,49±2,63 ^A	<LOD
		Konserveleme	186,30±1,10 ^A	<LOD
			Kurutma	181,18±0,49 ^A

	8. Ay	Dondurma	187,59±2,18 ^A	<LOD
		Konserveleme	169,85±0,50 ^B	<LOD
	12. Ay	Kurutma	173,56±0,92 ^B	<LOD
		Dondurma	181,13±1,25 ^A	<LOD
		Konserveleme	157,34±0,94 ^C	<LOD
	Daldırarak Haşlama	0. Ay	Kurutma	140,49±0,64 ^B
Dondurma			160,44±0,67 ^A	<LOD
Konserveleme			160,44±0,67 ^A	<LOD
4. Ay		Kurutma	137,85±0,51 ^B	<LOD
		Dondurma	158,95±2,64 ^A	<LOD
		Konserveleme	157,19±3,83 ^A	<LOD
8. Ay		Kurutma	133,49±2,02 ^B	<LOD
		Dondurma	150,35±0,16 ^A	<LOD
		Konserveleme	137,38±1,73 ^B	<LOD
12. Ay		Kurutma	131,04±1,40 ^A	<LOD
		Dondurma	137,45±0,78 ^A	<LOD
		Konserveleme	119,78±1,35 ^B	<LOD

*Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

**Aynı ön işleme tabi tutulmuş, aynı süre depolanmış örneklerden farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P < 0,05$).

***Nitrit LOD değeri 0,002mg/kg'dır.

2. Yılda 15 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinden, buharda haşlanmış olanların 0 ve 4. ay depolama sonuçlarında işlemler arasında istatistiki olarak fark tespit edilmemiştir ($P > 0,05$).

2. Yılda 15 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma sonuçlarına göre genel olarak en düşük nitrat içeriğine sahip örnekler, konservenmiş ıspanak örnekleri olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.24'te 1. Yıl 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinde kurutma, dondurma ve konserveleme verilerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.24. 1. Yıl, 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin son işlem verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları

ÖN İŞLEM	DEPOLAMA (ay)	SON İŞLEM	NİTRAT (mg/kg)	NİTRİT (mg/kg)
Buharda Haşlama	0. Ay	Kurutma	286,00±13,61 ^A	0,78±0,04
		Dondurma	284,73±21,06 ^A	<LOD
		Konserveleme	284,73±21,06 ^A	<LOD
	4. Ay	Kurutma	271,69±14,99 ^A	0,61±0,02
		Dondurma	283,21±5,77 ^A	<LOD
		Konserveleme	205,70±2,40 ^B	<LOD
	8. Ay	Kurutma	253,16±11,00 ^B	0,57±0,02
		Dondurma	280,43±0,06 ^A	0,25±0,00
		Konserveleme	189,21±3,36 ^C	<LOD
	12. Ay	Kurutma	257,91±9,66 ^A	0,52±0,01
		Dondurma	265,42±5,86 ^A	0,21±0,01

		Konserveleme	144,17±5,61 ^B	<LOD
Daldırarak Haşlama	0. Ay	Kurutma	277,57±4,78 ^A	<LOD
		Dondurma	282,31±16,01 ^A	<LOD
		Konserveleme	282,31±16,01 ^A	<LOD
	4. Ay	Kurutma	263,24±10,24 ^A	0,31±0,05
		Dondurma	280,53±25,32 ^A	<LOD
		Konserveleme	191,02±14,63 ^B	<LOD
	8. Ay	Kurutma	250,94±13,85 ^B	0,24±0,01
		Dondurma	310,73±14,44 ^A	<LOD
		Konserveleme	171,41±14,90 ^C	<LOD
	12. Ay	Kurutma	261,17±9,61 ^A	0,21±0,01
		Dondurma	253,65±9,89 ^A	<LOD
		Konserveleme	171,99±14,12 ^B	<LOD

*Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

**Aynı ön işleme tabi tutulmuş, aynı süre depolanmış örneklerden farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P < 0,05$).

***Nitrit LOD değeri 0,002mg/kg'dır.

1. Yılda 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin hem buharda haşlanmış olanların hem de daldırarak haşlanmış olanların 0. ay depolama sonuçlarında işlemler arasında istatistiki olarak fark tespit edilmemiştir ($P > 0,05$).

1. Yılda 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma sonuçlarına göre genel olarak en düşük nitrat içeriğine sahip örnekler, konservenmiş ıspanak örnekleri olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.25'te 2. Yıl 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinde kurutma, dondurma ve konserveleme verilerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.25. 2. Yıl, 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin son işlem verileri için Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları

ÖN İŞLEM	DEPOLAMA (ay)	SON İŞLEM	NİTRAT (mg/kg)	NİTRİT (mg/kg)
Buharda Haşlama	0. Ay	Kurutma	324,78±5,73 ^A	0,79±0,02
		Dondurma	281,02±0,58 ^B	<LOD
		Konserveleme	281,02±0,58 ^B	<LOD
	4. Ay	Kurutma	294,48±9,16 ^B	0,51±0,04
		Dondurma	342,62±2,52 ^A	0,41±0,04
		Konserveleme	255,56±7,83 ^C	<LOD
	8. Ay	Kurutma	302,22±2,59 ^B	0,50±0,03
		Dondurma	335,49±0,83 ^A	<LOD
		Konserveleme	259,83±13,34 ^C	<LOD
	12. Ay	Kurutma	300,19±1,75 ^B	0,47±0,01
		Dondurma	334,89±0,10 ^A	<LOD

		Konserveleme	247,79±0,65 ^C	<LOD
Daldırarak Haşlama	0. Ay	Kurutma	290,61±13,93 ^A	<LOD
		Dondurma	261,70±1,09 ^B	<LOD
		Konserveleme	261,70±1,09 ^B	<LOD
	4. Ay	Kurutma	285,32±1,10 ^B	<LOD
		Dondurma	315,99±0,09 ^A	<LOD
		Konserveleme	321,16±0,47 ^A	<LOD
	8. Ay	Kurutma	287,21±1,40 ^A	<LOD
		Dondurma	291,24±1,74 ^A	<LOD
		Konserveleme	289,57±1,17 ^A	<LOD
	12. Ay	Kurutma	284,39±0,96 ^A	<LOD
		Dondurma	279,93±2,49 ^A	<LOD
		Konserveleme	279,87±0,19 ^A	<LOD

*Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

**Aynı ön işleme tabi tutulmuş, aynı süre depolanmış örneklerden farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P < 0,05$).

***Nitrit LOD değeri 0,002mg/kg'dır.

2. Yılda 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinden, daldırarak haşlanmış olanların 8. ay ve 12. ay depolama sonuçlarında işlemler arasında istatistiki olarak fark tespit edilmemiştir ($P > 0,05$).

2. Yılda 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma sonuçlarına göre genel olarak buharda haşlanan örneklerde en düşük nitrat içeriğine sahip örnekler, konservelenmiş ıspanak örnekleri olarak belirlenirken; daldırarak haşlananlarda son işlemler arasında genel olarak istatistiki açıdan fark çıkmamıştır ($P < 0,05$).

Son işlemler kıyaslandığında genel olarak en düşük nitrat içeriğine sahip örneklerin konservelenen ıspanak örnekleri olduğu tespit edilmiştir. Konservelenmiş ve kurutulmuş ıspanaklar ile ilgili pek fazla literatür çalışması bulunmamaktadır. Konservelenmiş gıdaların dondurulmuş olanlardan daha az nitrat ve nitrit içerdiği belirtilmektedir (Jaworska 2005).

Nitrat redüktaz aktivitesinin haşlama sırasında sıcaklığın etkisiyle azalmasıyla, nitratın nitrite dönüşümü de azalmaktadır (Bosch vd., 1995). Örneklerin hepsi haşlandığı için nitrat

redüktaz aktivitesinin inhibe olduğu ve bu yüzden de örneklerde nitrit miktarının artmadığı tespit edilmiştir.

Dereotu ile yapılan bir araştırmada haşlandıktan sonra dondurulan dereotlarının nitrat, oksalat ve nitrit miktarlarında bir değişim saptanmamıştır. Fakat haşlanmadan bütün bir şekilde dondurulan dereotlarının nitrit miktarlarının belirgin bir şekilde arttığı belirlenmiştir (Kmieciak vd., 2004).

Bednar, Kies ve Carlson (1991) yaptıkları çalışmada, evde dondurma işleminin ticari amaçlı dondurma işlemine göre ıspanakların nitrat seviyesini düşürmede daha etkili olduğunu fakat aralarında önemli bir farkın bulunmadığını belirtmişlerdir. Ayrıca evde dondurulan ıspanakların nitrat ve nitrit seviyesinin saklama süresinden etkilenmediğini tespit etmişlerdir.

Taze ve işlem görmüş meyve ve sebzeler donduruldukları zaman nitrat ve nitrat içerikleri azalabilmekte ya da değişmeden kalabilmektedir. Soğutma ve dondurma işlemi bakteriyel gelişimi ve dolayısıyla dönüşümü azaltmaktadır. Ayrıca dondurarak depolama sırasında biyokimyasal reaksiyonlar da yavaşlamakta fakat tam olarak durmamaktadır. Bilindiği gibi, nitrat ve nitrit suda çözünen bileşiklerdir ve 1 yıllık depolamada kayıplar meydana gelebileceği gibi ıspanaklar analize alınmadan önce nitrat ve nitritin bir kısmının çözünme suyuna geçtiği de düşünülmektedir.

4.2.4. Depolamanın Ispanak Örneklerinin Nitrat ve Nitrit Düzeylerine Etkisi

Ispanak örnekleri 1 yıl boyunca depolanmışlardır ve her 3 ayda bir nitrit ve nitrat analizleri yapılmıştır. Kurutulmuş ıspanaklar ev tipi buzdolabında +4°C'de 1 yıl boyunca depolanmışlardır. Dondurulmuş ıspanaklar, ev tipi derin dondurucuda <-18°C'de 1 yıl boyunca depolanmışlardır. Konservelenmiş ıspanaklar, oda sıcaklığında 1 yıl boyunca depolanmışlardır. Ispanaklarda nitrit miktarı genel olarak LOD değerinin (0,002 mg/kg) altında çıkmıştır.

Çizelge 4.26'da 1. Yıl 0 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş, ıspanak örneklerinin depolama verilerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.26. 1. Yıl, 0 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin depolama verilerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları

ÖN İŞLEM	SON İŞLEM	DEPOLAMA (ay)	NİTRAT (mg/kg)	NİTRİT (mg/kg)
Buharda Haşlama	Kurutma	0. Ay	67,10±5,60 ^A	<LOD
		4. Ay	64,43±3,62 ^A	0,50±0,03
		8. Ay	70,77±8,81 ^A	<LOD
		12. Ay	45,50±6,42 ^B	<LOD
	Dondurma	0. Ay	62,89±2,28 ^A	<LOD
		4. Ay	66,80±9,54 ^A	<LOD
		8. Ay	61,61±0,50 ^{AB}	<LOD
		12. Ay	49,58±10,75 ^B	<LOD
	Konserveleme	0. Ay	62,89±2,28 ^A	<LOD
		4. Ay	45,49±7,42 ^B	<LOD
		8. Ay	40,81±0,83 ^B	<LOD

		12. Ay	52,22±1,58 ^{AB}	<LOD
Daldırarak Haşlama	Kurutma	0. Ay	67,40±9,04 ^A	<LOD
		4. Ay	62,13±2,59 ^A	<LOD
		8. Ay	61,11±1,21 ^A	<LOD
		12. Ay	72,48±2,56 ^A	<LOD
		0. Ay	57,28±11,22 ^A	<LOD
	Dondurma	4. Ay	56,86±4,34 ^A	<LOD
		8. Ay	47,62±3,98 ^A	<LOD
		12. Ay	45,50±6,42 ^A	<LOD
		0. Ay	57,28±11,22 ^A	<LOD
	Konserveleme	4. Ay	41,23±0,94 ^B	<LOD
		8. Ay	32,88±5,66 ^B	<LOD
		12. Ay	35,30±0,27 ^B	<LOD
0. Ay		57,28±11,22 ^A	<LOD	

*Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

**Aynı ön işleme ve aynı son işleme tabii tutulmuş örneklerden farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistik olarak birbirinden farklıdır ($P < 0,05$).

***Nitrit LOD değeri 0,002mg/kg'dır.

1. Yıl 0 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinde depolama boyunca nitrat miktarlarında azalma söz konusu olmuştur. Sadece daldırarak haşlanmış ve ardından kurutulmuş örneklerin nitrat miktarlarında %7,55 oranında bir artma tespit edilmiştir. Ancak bu artışın istatistiksel olarak önemli olmadığı saptanmıştır ($P > 0,05$). Yine daldırarak haşlanıp dondurulan ıspanaklarda nitrat miktarında %20,57 oranında bir azalma saptanmasına rağmen, istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır ($P > 0,05$).

Çizelge 4.27'de 2. Yıl 0 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş, ıspanak örneklerinin depolama verilerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.27. 2. Yıl, 0 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin buharda ve daldırarak haşlandıktan sonrası kurutma, dondurma ve konserveleme sonrası depolama Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları

ÖN İŞLEM	SON İŞLEM	DEPOLAMA (ay)	NİTRAT (mg/kg)	NİTRİT (mg/kg)
Buharda Haşlama	Kurutma	0. Ay	79,49±1,76 ^A	<LOD
		4. Ay	75,38±0,15 ^{AB}	<LOD
		8. Ay	70,54±0,31 ^B	<LOD
		12. Ay	59,37±0,14 ^C	<LOD
	Dondurma	0. Ay	75,69±7,38 ^A	<LOD
		4. Ay	74,16±1,78 ^A	<LOD
		8. Ay	70,24±0,25 ^A	<LOD
		12. Ay	69,91±0,47 ^A	<LOD
	Konserveleme	0. Ay	75,69±7,38 ^A	<LOD
		4. Ay	73,75±0,34 ^A	<LOD
		8. Ay	60,65±0,35 ^B	<LOD
		12. Ay	51,82±0,51 ^C	<LOD
Daldırarak Haşlama	Kurutma	0. Ay	65,70±1,59 ^{BC}	0,34±0,02
		4. Ay	62,48±1,11 ^C	<LOD
		8. Ay	71,44±1,53 ^B	0,28±0,00

	Dondurma	12. Ay	78,58±0,97 ^A	<LOD
		0. Ay	69,03±4,10 ^A	<LOD
		4. Ay	69,40±0,05 ^A	<LOD
		8. Ay	62,31±1,98 ^B	<LOD
		12. Ay	55,03±1,41 ^C	<LOD
	Konserveleme	0. Ay	69,03±4,10 ^A	<LOD
		4. Ay	65,28±4,53 ^A	<LOD
		8. Ay	57,53±0,69 ^B	<LOD
		12. Ay	53,78±1,58 ^B	<LOD

*Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

**Aynı ön işleme ve aynı son işleme tabii tutulmuş örneklerden farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P<0,05$).

***Nitrit LOD değeri 0,002mg/kg'dır.

2. Yıl 0 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinde depolama boyunca nitrat miktarlarında azalma söz konusu olmuştur. Sadece daldırarak haşlanmış ve ardından kurutulmuş örneklerin nitrat miktarlarında %19,60 oranında bir artma tespit edilmiştir. Ayrıca bu artışın istatistiksel olarak da önemli olduğu saptanmıştır ($P<0,05$). Yine buharda haşlanıp dondurulan ıspanaklarda nitrat miktarında %7,64 oranında bir azalma saptanmasına rağmen, istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır ($P>0,05$).

Çizelge 4.28'de 1. Yıl 7,5 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş, ıspanak örneklerinin depolama verilerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.28. 1. Yıl, 7,5 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin buharda ve daldırarak haşlandıktan sonrası kurutma, dondurma ve konserveleme sonrası depolama Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları

ÖN İŞLEM	SON İŞLEM	DEPOLAMA (ay)	NİTRAT (mg/kg)	NİTRİT (mg/kg)
Buharda Haşlama	Kurutma	0. Ay	144,87±15,40 ^{AB}	<LOD
		4. Ay	154,13±11,95 ^A	<LOD
		8. Ay	145,96±7,40 ^{AB}	<LOD
		12. Ay	124,79±4,55 ^B	<LOD
	Dondurma	0. Ay	150,71±11,75 ^A	<LOD
		4. Ay	158,26±11,01 ^A	<LOD
		8. Ay	151,01±13,66 ^A	<LOD
		12. Ay	135,90±6,51 ^A	<LOD
	Konserveleme	0. Ay	150,71±11,75 ^{AB}	<LOD
		4. Ay	131,71±14,45 ^B	<LOD
		8. Ay	155,68±7,40 ^A	<LOD
		12. Ay	135,54±6,65 ^{AB}	<LOD
Daldırarak Haşlama	Kurutma	0. Ay	132,93±3,59 ^C	<LOD
		4. Ay	155,67±21,30 ^A	<LOD
		8. Ay	164,50±8,26 ^A	<LOD
		12. Ay	141,75±13,79 ^B	<LOD
		0. Ay	137,37±3,02 ^A	<LOD

	Dondurma	4. Ay	132,84±2,97 ^A	<LOD
		8. Ay	128,45±11,02 ^A	<LOD
		12. Ay	106,51±7,41 ^B	<LOD
	Konserveleme	0. Ay	137,37±3,02 ^A	<LOD
		4. Ay	115,44±6,44 ^B	<LOD
		8. Ay	104,30±5,20 ^{BC}	<LOD
		12. Ay	84,15±3,51 ^C	<LOD

*Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

**Aynı ön işleme ve aynı son işleme tabi tutulmuş örneklerden farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P<0,05$).

***Nitrit LOD değeri 0,002mg/kg'dır.

1. Yıl 7,5 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinde depolama boyunca nitrat miktarlarında azalma söz konusu olmuştur. Sadece daldırarak haşlanmış ve ardından kurutulmuş örneklerin nitrat miktarlarında %6,6 oranında bir artma tespit edilmiştir. Ayrıca bu artışın istatistiksel olarak da önemli olduğu saptanmıştır ($P<0,05$). Yine buharda haşlanıp dondurulan ıspanaklarda nitrat miktarında %9,83 oranında bir azalma saptanmasına rağmen, istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır ($P>0,05$).

Çizelge 4.29'da 2. Yıl 7,5 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş, ıspanak örneklerinin depolama verilerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.29. 2. Yıl, 7,5 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin buharda ve daldırarak haşlandıktan sonrası kurutma, dondurma ve konserveleme sonrası depolama Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları

ÖN İŞLEM	SON İŞLEM	DEPOLAMA (ay)	NİTRAT (mg/kg)	NİTRİT (mg/kg)
Buharda Haşlama	Kurutma	0. Ay	106,35±6,33 ^A	0,80±0,01
		4. Ay	103,11±1,55 ^{AB}	0,46±0,03
		8. Ay	97,31±1,43 ^{BC}	0,40±0,00
		12. Ay	91,99±0,02 ^C	0,35±0,00
	Dondurma	0. Ay	111,62±7,18 ^A	<LOD
		4. Ay	110,20±2,20 ^A	0,41±0,04
		8. Ay	105,91±0,48 ^A	0,29±0,00
		12. Ay	108,55±1,63 ^A	<LOD
	Konserveleme	0. Ay	111,62±7,18 ^A	<LOD
		4. Ay	105,27±0,22 ^{AB}	0,22±0,01
		8. Ay	99,75±0,09 ^B	<LOD
		12. Ay	98,11±0,80 ^B	<LOD
Daldırarak Haşlama	Kurutma	0. Ay	99,70±3,11 ^A	<LOD
		4. Ay	98,43±0,75 ^A	<LOD
		8. Ay	93,24±1,08 ^A	<LOD
		12. Ay	91,98±2,76 ^A	<LOD
	Dondurma	0. Ay	105,04±7,06 ^A	<LOD
		4. Ay	103,18±4,21 ^A	<LOD
		8. Ay	98,53±0,73 ^A	<LOD
		12. Ay	97,71±0,32 ^A	<LOD

	Konserveleme	0. Ay	105,04±7,06 ^A	<LOD
		4. Ay	102,65±2,91 ^A	<LOD
		8. Ay	89,29±1,56 ^B	<LOD
		12. Ay	82,80±1,03 ^B	<LOD

*Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

**Aynı ön işleme ve aynı son işleme tabii tutulmuş örneklerden farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P < 0,05$).

***Nitrit LOD değeri 0,002mg/kg'dır.

2. Yıl 7,5 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinde depolama boyunca nitrat miktarlarında azalma söz konusu olmuştur. Ancak buharda haşlanıp dondurulan ıspanaklarda nitrat miktarında %2,50 oranında bir azalma; daldırarak haşlanıp kurutulan örneklerde %7,75 ve dondurulanlarda da %6,98 oranında azalma saptanmasına rağmen, istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır ($P > 0,05$).

Çizelge 4.30'da 1. Yıl 15 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş, ıspanak örneklerinin depolama verilerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.30. 1. Yıl, 15 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin buharda ve daldırarak haşlandıktan sonrası kurutma, dondurma ve konserveleme sonrası depolama Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları

ÖN İŞLEM	SON İŞLEM	DEPOLAMA (ay)	NİTRAT (mg/kg)	NİTRİT (mg/kg)
Buharda Haşlama	Kurutma	0. Ay	208,26±5,20 ^{AB}	<LOD
		4. Ay	224,95±5,86 ^A	<LOD
		8. Ay	201,81±1,96 ^{BC}	0,26±0,01
		12. Ay	184,90±5,67 ^C	<LOD
	Dondurma	0. Ay	200,63±17,01 ^A	<LOD
		4. Ay	191,09±13,88 ^A	0,30±0,00
		8. Ay	201,40±0,04 ^A	<LOD
		12. Ay	206,87±8,17 ^A	<LOD
	Konserveleme	0. Ay	200,63±17,01 ^A	<LOD
		4. Ay	161,13±1,24 ^B	<LOD
		8. Ay	147,99±8,86 ^B	<LOD
		12. Ay	126,34±8,40 ^C	<LOD
Daldırarak Haşlama	Kurutma	0. Ay	162,04±2,81 ^{AB}	<LOD
		4. Ay	176,02±7,47 ^A	<LOD
		8. Ay	146,20±7,21 ^B	<LOD
		12. Ay	151,00±3,20 ^B	<LOD
	Dondurma	0. Ay	156,36±2,13 ^A	<LOD
		4. Ay	161,57±1,88 ^A	<LOD
		8. Ay	149,79±13,13 ^{AB}	<LOD
		12. Ay	135,77±7,32 ^B	<LOD
	Konserveleme	0. Ay	156,36±2,13 ^B	<LOD
		4. Ay	181,50±14,25 ^A	<LOD
		8. Ay	148,57±11,70 ^B	<LOD

		12. Ay	137,16±9,78 ^B	<LOD
--	--	--------	--------------------------	------

*Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

**Aynı ön işleme ve aynı son işleme tabii tutulmuş örneklerden farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P < 0,05$).

***Nitrit LOD değeri 0,002mg/kg'dır.

1. Yıl 15 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinde depolama boyunca nitrat miktarlarında azalma söz konusu olmuştur. Sadece buharda haşlanmış ve ardından dondurulmuş örneklerin nitrat miktarlarında %3,11 oranında bir artma tespit edilmiştir. Ancak bu artışın istatistiksel olarak da önemli olmadığı saptanmıştır ($P > 0,05$).

Çizelge 4.31.'de 2. Yıl 15 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş, ıspanak örneklerinin depolama verilerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.31. 2. Yıl, 15 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin buharda ve daldırarak haşlandıktan sonrası kurutma, dondurma ve konserveleme sonrası depolama Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları

ÖN İŞLEM	SON İŞLEM	DEPOLAMA (ay)	NİTRAT (mg/kg)	NİTRİT (mg/kg)
Buharda Haşlama	Kurutma	0. Ay	188,59±3,59 ^A	0,72±0,14
		4. Ay	192,15±0,82 ^A	<LOD
		8. Ay	181,18±0,49 ^B	0,22±0,01
		12. Ay	173,56±0,92 ^C	<LOD
	Dondurma	0. Ay	188,87±10,44 ^A	<LOD
		4. Ay	186,49±2,63 ^A	<LOD
		8. Ay	187,59±2,18 ^A	<LOD

	Konserveleme	12. Ay	181,13±1,25 ^A	<LOD
		0. Ay	188,87±10,44 ^A	<LOD
		4. Ay	186,30±1,10 ^A	<LOD
		8. Ay	169,85±0,50 ^B	<LOD
		12. Ay	157,34±0,94 ^C	<LOD
Daldırarak Haşlama	Kurutma	0. Ay	140,49±0,64 ^A	<LOD
		4. Ay	137,85±0,51 ^{AB}	<LOD
		8. Ay	133,49±2,02 ^{AB}	<LOD
		12. Ay	131,04±1,40 ^B	<LOD
	Dondurma	0. Ay	160,44±0,67 ^A	<LOD
		4. Ay	158,95±2,64 ^A	<LOD
		8. Ay	150,35±0,16 ^B	<LOD
		12. Ay	137,45±0,78 ^C	<LOD
	Konserveleme	0. Ay	160,44±0,67 ^A	<LOD
		4. Ay	157,19±3,83 ^A	<LOD
		8. Ay	137,38±1,73 ^B	<LOD
		12. Ay	119,78±1,35 ^C	<LOD

*Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

**Aynı ön işleme ve aynı son işleme tabii tutulmuş örneklerden farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P < 0,05$).

***Nitrit LOD değeri 0,002mg/kg'dır.

2. Yıl 15 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinde depolama boyunca nitrat miktarlarında azalma söz konusu olmuştur. Sadece buharda haşlanmış ve ardından dondurulmuş örneklerin nitrat miktarlarında %4,10 oranında bir azalma tespit edilmiş olmasına rağmen, istatistiksel olarak önemli olmadığı saptanmıştır ($P > 0,05$).

Çizelge 4.32.'de 1. Yıl 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş, ıspanak örneklerinin depolama verilerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.32. 1. Yıl, 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin buharda ve daldırarak haşlandıktan sonrası kurutma, dondurma ve konserveleme sonrası depolama Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları

ÖN İŞLEM	SON İŞLEM	DEPOLAMA (ay)	NİTRAT (mg/kg)	NİTRİT (mg/kg)
Buharda Haşlama	Kurutma	0. Ay	286,00±13,61 ^A	0,78±0,04
		4. Ay	271,69±14,99 ^{AB}	0,61±0,02
		8. Ay	253,16±11,00 ^B	0,57±0,02
		12. Ay	257,91±9,66 ^{AB}	0,52±0,01
	Dondurma	0. Ay	284,73±21,06 ^A	<LOD
		4. Ay	283,21±5,77 ^A	<LOD
		8. Ay	280,43±0,06 ^A	0,25±0,00

	Konserveleme	12. Ay	265,42±5,86 ^A	0,21±0,01
		0. Ay	284,73±21,06 ^A	<LOD
		4. Ay	205,70±2,40 ^B	<LOD
		8. Ay	189,21±3,36 ^B	<LOD
		12. Ay	144,17±5,61 ^C	<LOD
Daldırarak Haşlama	Kurutma	0. Ay	277,57±4,78 ^A	<LOD
		4. Ay	263,24±10,24 ^A	0,31±0,05
		8. Ay	250,94±13,85 ^A	0,24±0,01
		12. Ay	261,17±9,61 ^A	0,21±0,01
	Dondurma	0. Ay	282,31±16,01 ^B	<LOD
		4. Ay	280,53±25,32 ^{BC}	<LOD
		8. Ay	310,73±14,44 ^A	<LOD
		12. Ay	253,65±9,89 ^C	<LOD
	Konserveleme	0. Ay	282,31±16,01 ^A	<LOD
		4. Ay	191,02±14,63 ^B	<LOD
		8. Ay	171,41±14,90 ^B	<LOD
		12. Ay	171,99±14,12 ^B	<LOD

*Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

**Aynı ön işleme ve aynı son işleme tabii tutulmuş örneklerden farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P<0,05$).

***Nitrit LOD değeri 0,002mg/kg'dır.

1. Yıl 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinde depolama boyunca nitrat miktarlarında azalma söz konusu olmuştur. Ancak buharda haşlanmış ve ardından dondurulmuş örnekler ile daldırarak haşlanmış ve ardından kurutulmuş örneklerin nitrat miktarlarında sırasıyla %6,78 ve %5,91 oranında bir azalma tespit edilmiş olmasına rağmen, istatistiksel olarak önemli olmadığı saptanmıştır ($P>0,05$).

Çizelge 4.33'te 2. Yıl 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş, ıspanak örneklerinin depolama verilerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.33. 2. Yıl, 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin buharda ve daldırarak haşlandıktan sonrası kurutma, dondurma ve konserveleme sonrası depolama Duncan Çoklu Karşılaştırma test sonuçları

ÖN İŞLEM	SON İŞLEM	DEPOLAMA (ay)	NİTRAT (mg/kg)	NİTRİT (mg/kg)
Buharda Haşlama	Kurutma	0. Ay	324,78±5,73 ^A	0,79±0,02
		4. Ay	294,48±9,16 ^B	0,51±0,04
		8. Ay	302,22±2,59 ^B	0,50±0,03
		12. Ay	300,19±1,75 ^B	0,47±0,01
	Dondurma	0. Ay	281,02±0,58 ^B	<LOD
		4. Ay	342,62±2,52 ^A	0,41±0,04
		8. Ay	335,49±0,83 ^A	<LOD
		12. Ay	334,89±0,10 ^A	<LOD

	Konserveleme	0. Ay	281,02±0,58 ^A	<LOD
		4. Ay	255,56±7,83 ^{BC}	<LOD
		8. Ay	259,83±13,34 ^B	<LOD
		12. Ay	247,79±0,65 ^C	<LOD
Daldırarak Haşlama	Kurutma	0. Ay	290,61±13,93 ^A	0,40±0,00
		4. Ay	285,32±1,10 ^A	<LOD
		8. Ay	287,21±1,40 ^A	0,31±0,00
		12. Ay	284,39±0,96 ^A	0,21±0,01
	Dondurma	0. Ay	261,70±1,09 ^D	<LOD
		4. Ay	315,99±0,09 ^A	<LOD
		8. Ay	291,24±1,74 ^B	<LOD
		12. Ay	279,93±2,49 ^C	<LOD
	Konserveleme	0. Ay	261,70±1,09 ^C	<LOD
		4. Ay	321,16±0,47 ^A	<LOD
		8. Ay	289,57±1,17 ^B	<LOD
		12. Ay	279,87±0,19 ^B	<LOD

*Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

**Aynı ön işleme ve aynı son işleme tabii tutulmuş örneklerden farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistik olarak birbirinden farklıdır ($P<0,05$).

***Nitrit LOD değeri 0,002mg/kg'dır.

2. Yıl 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş, buharda haşlanarak dondurulmuş, daldırarak haşlanmış dondurulmuş ve daldırarak haşlanmış konservelenmiş ıspanak örneklerinde depolama boyunca nitrat miktarlarında sırasıyla %18,99, %6,97 ve %6,94 oranında artış söz konusu olmuştur. Buharda haşlanmış kurutulmuş ve buharda haşlanmış konservelenmiş örneklerin nitrat miktarlarında sırasıyla %7,57 ve %11,82 oranında azalma tespit edilmiştir. Bu artış ve azalmalar istatistiksel olarak da önemli olarak saptanmıştır ($P<0,05$). Daldırarak haşlandıktan sonra kurutulan örneklerin nitrat miktarında depolama boyunca bir değişiklik saptanmamıştır.

Depolama boyunca, buharda haşlanıp kurutulan örneklerin hepsinde nitrat miktarı azalmıştır ve istatistiksel olarak da önemli bulunmuştur ($P<0,05$).

Depolama boyunca, buharda haşlanıp dondurulan örneklerden sadece 1. Yıl 15 g/m² ve 2. Yıl 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanaklarda nitrat miktarı artmıştır. İstatistiksel olarak ilki önemli bulunmazken (P>0,05); ikincisi önemli bulunmuştur (P<0,05). Depolama boyunca buharda haşlanıp dondurulan örneklerin nitrat miktarındaki azalmalardan sadece 1.Yıl 0 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0,05).

Depolama boyunca, buharda haşlanıp konservelenmiş örneklerin hepsinde nitrat miktarı azalmıştır ve istatistiksel olarak da önemli bulunmuştur (P<0,05).

Depolama boyunca, daldırarak haşlanıp kurutulmuş 1. Yıl ve 2. Yıl 0 g/m² ve 1. Yıl 7,5 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanaklarda nitrat miktarının arttığı saptanmıştır. Bu artışlardan ilki istatistiksel olarak önemsiz bulunurken (P>0,05) diğerleri önemli bulunmuştur (P<0,05). Diğer daldırarak haşlanıp kurutulmuş ıspanak örneklerinde, nitrat miktarları depolama boyunca azalmıştır ve 1. ve 2. Yıl 15 g/m² gübre uygulamasıyla üretilmiş olan ıspanaklardaki azalma istatistiksel olarak önemlidir (P<0,05).

Depolama boyunca, daldırarak haşlanıp dondurulan örneklerden sadece 2. Yıl 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanaklarda nitrat miktarı artmıştır. İstatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0,05).

Depolama boyunca, daldırarak haşlanıp konservelenmiş örneklerin nitrat miktarları azalmıştır; örneklerden sadece 2. Yıl 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanaklarda nitrat miktarı artmıştır. İstatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0,05).

Kurutulmuş ıspanaklar ile ilgili çok fazla veri olmamakla birlikte; Pinto vd. (2010) yaptıkları çalışmada, kuru ıspanak örneklerinin depolama ambalajlarını vakumla kapatmadıklarını, dolayısıyla ambalajlarda gördükleri su buharı yüzünden nitrat miktarının daha düşük çıkmış olabileceğini belirtmişlerdir. Çalışmamızda da Pinto vd.'nin çalışmasında olduğu gibi vakumlu ambalajlama yapılamadığı; depolama sırasında bazı örnekler için ambalaj materyalinin zarar görerek örneklerin bir miktar nem kaybettiği ve bu yüzden nitrat miktarında hafif bir artış meydana geldiği düşünülmüştür.

Bitkide nitrit oluşumu ışık ve oksijen gibi pek çok faktörün etkisi altındadır. Bu yüzden sebzelerin hasat edilmesinden depolanmasına ve analize hazırlanmalarına kadar geçen süre içinde nitrat ve nitrit içeriği bakımından pek çok değişmelerin olması muhtemeldir. Bu

nedenlerle aynı işlem uygulanmış bitkilerin kendi aralarında bile nitrat ve nitrit içeriği bakımından büyük farklılıklar görülebilmektedir (Güneş, 1994).

Taze ve işlem görmüş meyve ve sebzeler donduruldukları zaman nitrat ve nitrit içerikleri azalabilmekte ya da değişmeden kalabilmektedir (Phillips 1968). Bu çalışma da genel olarak bunu desteklemektedir. Soğutma ve dondurma işlemi bakteriyel gelişimi ve dolayısıyla dönüşümü azaltmaktadır. Ayrıca dondurarak depolama sırasında biyokimyasal reaksiyonlar da yavaşlamakta fakat tam olarak durmamaktadır. Nitrat ve nitrit suda çözünen bileşiklerdir ve 1 yıllık depolamada kayıplar meydana gelebileceği gibi ıspanaklar analize alınmadan önce nitrat ve nitritin bir kısmının çözünme suyuna geçtiği de düşünülmektedir.

Jaworska (2005) konservelenmiş gıdaların dondurulmuş olanlara kıyasla daha düşük nitrat ve nitrit içerdiğini belirtmiştir. Bu çalışmada da 1 yıl depolanan ıspanaklarda konservelenmiş olanların nitrat miktarının genel olarak dondurulan ve kurutulanlara kıyasla daha az olduğu tespit edilmiştir.

Jaworska vd. (2001), haşladıktan sonra konserveledikleri ıspanakları 1 yıl boyunca depolamışlardır. Bir yıl sonra yaptıkları analizlerde ıspanakların nitrat miktarlarında %8-11 oranında bir düşüş olduğu; nitrit miktarlarında ise %44-66 oranında bir artış olduğunu saptamışlardır. Bu çalışmaya göre ise konservelendikten sonra depolanan ıspanaklarda %10,06 ila %49,37 oranında nitrat miktarında azalma saptanmıştır. Konservelenen ıspanakların nitrat sonuçlarındaki düşüş bu çalışmadaki sonuçlar ile paralellik göstermektedir. Ancak nitrit miktarları, bu çalışmada genel olarak LOD düzeyinin altında olduğu için Jaworska vd. (2001) çalışması ile farklılık göstermektedir.

Lisiewska ve Kmiecik (1997) dondurularak muhafaza edilen maydanozun nitrat miktarında önemli seviyede azalma belirlerken; Kmiecik vd. (2004) dereotunun nitrat seviyesinin soğukta ve dondurarak muhafaza ile ve Jaworska (2005b) taze ıspanak nitrat miktarının dondurarak muhafaza işlemi ile etkilenmediğini belirtmiştir.

Prasad ve Chetty (2008), yedi günlük -20°C 'de depolama boyunca Çin lahanasında %2,02; kerevizde %8,28; marulda %1,42 ve İngiliz lahanasında %10,94 oranında nitrat azotu düşüşü saptamışlardır. Yine aynı çalışmada 180°C 'de 25 dakika pişirilen sebzelerde nitrat azotu miktarının genel olarak aynı kaldığı belirlenmiştir.

Sezgin (2014) ıspanak, lahana, brokoli ve pazı yaprağının 6 ay boyunca -24°C 'de depolanması ile nitrit miktarının ortalama %6,25 oranında azaldığını; nitrat miktarının ise %11,44 oranında azaldığını saptamıştır.

Sezgin (2009), yaptığı araştırmada taze haldeki ıspanağın nitrat seviyesinin dondurarak muhafaza işlemi ile ortalama %5,3 seviyesinde azaldığını tespit etmiştir. Yine aynı araştırmada, ıspanak, brokoli, lahana ve pazı yaprağı sebzeleri haşlanmış ve haşlama sonrası dondurularak -24°C 'de 6 ay muhafaza edilmiştir. Sebzelerin nitrat içeriği haşlanarak dondurulma ve -24°C 'de 6 ay muhafaza ile %40-66, haşlanma işlemi ile %35-63 arasında değişen oranlarda azaldığını bulmuştur.

Pinto vd. (2010), dondurdukları ıspanakların 2 hafta depoladıktan sonra nitrat ve nitrit analizlerini yapmışlardır. Örneklerin nitrat miktarları taze örnekler ile istatistiksel olarak farklı çıkmamıştır ($P<0,05$). Bunun nedeninin numunelerin analizlerinin çözündürülmeden yapılması, böylelikle herhangi bir su kaybı olmamasına bağlamışlardır. Çünkü çözünme suyu ile nitrat kaybı yaşanacağını belirtmişlerdir. Yine bu çalışmada kurutulan ıspanakların da nitrat ve nitrit içerikleri incelenmiştir. Kurutulmuş örneklerin taze ve dondurulmuş olanlara kıyasla daha düşük nitrat içeriğine sahip olduklarını tespit etmişlerdir ($P<0,05$). Ancak kuru örneklerin depolama ambalajlarında gördükleri su buharı yüzünden nitrat miktarının daha düşük çıkmış olabileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca hiçbir örnekte nitrit saptayamamışlardır.

4.3. İstatistiksel Modelleme

Bu tez kapsamında elde edilen nitrat verileri Design Expert 7.0.3. Trial (A.B.D.) programı ile istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Nitrat verileri üzerine 4 adet bağımsız değişken olan gübreleme (0; 7,5; 15 ve 20 g/m^2), ön işlem (buharda haşlama, daldırarak haşlama), son işlem (kurutma, dondurma, konserveleme) ve depolamanın (0, 4, 8 ve 12 ay) etkisi birlikte incelenmiştir. Bu programda nitrat verileri faktöriyel dizayn bölümü kullanılarak tekrar analiz edilmiş ve minimum nitrat sonucunu veren deneme noktaları optimizasyon ile tahmin edilmiştir. Yeterli sayıda nitrit verisi olmadığı için aynı işlem nitrit verilerine uygulanamamıştır. Çizelge 4.34.'te istatistiksel modellemede nitrat için kullanılan deneme deseni verilmiştir.

Çizelge 4.34. Design Expert programında faktöriyel dizayn bölümünde kullanılan nitrat verileri

	Block	Factor 1 Gübre	Factor 2 Ön işlem	Factor 3 Son işlem	Factor 4 Depolama (ay)	Response 1 Nitrat (mg/kg)
1	YIL 1	20 g/m ²	Daldırarak haşlama	Konservelem e	4	191,02
2	YIL 1	7,5 g/m ²	Buharda haşlama	Kurutma	8	145,96
3	YIL 1	15 g/m ²	Daldırarak haşlama	Dondurma	0	156,36
4	YIL 1	0 g/m ²	Buharda haşlama	Dondurma	4	49,58
5	YIL 1	15 g/m ²	Buharda haşlama	Kurutma	12	208,26

6	YIL 1	0 g/m ²	Buharda haşlama	Kurutma	0	64,43
7	YIL 1	20 g/m ²	Daldırarak haşlama	Kurutma	8	261,17
8	YIL 1	7,5 g/m ²	Buharda haşlama	Konserveleme	4	150,71
9	YIL 1	20 g/m ²	Buharda haşlama	Kurutma	12	253,16
10	YIL 1	15 g/m ²	Daldırarak haşlama	Kurutma	8	176,02
11	YIL 1	7,5 g/m ²	Daldırarak haşlama	Konserveleme	0	84,15
12	YIL 1	15 g/m ²	Daldırarak haşlama	Konserveleme	4	148,57
13	YIL 1	20 g/m ²	Buharda haşlama	Dondurma	12	284,73
14	YIL 1	15 g/m ²	Buharda haşlama	Dondurma	4	191,09
15	YIL 1	0 g/m ²	Daldırarak haşlama	Kurutma	8	7248
16	YIL 1	0 g/m ²	Buharda haşlama	Konserveleme	8	45,49
17	YIL 1	0 g/m ²	Daldırarak haşlama	Dondurma	12	47,62
18	YIL 1	0 g/m ²	Buharda haşlama	Konserveleme	0	40,81
19	YIL 1	15 g/m ²	Buharda haşlama	Konserveleme	0	126,34
20	YIL 1	0 g/m ²	Daldırarak haşlama	Konserveleme	4	57,28
21	YIL 1	0 g/m ²	Buharda haşlama	Kurutma	0	67,1
22	YIL 1	7,5 g/m ²	Daldırarak haşlama	Dondurma	12	132,84

23	YIL 1	7,5 g/m ²	Daldırarak haşlama	Kurutma	8	132,93
24	YIL 2	0 g/m ²	Daldırarak haşlama	Konserveleme	12	53,78
25	YIL 2	7,5 g/m ²	Daldırarak haşlama	Konserveleme	4	89,29
26	YIL 2	7,5 g/m ²	Buharda haşlama	Kurutma	12	91,99
27	YIL 2	7,5 g/m ²	Buharda haşlama	Kurutma	4	294,48
28	YIL 2	20 g/m ²	Daldırarak haşlama	Kurutma	0	290,61
29	YIL 2	20 g/m ²	Buharda haşlama	Dondurma	8	105,91
30	YIL 2	0 g/m ²	Buharda haşlama	Kurutma	8	7054
31	YIL 2	0 g/m ²	Daldırarak haşlama	Dondurma	4	694
32	YIL 2	15 g/m ²	Daldırarak haşlama	Konserveleme	4	157,19
33	YIL 2	20 g/m ²	Daldırarak haşlama	Dondurma	4	315,99
34	YIL 2	20 g/m ²	Buharda haşlama	Konserveleme	12	247,79
35	YIL 2	7,5 g/m ²	Daldırarak haşlama	Dondurma	0	105,04
36	YIL 2	20 g/m ²	Daldırarak haşlama	Konserveleme	8	289,57
37	YIL 2	7,5 g/m ²	Buharda haşlama	Konserveleme	4	105,27
38	YIL 2	15 g/m ²	Daldırarak haşlama	Kurutma	12	131,04
39	YIL 2	0 g/m ²	Daldırarak haşlama	Kurutma	8	71,44

40	YIL 2	15 g/m ²	Buharda haşlama	Konserveleme	0	188,87
41	YIL 2	15 g/m ²	Daldırarak haşlama	Dondurma	12	137,45
42	YIL 2	15 g/m ²	Buharda haşlama	Dondurma	8	187,59
43	YIL 2	0 g/m ²	Buharda haşlama	Dondurma	0	75,69
44	YIL 2	0 g/m ²	Buharda haşlama	Kurutma	4	75,38
45	YIL 2	0 g/m ²	Buharda haşlama	Kurutma	0	79,49

Çizelge 4.35.'te faktöriyel dizayna ait ANOVA tablosu görülmektedir. ANOVA testi ile elde edilen model eşitliğine, bağımsız değişkenlerin etkili olduğu belirlenmiştir. Model parametrelerinin tamamının P değerlerinin 0,05'ten küçük olması bu parametrelerin model üzerinde etkili olduklarını göstermiştir. P değerlerine bakıldığında model üzerinde etkisi en büyük olan parametre gübre olmuştur. Daha sonra ise etkisi en çok olandan en az olana doğru son işlem, depolama ve ön işlem şeklinde sıralanmıştır. İkili interaksiyonlar da istatistiksel açıdan önemli bulunmuş; en etkiliden en zayıfına sırasıyla son işlem*depolama, gübre*depolama, ön işlem*depolama, gübre*son işlem, gübre*ön işlem ve ön işlem*son işlem olduğu tespit edilmiştir. Gübre*ön işlem*son işlem ve gübre*ön işlem*depolama arasında üçlü bir interaksiyonun bulunduğu da gözlenmiştir.

Çizelge 4.35. Design Expert faktöriyel dizayn bölümü kullanılarak yapılan optimizasyonun ANOVA tablosu

Varyasyon kaynağı	Kareler toplamı	Df	Mean Square	F değeri	P-değeri Prob>F
Block	1820,96	1	1820,96		
Model	2,785E+005	42	6631,11	12791,48	0,0070
A-gübre	2,391E+005	3	79702,76	1,537E+005	0,0019
B-ön işlem	365,30	1	365,30	704,68	0,0240

C-son işlem	3254,81	2	1627,40	3139,28	0,0126
D-depolama	2491,61	3	830,54	1602,12	0,0184
AB	600,05	3	200,02	385,84	0,0374
AC	1760,52	6	293,42	566,01	0,0322
AD	4782,60	9	531,40	1025,08	0,0242
BC	360,95	2	180,48	348,14	0,0379
BD	1054,65	3	351,55	678,14	0,0282
CD	3554,89	6	592,48	1142,90	0,0226
ABC	3675,31	3	1225,10	2363,24	0,0151
ABD	511,30	1	511,30	986,30	0,0203
ACD	0,000	0			
BCD	0,000	0			
ABCD	0,000	0			
Residual	0,52	1	0,52		
Cor Total	2,803E+005	44			

Faktöriyel dizayndan çıkan sonuca göre; çıkan sonuçların model ile büyük bir şekilde uyumlu olduğu görülmüştür ($P<0,05$). Modelin R^2 değeri 0,99 olarak bulunmuştur. Model parametreleri içinde bulunan 4 faktörden (gübre, ön işlem, son işlem, depolama) tümünün ve birbirleri ile interaksyonlarının hepsinin istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0,05$).

Minimum nitrat sonucunu veren deneme noktaları optimizasyon ile tahmin edilmiştir.

Programda uygulanan istatistik optimizasyona göre, 0 g/m^2 gübreleme kullanılarak elde edilen ıspanaklarda, minimum nitrat sonucu veren faktör seviyeleri daldırarak haşlanmış, konservenmiş ve 8 ay depolanmış ıspanak örnekleri olarak tespit edilmiştir.

Programda uygulanan istatistik optimizasyona göre, $7,5 \text{ g/m}^2$ gübreleme kullanılarak elde edilen ıspanaklarda, veren faktör seviyeleri daldırarak haşlanmış, konservenmiş ve 4 ay depolanmış ıspanak örnekleri olarak tespit edilmiştir.

Programda uygulanan istatistik optimizasyona göre, 15 g/m² gübreleme kullanılarak elde edilen ıspanaklarda, veren faktör seviyeleri daldırarak haşlanmış, kurutulmuş ve 0 ay depolanmış ıspanak örnekleri olarak tespit edilmiştir.

Programda uygulanan istatistik optimizasyona göre, 20 g/m² gübreleme kullanılarak elde edilen ıspanaklarda, veren faktör seviyeleri buharda haşlanmış, dondurulmuş ve 12 ay depolanmış ıspanak örnekleri olarak tespit edilmiştir.

En düşük iki gübre konsantrasyonunun (0 ve 7,5 g/m²) kullanıldığı örneklerde daldırarak haşlama ön işlemi ve konserveleme son işlemi uygulandığında en düşük nitrat konsantrasyonu tespit edilmiştir. Ancak orta dozda gübre konsantrasyonu uygulanan örneklerde ön işlem olarak daldırarak haşlama ve kurutma yönteminin kullanılmasıyla en düşük nitrat seviyesi elde edilmiştir. En yüksek gübre konsantrasyonunun kullanıldığı örneklerde ise ön işlem olarak buharda haşlama ve dondurma son işlemi ile en düşük nitrat seviyesi elde edilmiştir. Bu farklı sonuçların nedeni yıllar arasında oluşan, örneğin hava koşulları, sulama miktarı, güneş alma oranı ve benzerlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

5. SONUÇ

Taze, dondurulmuş veya pişmiş ıspanak diğer sebzelerin çoğuna kıyasla yüksek seviyelerde nitrat içerebilmektedir. Nitrat ve nitrit kansere neden olabilen nitrozaminlere dönüşebilme potansiyelinden dolayı sağlık açısından önemlidir ve takip edilmelidir. Taze ıspanağın nitrat içeriği genellikle yüksektir ve nitrat bakımından zengin gıdalar listesinde üst sıralarda, roka, kereviz, marul ve kırmızı pancar gibi gıdaların yanında bulunur. Bununla birlikte, taze ıspanaktaki nitrat miktarı, bitkinin nerede yetiştirildiğine, ne zaman yetiştirildiğine, yetiştirilmede ne tür gübrelerin kullanıldığına ve diğer faktörlere bağlı olarak büyük ölçüde değişebilmektedir.

Taze hasat edilmiş ıspanak, yüksek seviyelerde nitrat içerebilirken, neredeyse hiç nitrit içermemektedir. Bitkiler genellikle hasattan hemen sonra nitrit içermemekte veya çok az nitrit içermektedir. Bununla birlikte, nitrat hasat sonrası bitkideki mikroorganizmalar veya bitkinin tüketilmesi sırasında ağızdaki enzimler tarafından nitrite dönüştürülebilmektedir.

Bu çalışmada, ıspanak örnekleri %46 azotlu gübre kullanılarak, 4 farklı gübreleme miktarı uygulanarak, 2 sezon boyunca yetiştirilmiştir. Hasat edilen ıspanaklar ikiye ayrılmış; ön işlem olarak haşlama işlemi iki farklı şekilde uygulanmıştır. Haşlama işleminden sonra örnekler 3 kısma ayrılmış ve kurutma, dondurma ve konserveleme işlemleri yapılmıştır ve ardından 1 yıl boyunca depolanmışlardır. Tüm işlemlerden sonra örneklerin nitrit ve nitrat analizleri yapılmıştır. Örneklerde genel olarak nitrit tespit edilememiştir (<LOD).

0 g/m² gübreleme miktarı ile yetiştirilen ıspanaklarda nitrat miktarı 72,05-85,45 mg/kg; 7,5 g/m² gübreleme miktarı ile yetiştirilen ıspanaklarda 144,58-123,07 mg/kg; 15 g/m² gübreleme miktarı ile yetiştirilen ıspanaklarda 203,41-208,50 mg/kg; 20 g/m² gübreleme miktarı ile yetiştirilen ıspanaklarda 308,43-297-86 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Gübreleme miktarı arttıkça bitkide biriken nitrat miktarının da arttığı belirlenmiştir. Bu yüzden de kullanılan gübrenin miktarının ıspanak yetiştiriciliğinde nitrat miktarı üzerine etkisinin ne denli önemli olduğu görülmektedir. Ancak hiçbir taze ıspanak örneğindeki nitrat miktarı Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'ndeki limitleri aşmamıştır. Taze ıspanak örneklerinde nitrit tespit edilememiştir (<LOD).

1. Yıl 0 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarları üzerine ön işlem, son işlem, depolama ile ön işlem*son işlem, son işlem*depolama, ön işlem*son işlem*depolama interaksyonları önemli bulunmuştur (P<0,05). Ön işlem*depolama interaksyonu önemsiz bulunmuştur (P>0,05).

2. Yıl, 0 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarlarına ön işlem, son işlem, depolama ve ön işlem*son işlem interaksyonu, ön işlem*depolama interaksyonu, son işlem*depolama interaksyonu ve ön işlem*son işlem*depolama interaksyonunun etkilerinin hepsi önemli bulunmuştur (P<0,05).

1. Yıl, 7,5 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarları üzerine ön işlem*depolama interaksyonu önemsiz bulunmuştur (P>0,05). Ön işlem, depolama, son işlem ile ön işlem*son işlem interaksyonunun, son işlem*depolama interaksyonunun ve ön işlem*son işlem*depolama interaksyonunun etkisi önemli bulunmuştur (P<0,05).

2. Yıl, 7,5 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarları üzerine, ön işlem, son işlem, depolama ile son işlem*depolama interaksyonu önemli bulunurken (P<0,05); ön işlem*son işlem, ön işlem*depolama ve ön işlem*son işlem*depolama interaksyonları önemsiz bulunmuştur (P>0,05).

1. Yıl, 15 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarları üzerine ön işlem, son işlem ve depolamanın, ön işlem*son işlem, ön işlem*depolama, son işlem*depolama ve ön işlem*son işlem*depolama interaksyonlarının etkisi önemli bulunmuştur (P<0,05).

2. Yıl, 15 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarlarına ön işlem, son işlem ve depolamanın, ön işlem*son işlem interaksyonu, son işlem*depolama ve ön işlem*son işlem*depolama interaksyonlarının etkilerinin P<0,05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Ön işlem*depolama interaksyonu ise istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur (P>0,05).

1. Yıl, 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarları üzerine ön işlem ile ön işlem*son işlem, ön işlem*depolama ve ön işlem*son işlem*depolama interaksyonlarının etkisi önemsiz bulunurken (P>0,05); son işlem ve depolama ile son işlem*depolama interaksyonunun etkileri önemli bulunmuştur (P<0,05).

2. Yıl, 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinin nitrat miktarları üzerine, ön işlem, son işlem ve depolamanın, ön işlem*son işlem, ön işlem*depolama, son işlem*depolama ve ön işlem*son işlem*depolama interaksyonlarının etkilerinin hepsi önemli bulunmuştur (P<0,05).

Hasattan sonra yapılan haşlama işleminin bitkideki nitrat miktarını azalttığı saptanmıştır. İstatistiksel olarak da buharda haşlama ve daldırarak haşlama işlemleri arasında fark tespit edilmiştir (P<0,05). Buharda haşlanan ıspanaklarda 0; 7,5; 15 ve 20 g/m² gübreleme miktarlarına göre sırasıyla ortalama %12; 9,1; 5,4 ve 6,7 oranlarında nitrat miktarında azalma olmuştur. Daldırarak haşlanan ıspanaklarda sırasıyla ortalama %12,9; 15,8; 21,7 ve 10,3 oranlarında nitrat miktarında azalma olmuştur. Daldırarak haşlama işlemi, buharda haşlama işlemine kıyasla genel olarak daha fazla nitrat miktarında azalmaya yol açmıştır. Nitrat suda çözünen bir bileşik olduğu için haşlama suyuna geçmektedir ve ıspanaklarda ön haşlama işleminin yapılması nitrat konsantrasyonunun azaltılması için uygun bir yöntemdir. Ispanakların bol su ile yıkanması, işleme ve depolama öncesinde haşlanması, ıspanaklardaki nitratı azaltmada uygun bir yoldur.

Son işlemler kıyaslandığında, genel olarak en düşük nitrat içeriğine sahip örneklerin, konservelenen ıspanak örnekleri olduğu tespit edilmiştir. Ispanaktaki nitratın çözünerek konserve suyuna geçtiği düşünülmektedir. Ancak konserve suyu için ayrıca nitrat ve nitrit analizi yapılmamıştır. Yapılacak ileriki çalışmalar için, ıspanakların haşlama sularında ve konserve ıspanakların süzme sularında nitrat ve nitrit miktarlarının tespit edilmesi tavsiye edilebilir.

Depolama boyunca buharda haşlanıp kurutulmuş örneklerin hepsinde nitrat miktarı azalmıştır ve istatistiksel olarak da önemli bulunmuştur (P<0,05).

Depolama boyunca buharda haşlanıp dondurulan örneklerden sadece 1. Yıl 15 g/m² ve 2. Yıl 20 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanaklarda nitrat miktarı artmıştır. İstatistiksel olarak ilki önemli bulunmazken (P>0,05); ikincisi önemli bulunmuştur (P<0,05).

Depolama boyunca daldırarak haşlanıp kurutulmuş 1. Yıl ve 2. Yıl 0 g/m² ve 1. Yıl 7,5 g/m² gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanaklarda nitrat miktarının arttığı saptanmıştır. Bu artışlardan ilki istatistiksel olarak önemsiz bulunurken (P>0,05) diğerleri önemli bulunmuştur (P<0,05). Diğer örneklerin nitrat miktarları depolama boyunca azalmıştır ve 1. ve 2. Yıl 15 g/m²

gübre uygulamasıyla üretilmiş olan ıspanaklardaki azalma istatistiksel olarak önemlidir ($P<0,05$).

Depolama boyunca daldırarak haşlanıp dondurulan örneklerden sadece 2. Yıl 20 g/m^2 gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanaklarda nitrat miktarı artmıştır. İstatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$).

Depolama boyunca daldırarak haşlanıp konserveleşmiş örneklerin nitrat miktarları azalmıştır; örneklerden sadece 2. Yıl 20 g/m^2 gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanaklarda nitrat miktarı artmıştır. İstatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$).

Depolama boyunca buharda haşlanıp dondurulan örneklerin nitrat miktarındaki azalmalardan sadece 1. Yıl 0 g/m^2 gübre uygulaması ile üretilmiş ıspanak örneklerinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$).

Depolama boyunca buharda haşlanıp konserveleşmiş örneklerin hepsinde nitrat miktarı azalmıştır ve istatistiksel olarak da önemli bulunmuştur ($P<0,05$).

Sonuç olarak ıspanaklardaki nitrat miktarını arttıran asıl faktör gübrelemedir. Gübreleme dozajı arttıkça ıspanaklarda biriken nitrat miktarının da arttığı gözlenmiştir.

Haşlama, kurutma, dondurma veya konserveleme gibi teknolojik işlemler ve depolamanın, ıspanaklardaki nitrat düzeyinin azaltılmasına katkıda bulunduğu bu tez çalışmasıyla kanıtlanmıştır. Bunun nedeninin, nitratın suda çözünmesi nedeniyle yıkama ve haşlama işlemleri sonucu su ile uzaklaşması; konserveleme işleminde konserve suyuna geçmesi ve dondurma işlemi sonrasında ise çözünme suyu ile birlikte uzaklaşması olduğu düşünülmektedir.

Sebzelerde nitrat ve nitrit birikiminin sağlığı tehdit etmemesi için bazı önlemlerin alınması gerekmektedir. Tarım yapılan alanlarda üreticilere, azotlu gübrelerin gerekli miktarda ve bilinçli bir şekilde kullanılması yönünde eğitimlerin verilmesi ve zararın oluşmadan önlenmesi yönünde çalışmalar yapılması uygun olabilir. En önemlisi daha ıspanak tarlada yetiştirilmeye başlandığı andan itibaren, içerisinde birikebilecek nitrat miktarını en aza indirmek olmalıdır.

Ayrıca yüksek düzeyde azotlu gübre uygulaması ile üretilen ıspanaklara uygulanacak haşlama, konserveleme, dondurma, kurutma vb. işlemlerin, ıspanaklardaki nitrat miktarına etkisinin belirlenebileceği çalışmaların yapılması tavsiye edilebilir.

KAYNAKLAR

- Abubaker, S, Abu-Zahra, T., Alzu'bi, Y., Ammari, T. ve Tahboub, A. (2010). Nitrate accumulation in spinach (*Spinacia oleracea* L.) tissues under different fertilization regimes. *Journal of Food, Agriculture & Environment, Vol.8 (2):* 778-780.
- Ahmadi, H., Akbarpour, V., Dashti, F. ve Shojaeian, A. (2010). Effect of different levels nitrogen fertilizer on yield, nitrate accumulation and several quantitative attributes of five Iranian Spinach accessions. *American-Eurasian J. Agric. And Environ. Sci., 8 (4):* 468-473.
- Alexander, P., Handawa, P. ve Charles, U. (2016). Determination of nitrate and nitrite contents of some edible vegetables in Guyuk Local Government Area of Adamawa State, Nigeria. *American Chemical Science Journal, 13(3):* 1-7, Article no.ACSJ.23387.
- Anonim a (2018). T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Gıda Kontrol Genel Müdürlüğü, Kimyasal ve Fiziksel Analizlerde Metot Validasyonu/Verifikasyonu Rehberi, Nisan 2018.
- Anonim b (2020). 29.05.2020, Erişim adresi <http://www.gencziraat.com/Bahce-Bitkileri/Ispanak-Yetistiriciligi-6.html>
- Anonim c (2020). 29.05.2020, Erişim adresi <https://www.sorhocam.com/etiket.asp?sid=3280&ure-gubresi-nerelerde-kullanilir/>
- Anonim d (2020). T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Gübre İstatistikleri, 29.05.2020. Erişim adresi <https://www.tarimorman.gov.tr/Konular/Bitkisel-Uretim/Bitki-Besleme-ve-Tarimsal-Teknolojiler/Bitki-Besleme-Istatistikleri>
- Aoun, O., Benamara, S., Dahmoune, F., Remini, Hocine, Dairi, S., Belbahi, A., Bousalhih, B. ve Madani, K. (2018). Modelling of nitrate leaching kinetics during spinach leaf midribs bleaching. *The North African Journal of Food and Nutrition Research, 02, (04),* 111-119.
- Artık, N., Poyrazoğlu, E., Şimşek, A., Kadakal, Ç. ve Karkacier, M. (2002). Enzimatik yöntemle bazı sebze ve meyvelerde nitrat düzeylerinin belirlenmesi. *Gıda, 27 (1):* 5-13.
- Ayaz, A. ve Yurttagül, M. (2006). Sebzelerin nitrat ve nitrit içeriklerine etki eden faktörler. *Beslenme ve Diyet Dergisi / J Nutr and Diet, 34(2):*51-64.
- Ayaz, A. ve Yurttagül, M. (2013). Ispanakta buzdolabında bekletme, pişirme ve dondurmanın nitrat ve nitrit içeriğine etkisi. *Gıda Dergisi, 38 (1) :* 9-16.
- Ayaz, A., Topçu, A. ve Yurttagül, M. (2007). Survey of nitrate and nitrite levels of fresh vegetables in Turkey. *Journey of Food Technology, 5 (2),* 177-179.

- Bednar, C.M., Kies, C. ve Carlson, M., (1991). Nitrate-nitrite levels in commercially processed and home processed beets and spinach. *Plant Foods for Human Nutrition*, 41, 261-268.
- Bosch, B., Mata, G., Penuele, M., Galan, R. ve Ruiz, L. (1995). Determination of nitrite levels in refrigerated and frozen spinach by ion chromatography. *Journal of Chromatography A*, 706, 221-228.
- Cammack, R., Joannou, C., Cui, X., Martinez, C., Maraj, S ve Hughes, M. (1999). Nitrite and nitrosyl compounds in food preservation. *Biochimica et Biophysica Acta 1411*, 475-488.
- Canali, S., Montemurro, F., Tittarelli, F. ve Masetti, O. (2011). Is it possible to reduce nitrogen fertilization in processing spinach? *Journal of Plant Nutrition*, 34:534–546.
- Cangi, R. ve Acar, İ. (2013). *Farklı azotlu gübre form ve dozlarının salamuralık asma yapraklarında verim ve nitrat birikimine etkisi*. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Sonuç Raporu, Proje No: 2012/121.
- Cemeroğlu B., (2007). Gıda analizleri. *Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No: 34*, Ankara.
- Cemeroğlu B., (2009). Meyve ve sebze işleme teknolojisi. *Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No: 39*, Ankara.
- Certel, M., Şık, B., Cengiz ve Karakaş, B. (2006). *Antalya yöresinde tüketilen yenilebilir bazı yabancı bitkilerin nitrat ve nitrit içerikleri*. Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs 2006, Bolu.
- Chan, T. (2011). Vegetable-borne nitrate and nitrite and the risk of methaemoglobinaemia. *Toxicology Letters*, 200, 107–108.
- Chen, B., Wang., i, Li, S., Wang, G., Song, H. ve Wang, X. (2004). Effects of nitrate supply on plant growth, nitrate accumulation, metabolic nitrate concentration and nitrate reductase activity in three leafy vegetables. *Plant Science*, 167 635–643.
- Chou, S., Chung, J ve Hwang, D. (2003). A high performance liquid chromatography method for determining nitrate and nitrite levels in vegetables. *Journal of Food and Drug Analysis*, Vol. 11, No. 3, Pages 233-238.
- Chung, J., Chou, S. ve Hwang, D. (2004). Changes in nitrate and nitrite content of four vegetables during storage at refrigerated and ambient temperatures. *Food Additives and Contaminants*, Vol. 21, No. 4, pp. 317–322.

- Chung, S., Tran, J., Tong, K., Chen, M., Xion, Y., Ho, Y. ve Chan, C. (2011). Nitrate and nitrite levels in commonly consumed vegetables in Hong Kong. *Food Additives and Contaminants Part B, Vol.4, No:1*, 34-41.
- Cintya, H., Silalahi, J., Putra, E. ve Siburian. (2019). The influence of storage condition on nitrite, nitrate and vitamin C levels in vegetables. *F1000Research*, 7:1899.
- Citak, S. ve Sönmez, S. (2010). Effects of conventional and organic fertilization on spinach (*Spinacea oleracea L.*) growth, yield, vitamin C and nitrate concentration during two successive seasons. *Scientia Horticulturae*, 126, 415–420.
- Correia, M., Barroso, A., Barroso, F., Soares, D. ve Oliveira, M. (2010). Contribution of different vegetables types to exogenous nitrate and nitrite exposure. *Food Chemistry*, 120, 960-966.
- Dıraman, H., Gündüz, H. ve Demirci, M. (2005). Tekirdağ ilinde yetiştirilen bazı sebze ve meyvelerde nitrat ve nitrit miktarları üzerinde araştırmalar. *Gıda Dergisi*, 30 (1): 37-42.
- Elias, T. (2010). *Nitrate and nitrite contents in vegetables and vegetable-based food, transformation dynamics and dietary intake*. A thesis for applying for the degree of doctor of Philosophy in Veterinary Medicine, Estonian University, Tartu.
- Erarslan, F., İnal, A., Güneş, A., Erdal, İ. ve Coşkan, A. (2009). Türkiye’de kimyasal gübre üretimi ve tüketim durumu, sorunlar, çözüm önerileri ve yenilikler. 09.12.2020, Erişim adresi http://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/c1e55ec7c43dc51_ek.pdf
- Ezeagu and Fafunso (1995), Effect of wilting and processing on the nitrate and nitrite contents of some Nigerian leaf vegetables. *Nutrition and Health*, Vol. 10, pp. 269-275.
- FAOStat, Food and Agriculture Organization of the United Nations. 09.12.2020, Erişim adresi <http://www.fao.org/faostat/en/#search/spinach>.
- Gaiser, M., Rathjen, A. ve Spiess, W. (1996). Nitrate extraction during blanching of spinach. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 30, 432–435.
- Goh, K. ve Vityakon, P. (1986). Effects of fertilisers on vegetable production 2. Effects of nitrogen fertilisers on nitrogen content and nitrate accumulation of spinach and beetroot. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, Vol. 29: 485-494.
- Güler, S. (2005). Sürdürülebilir sebze üretiminde azotlu gübre kullanımı. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg* 36 (2), 209-215.

- Güneş, A. (1994). *Ankara koşullarında yetiştirilen ıspanak bitkisine uygulanan azotlu gübrelerin verim ve nitrat birikimi üzerine etkisi* (Doktora Tezi), Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Toprak Anabilim Dalı, Ankara.
- Hammad, S.A., Abou-Seeda, M.A., El-Ghamry A. and Selim, E.M., (2007). Nitrate accumulation in spinach plants by using n-fertilizer types in aluvial soil. *Journal of Applied Sciences Research*, 3 (7), 511-518.
- Heisler, E., Sciliano, J., Krulick, S., Feinberg, J. ve Schwartz, J., (1974). Changes in nitrate and nitrite content, and search for nitrosamines in storage-abused spinach and beets. *J. Agr. Food Chern.*, Vol. 22, No. 6.
- Hsu, J., Arcot, J. ve Lee, A. (2009). Nitrate and nitrite quantification from cured meat and vegetables and their estimated dietary intake in Australians. *Food Chemistry* 115, 334–339.
- Huarte-Mendicoa, J., Astiasaran, I. ve Bello, J. (1997). Nitrate and nitrite levels in fresh and frozen broccoli. Effect of freezing and cooking. *Food Chemistry*, Vol. 58, No. 1-2, pp. 3p-42.
- Iammarino, M., Taranto, A. ve Cristino, M. (2013). Endogenous levels of nitrites and nitrates in wide consumption foodstuffs: Results of five years of official controls and monitoring. *Food Chemistry* 140, 763–771.
- Jaworska, G. (2005a). Content of nitrates, nitrites, and oxalates in New Zealand spinach. *Food Chemistry*, 89, 235–242.
- Jaworska, G. (2005b). Nitrates, nitrites, and oxalates in products of spinach and New Zealand spinach Effect of technological measures and storage time on the level of nitrates, nitrites, and oxalates in frozen and canned products of spinach and New Zealand spinach. *Food Chemistry* 93, 395–401.
- Jaworska, G. ve Kmiecik, W. (1999). Content of selected mineral compounds, nitrates III and V, and oxalates in spinach (*Spinacia oleracea* L.) and New Zealand spinach (*Tetragonia expansa* murr.) from spring and autumn growing seasons. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, Volume 2, Issue 2. Available Online: <http://www.ejpau.media.pl/volume2/issue2/food/art-03.html>
- Jaworska, G., Kmiecik, W. ve Maciejaszek, I. (2001). Comparison of the quality of canned spinach (*Spinacia oleracea* L.) and New Zealand Spinach (*Teragonia expansa* Murr.). *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Food Science and Technology*, Vol. 4, Issue 2.

- Kaminishi, A. ve Kita, N. (2006). Seasonal change of nitrate and oxalate concentration in relation to the growth rate of spinach cultivars. *Hortscience*, 41(7):1589-1595.
- Kara, E. (1993). Sebzelerde nitrat akümülyasyonu. *Çevre Dergisi, Nisan-Mayıs-Haziran, Sayı-7*, 10-13.
- Karaman, M., Brohi, A., Güneş, A. ve Alparslan, M. (2000). Yöresel değisik azotlu gübre uygulamalarının tokat bölgesinde yetiştirilen bazı kışlık sebzelerin nitrat akümülyasyonuna etkisi. *Turk J Agric For* 24, 1-9.
- Keshavarz, M., Mazloomi, S. ve Babajafari, S. (2015). The effect of home cooking method and refrigeration processes on the level of nitrate and nitrite in spinach. *J Health Sci Surveillance Sys.; Vol 3; No 3*.
- Kmiecik, W. ve Lisiewska, Z., (1999). Effect of pretreatment and conditions and period of storage on some quality indices of frozen chive (*Allium schoenoprasum* L.). *Food Chemistry*, 67 (1), 61-66.
- Kmiecik, W., Lisiewska, Z. ve Slupski, J. (2004). Effects of freezing and storing of frozen products on the content of nitrates, nitrites and oxalates in dill. *Food Chemistry*, 86, 105-111.
- Lisiewska, Z. ve Kmiecik, W., (1997). Effect of freezing and storage on quality factors in Hamburg and Leafy Parsley. *Food Chemistry*, 60 (4), 633-637.
- Marvi, M. (2009). Effect of nitrogen and phosphorous rates on fertilizer use efficiency in lettuce and spinach. *Journal of Horticulture and Forestry, Vol. 1 (7)*, pp. 140-147.
- Merino, L. (2009). Nitrate in Foodstuffs: *Analytical standardisation and monitoring and control in leafy vegetables* (Licentiate thesis), Swedish University of Agriculture Sciences, Uppsala.
- Merino, L., Darnerud, P., Edberg, U., Aman, P. ve Castillo, D. (2006). Levels of nitrate in Swedish lettuce and spinach over the past 10 years. *Food Additives and Contaminants*, 23, (12), 1283-1289.
- Merino, L., Edberg, U. ve Fuchs, G. (2000). Liquid chromatographic determination of rezidüel nitrite/nitrate in foods: NMKL collaborative study. *Journal of AOAC International vol. 83, NO. 2*, 365.

- Michalski, R. ve Kurzyca, I. (2006). Determination of nitrogen species (nitrate, nitrite and ammonia ions) in environmental samples by ion chromatography. *Polish Journal of Environmental Studies*, Vol.15, No.1, 5-18.
- Mondal, S. ve Nad, B. (2012). Nitrate accumulation in spinach as influenced by sulfur and phosphorus application under increasing nitrogen levels. *Journal of Plant Nutrition*, 35:2081–2088.
- Mordoğan, N., Ceylan, Ş., Çakıcı, H. ve Yoldaş, F. (2001). Azotlu gübrelemenin marul bitkisindeki azot birikimine etkisi. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 38 (1): 85-92 ISSN 1018-8851.
- Morohashi, M., Enya, N., Suzuki, K., Asada, T. ve Kawata, K. (2010). Nitrate levels in fresh vegetables and berries from central Japan. *Toxicological and Environmental Chemistry*, Vol.92, No.8, 1495-1503.
- Nam, P., Alejandra, B., Frederic, H., Didier, B., Oliver, S. ve Andre, P. (2008). A new quantitative and low-cost determination method of nitrate in vegetables, based on deconvolution of UV spectra. *Talanta* 76, 936–940.
- Nejatzadeh-Barandozi, F. ve Gholami-Borujeni, F. (2019). Nitrate and nitrite in leek and spinach from Urmia district and their changes as affected by boiling. *International Journal of Environmental Health Engineering*, Vol. 2, Issue 4.
- Oruç, H. ve Ceylan, S.. (2001). Bursa’da tüketilen bazı sebzelerde nitrat ve nitrit. *J Fac Vet Med* 20, 17-21.
- Özdehan, Ö. ve Üren, A. (2008). *Ege Bölgesinde sıklıkla tüketilen bazı otların nitrat ve nitrit içeriklerinin saptanması*. Türkiye 10. Gıda Kongresi; 21-23 Mayıs 2008, Erzurum
- Özdehan, Ö. ve Üren, A. (2010). Gıdalarda nitrit ve nitrat. *Akademik Gıda*, 8(6), 35-43
- Özenç, Damla B. ve Şenliklioğlu, G. (2017). Organik ve kimyasal azot kaynağının ıspanak bitkisinin bazı besin içeriği ve nitrat birikimi üzerine etkileri. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi/Anadolu J Agr Sci*, 32, ISSN: 1308-8750 1308-8769 (Online)
- Phillips, W., (1968). Changes in the nitrate and nitrite contents of fresh and processed spinach during storage. *Journal of Agr. Food Chem. Vol. 16, No. 1.*

- Pinto, E., Petisca, C., Amaro, L., Pinho, O. ve Ferreira, I. (2010). Influence of different extraction conditions and sample pretreatments on quantification of nitrate and nitrite in spinach and lettuce. *Journal of Liquid Chromatography*, 33:591–602.
- Prasad, S. ve Chetty, A. (2008). Nitrate-N determination in leafy vegetables: Study of the effects of cooking and freezing. *Food Chemistry* 106, 772–780.
- Proias, G., Legos, S, Sakkas, I., Papagiannis, N. ve Kungolos, A. (2010). Nitrates in The Region Thessaly. *Small and decentralised water and wastewater treatment plants III*, 389-395.
- Salehzadeh, H., Maleki, A., Rezaee, R., Shahmoradi, B. ve Ponnet, K. (2020). The nitrate content of fresh and cooked vegetables and their health-related risks. 09.12.2020, <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0227551>
- Santamaria, P. (2006). Review Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86:10–17.
- Santamaria, P., Elia, A., Serio, F. ve Todaro, E. (1999). A survey of nitrate and oxalate content in fresh vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79:1882-1888.
- Sante/12682/2019, *Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed*.
- Sezgin, A. (2009). *Başlıca yaprağı yenen sebzelerin nitrat ve nitrit miktarları ve uygulanan teknolojik işlemlerin etkisi* (Doktora Tezi), Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Erzurum.
- Sezgin, A. (2014). Haşlama ve dondurarak muhafaza işlemlerinin sebzelerdeki nitrat ve nitrit miktarı üzerine etkisi. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi Cilt: 9, No: 2*, 33-45.
- Shimada, Y. ve Ko, S. (2004). Nitrate in vegetables. *Chugokugakuen Journal*, V.3, pp. 7-10.
- Shokrzadeh, M., Shokravie, M., Ebadi, A.G., Babae, Z., Tarighati, A. 2007. The measurement of nitrate and nitrite content in leek and spinach sampled from Central Cities of Mazandaran State of Iran. *World Applied Sciences Journal*, 2(2):121-124.
- Sistrunk, W.A., 1980. Kale greens quality, vitamin retention and nitrate content as affected by preparation, processing, and storage. *Journal of Food Science*, 45 (3), 679-681.
- Sönmez, İ., Kaplan, M. ve Sönmez, S. (2008) Kimyasal gübrelerin çevre kirliliği üzerine etkileri ve çözüm önerileri. *Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Derim Dergisi*, 25(2):24-34.

- Stagnari, F., Bitetto, V. ve Pisante, M. (2007). Effects of N fertilizers and rates on yield, safety and nutrients in processing spinach genotypes. *Scientia Horticulturae*, 114, 225–233.
- Susin, J., Kmeci, V. ve Gregorcic, A. (2006). A survey of nitrate and nitrite content of fruit and vegetables grown in Slovenia during 1996–2002. *Food Additives and Contaminants*, 23(4): 385–390.
- Tamme, T., Reinik, M. ve Roasto, M. (2010). Nitrates and nitrites in vegetables: Occurance and health risks. *Bioactive Foods in Promoting Health: Fruits and Vegetables*, Chapter 21, pages 307-321.
- Tamme, T., Reinik, M., Pussa, T., Roasto, M., Meremae, K. ve Kiis, A. (2010). Dynamics of nitrate and nitrite content during storage of homemade and small-scale industrially produced raw vegetable juices and their dietary intake. *Food Additives and Contaminants*, 27 (04), pp.487-495.
- Tamme, T., Reinik, M., Roasto, M., Meremae, K. ve Kiis, A. (2009). Impact of Food Processing and Storage Conditions on Nitrate Content in Canned Vegetable–Based Infant Foods. *Journal of Food Protection*, Vol. 72, No. 8, 1764–1768.
- Tan, E. (2003). Gıda kirlenmesinde nitrat, nitrit ve oluşturdıkları riskler. *Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi*, Sayı:3, 32-36.
- Topçuoğlu, B., Kütük, C., Demir, K. ve Özçoban, M. (1997). Amonyum sülfat ve amonyum nitrat ile gübrelenen ıspanak bitkisine (*Spinaceae oleraceae* L.) yapraktan kalsiyum klorür uygulanmasının verim ile fiziksel ve kimyasal bazı kalite özellikleri üzerine etkisi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 3 (3) 29-33.
- TUİK, Türkiye İstatistik Kurumu “Bitkisel Üretim İstatistikleri-Sebzeler”. 09.12.2020, Erişim adresi <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>
- Wolff, I. ve Wasserman, A.E. (1972). A. Nitrates, nitrites and nitrosamines. *Science*, 177 (4043), 15-18.
- Yağmur, B., Okur, B., Tuncay, Ö. ve Eşiyok, D. (2019). farklı ekim zamanı ve azotlu gübre uygulamalarının tere (*Lepidium sativum* L.) bitkisinin azot fraksiyonları ve bitki besin maddesi içeriğine etkileri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi Cilt 29, Sayı 3*.
- Zengin, M. (1997). *Nitratın ıspanak bitkisinde birikimi ve topraktan yıkanması üzerine bazı azotlu gübrelerin etkileri* (Doktora Tezi), Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Toprak Anabilim Dalı, Konya.

Zhang, Y., Lin, X., Zhang, Y., Zheng, J. ve Du, S. (2005). Effects of nitrogen levels and nitrate/ammonium ratios on oxalate concentrations of different forms in edible parts of spinach. *Journal of Plant Nutrition*, 28, 2011-2025.



EKLER

EK 1 Türk Gıda Kodeksi Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Gıda Katkı Maddeleri Tebliği Ekler Bölüm C Diğer Koruyucular Çizelge-2

Gıda Katkı Maddesinin E Kodu ve Adı	Gıda Maddesi	Üretim Esnasında Katılabilecek En Yüksek Değer (NaNO ₂ cinsinden)	Maksimum Kalıntı Miktarı (NaNO ₂ cinsinden)
E 249 Potasyum nitrit ^(a)	Et ürünleri	150 mg/kg	
	Sterilize et ürünleri (Fo> 3,00) ^(b)	100 mg/kg	
	Daldırarak kürlenmiş AB'nin geleneksel et ürünleri (1) - <i>Wiltshire bacon</i> /domuz pastırması (1.1) - <i>Entremeada, entrecosto, chispe, orelheira e cabeça (salgados)</i> - <i>Toucinho fumado</i> (1.2); ve benzeri ürünler		175 mg/kg
	- <i>Wiltshire ham</i> /domuz jambon (1.1); ve benzeri ürünler		100 mg/kg
	- <i>Rohschinken, nassgepökelt</i> (1.6); ve benzeri ürünler - <i>Kürlenmiş tongue/dil</i> (1.3)		50 mg/kg
	Kurutularak kürlenmiş AB'nin geleneksel et ürünleri (2) - Kuru kürlenmiş <i>bacon</i> /domuz pastırması ve benzeri ürünler (2.1)		175 mg/kg
	- Kuru kürlenmiş <i>ham</i> /domuz jambon (2.1) - <i>Jamón curado, paleta curada, lomo embuchado y cecina</i> (2.2) - <i>Presunto, presunto da pá and paio do lombo</i> (2.3); ve benzeri ürünler		100 mg/kg
	- <i>Rohschinken, trockengepökelt</i> (2.5); ve benzeri ürünler		50 mg/kg
	AB'nin diğer geleneksel kürlenmiş et ürünleri (3) - <i>Vysočina</i> - <i>Selski salám</i> - <i>Turistická trvanlivá salám</i> - <i>Poličan</i> - <i>Herkules</i> - <i>Lovecká salám</i> - <i>Dunajská klobása</i> - <i>Paprikáš</i> (3.5); ve benzeri ürünler	180 mg/kg	

	<i>Rohschinken, trocken-/nassgepökelt</i> (3.1); ve benzeri ürünler <i>Jellied veal and brisket</i> (3.2)		50 mg/kg
E 251 Potasyum nitrat ^(c) E 252 Sodyum nitrat ^(c)	Isıl işlem görmemiş et ürünleri	150 mg/kg	
	Daldırarak kürlenmiş AB'nin geleneksel et ürünleri (1) - <i>Kylmäsavustettu poronliha/ Kallrökt renkött</i> (1.4);	300 mg/kg	
	- <i>Wiltshire bacon and Wiltshire ham</i> /domuz jambon (1.1); - <i>Entremeada, entrecosto, chispe, orelheira e cabeça (salgados)</i> , - <i>Toucinho fumado</i> (1.2); - <i>Rohschinken, nassgepökelt</i> (1.6); ve benzeri ürünler		250 mg/kg
	<i>Bacon</i> /Domuz pastırması, <i>Filet de bacon</i> (1.5); ve benzeri ürünler		250 mg/kg (E 249 veya E 250 eklemeden)
	- Kürlenmiş <i>tongue/dil</i> (1.3)		10 mg/kg
	Kurutularak kürlenmiş AB'nin geleneksel et ürünleri (2) - Kuru kürlenmiş <i>bacon</i> /domuz pastırması ve kuru kürlenmiş <i>ham</i> /domuz jambon (2.1) - <i>Jamón curado, paleta curada, lomo embuchado y cecina</i> (2.2); - <i>Presunto, presunto da pá and paio do lombo</i> (2.3); - <i>Rohschinken, trockengepökelt</i> (2.5); ve benzeri ürünler		250 mg/kg
	<i>Jambon sec, jambon sel sec et autres pièces maturées séchées similaires</i> (2.4)		250 mg/kg (E 249 veya E 250 eklemeden)
	AB'nin diğer geleneksel kürlenmiş et ürünleri (3) <i>Rohwürste (Salami and Kantwurst)</i> (3.3); <i>Rohschinken, trocken-/nassgepökelt</i> (3.1); ve benzeri ürünler	300 mg/kg (E 249 veya E 250 eklemeden)	
	- <i>Salchichón y chorizo tradicionales de larga curación</i> (3.4); - <i>Saucissons secs</i> (3.6); ve benzeri ürünler	250 mg/kg (E 249 veya E 250 eklemeden)	250 mg/kg
	<i>Jellied veal and brisket</i> (3.2);		10 mg/kg

	- Sert, yarı sert ve yarı yumuşak peynirler - Süt bazlı peynir analogları	150 mg/kg (süte veya peynir altı suyu uzaklaştırılarak yerine eklenen suya)	
	Ringa ve çaça balığı turşusu	500 mg/kg	

(a) Nitrit, "gıdada kullanım içindir" ifadesi ile etiketlenerek, sadece tuz veya tuz ikamesi ile karıştırılarak karışım halinde satışa sunulabilir.

(b) Fo değeri 3; 121°C'de 3 dakika ısıtmaya eşittir. (Her 1000 kutudaki bir milyar bakteri sporu yükünün bir spora azaltılması)

(c) Düşük asitli ortamlarda, nitritin doğal olarak nitrate dönüşmesi nedeniyle ısıtma işlemi uygulanmış bazı et ürünlerinde nitrat bulunabilir.

1. Et ürünleri nitrit ve/veya nitrat, tuz ve diğer bileşenleri içeren kür çözeltisine daldırılır. Et ürünlerine tütsüleme gibi ileri işlemler de yapılabilir.

1.1 Et ürünlerine kür çözeltisi enjekte edilir bunu takiben 3 ile 10 gün arasında küre daldırılır. Daldırılan tuz çözeltisi (salamura) mikrobiyolojik starter kültürü içermelidir.

1.2 Daldırma ile küreleme 3 – 5 gün arasında olmalıdır. Ürün ısıtma işlemi görmemiş ve yüksek su aktivitesine sahip olmalıdır.

1.3 Daldırma ile küreleme en az 4 gün olmalı ve ön pişirme yapılmalıdır.

1.4 Daldırma ile kürelemeden sonra ete kür çözeltisi enjekte edilmelidir. Küreleme zamanı 14 – 21 gün arasında olmalı ve akabinde 4 – 5 hafta soğuk tütsüleme ile olgunlaştırma yapılmalıdır.

1.5 Daldırma ile küreleme 4 – 5 gün için 5 – 7 °C'de, olgunlaştırma 24 – 40 saat arasında 22 °C'de, muhtemel tütsüleme 24 saatte 20 – 25 °C'de ve depolama 3 – 6 hafta arasında 12 – 14 °C'de olmalıdır.

1.6 Etin şekli ve ağırlığına bağlı olan küreleme zamanı yaklaşık 2 gün/kg olup devamında stabilizasyon/olgunlaştırma yapılmalıdır.

2. Kuru küreleme işlemi stabilizasyon/olgunlaştırma periyodu ile devam eden nitrit ve/veya nitrat, tuz ve diğer bileşenleri içeren kür karışımının et yüzeyine kuru olarak uygulanmasını da içerir. Et ürünleri tütsüleme gibi ileri işlemlere maruz kalabilir.

2.1 Olgunlaşma ile devam eden kuru küreleme en az 4 gün olmalıdır.

2.2 Kuru küreleme işleminde stabilizasyon periyodu en az 10 gün olmalı ve olgunlaştırma periyodu 45 günden fazla olmalıdır.

2.3 Kuru küreleme 10 – 15 gün, bunu takiben 30 – 45 stabilizasyon periyodu ve en az 2 aylık olgunlaşma periyodu uygulanır.

2.4 Kuru küreleme zamanı 3 gün + 1 gün/kg ve bunu takiben 1 haftalık tuzlama sonrası periyodu ve 45 gün – 18 ay olgunlaştırma periyodu uygulanır.

2.5 Et parçalarının şekil ve ağırlığına bağlı olan küreleme zamanı yaklaşık 10 – 14 gün olup bunu takiben stabilizasyon/olgunlaştırma uygulanır.

3. Daldırma ve kuru küreleme işlemleri birlikte uygulandığında veya bileşik gıda nitrit ve/veya nitrat içerdiğinde veya küreleme çözeltisi pişirme öncesi ürüne enjekte edildiğinde. Ürüne tütsüleme gibi ileri işlemler uygulanabilir.

3.1 Kuru küreleme ve daldırarak küreleme birlikte kullanıldığında (küreleme çözeltisinin enjekte edilmediğinde). Et parçacıklarının ağırlığı ve şekline göre değişen küreleme zamanı yaklaşık 14 – 35 gün olup bunu stabilizasyon/olgunlaşma takip eder.

3.2 Küreleme çözeltisinin enjeksiyonundan sonra en az 2 gün sonra 3 saat kadar süren kaynama yoluyla pişirme yapılır.

3.3 Ürünün en az 4 haftalık olgunlaşma periyodu vardır ve su/protein oranı 1,7'den azdır.

3.4 Olgunlaşma periyodu en az 30 gündür.

3.5 Kurutulmuş ürün 70 °C'de pişirilir ve bunu 8 – 12 gün kurutma ve tütüleme işlemi takip eder. Fermente ürün 3 aşamadan oluşan ve 14 – 30 gün arasında değişen fermantasyon işlemine tabii tutulur ve devamında tütüleme işlemi yapılır.

3.6 Nitrit ilave edilmeyen çiğ fermente kurutulmuş sosis/sausage. Ürün 18 – 22 °C'de veya daha az sıcaklıklarda (10 – 12 °C) fermantasyona tabii tutulur ve en az 3 haftalık olgunlaşma periyodu sağlanır. Ürünün nem/protein oranı 1,7'den azdır.



EK 2 Nitrit ve Nitrat Kalibrasyon Grafikleri

```

=====
                        Calibration Table
=====
    
```

```

Calib. Data Modified :      03 December 2013 Tuesday 17:15:19

Calculate             :      External Standard
Based on              :      Peak Area

Rel. Reference Window :      50.000 %
Abs. Reference Window :      0.000 min
Rel. Non-ref. Window  :      20.000 %
Abs. Non-ref. Window  :      0.000 min
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
Uncalibrated Peaks    :      not reported
Partial Calibration    :      Yes, identified peaks are recalibrated
Correct All Ret. Times:      No, only for identified peaks

Curve Type           :      Linear
Origin               :      Included
Weight               :      Equal

Recalibration Settings:
Average Response     :      Average all calibrations
Average Retention Time:      Floating Average New 75%
    
```

```

Calibration Report Options :
  Printout of recalibrations within a sequence:
    Calibration Table after Recalibration
    Normal Report after Recalibration
  If the sequence is done with bracketing:
    Results of first cycle (ending previous bracket)
    
```

Signal 1: DAD1 A, Sig=205,4 Ref=360,100

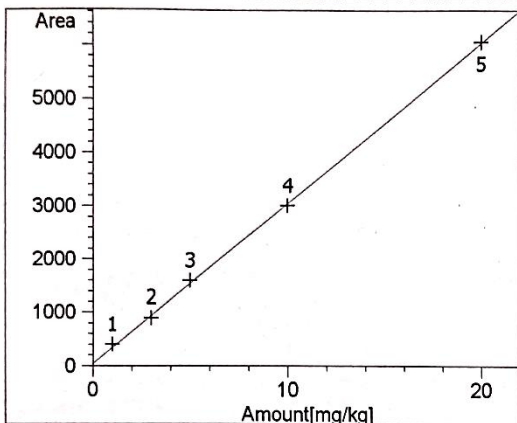
RetTime [min]	Lvl Sig	Amount [mg/L]	Area	Amt/Area	Ref Grp Name
13.873	1 1	1.00000	395.82596	2.52636e-3	Nitrit
	2	3.00000	892.37299	3.36182e-3	
	3	5.00000	1584.04846	3.15647e-3	
	4	10.00000	2997.72314	3.33587e-3	
	5	20.00000	6057.24854	3.30183e-3	
30.994	1 1	1.00000	433.86990	2.30484e-3	Nitrat
	2	3.00000	1301.36401	2.30527e-3	
	3	5.00000	2059.99829	2.42719e-3	
	4	10.00000	4089.48999	2.44529e-3	
	5	20.00000	7947.09521	2.51664e-3	

```

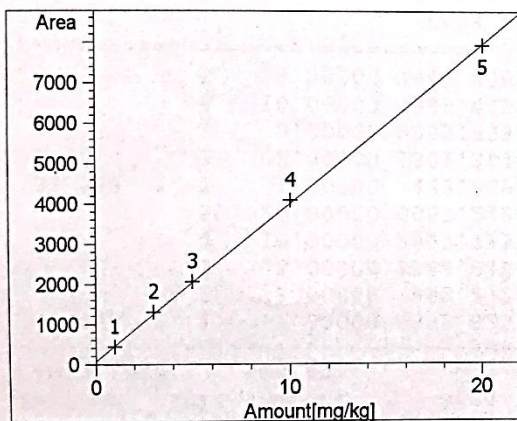
=====
                        Peak Sum Table
=====

***No Entries in table***
=====
    
```

=====
Calibration Curves
=====

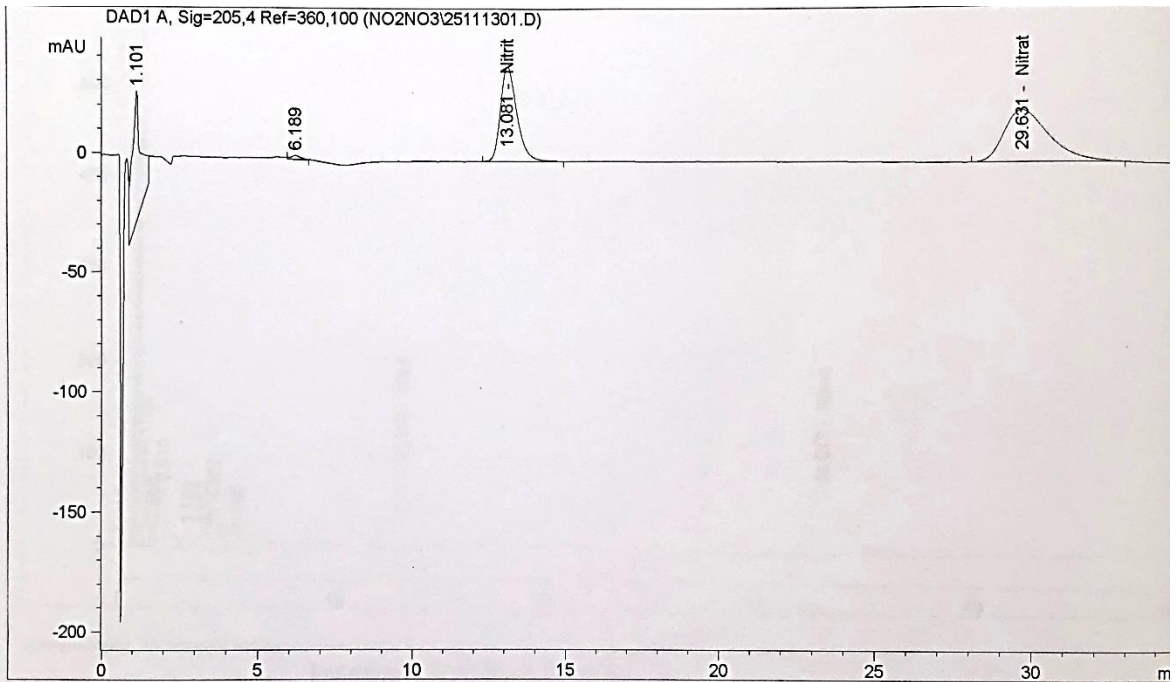


Nitrit at exp. RT: 12.463
DAD1 A, Sig=205,4 Ref=360,100
Correlation: 0.99979
Residual Std. Dev.: 52.23659
Formula: $y = mx + b$
m: 300.49188
b: 34.67260
x: Amount [mg/kg]
y: Area



Nitrat at exp. RT: 32.368
DAD1 A, Sig=205,4 Ref=360,100
Correlation: 0.99985
Residual Std. Dev.: 57.20283
Formula: $y = mx + b$
m: 396.33373
b: 62.46700
x: Amount [mg/kg]
y: Area

EK 3 5 ppm geri kazanım



External Standard Report

Sorted By : Signal
 Calib. Data Modified : 25.11.2013 11:04:36
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000

Signal 1: DAD1 A, Sig=205,4 Ref=360,100

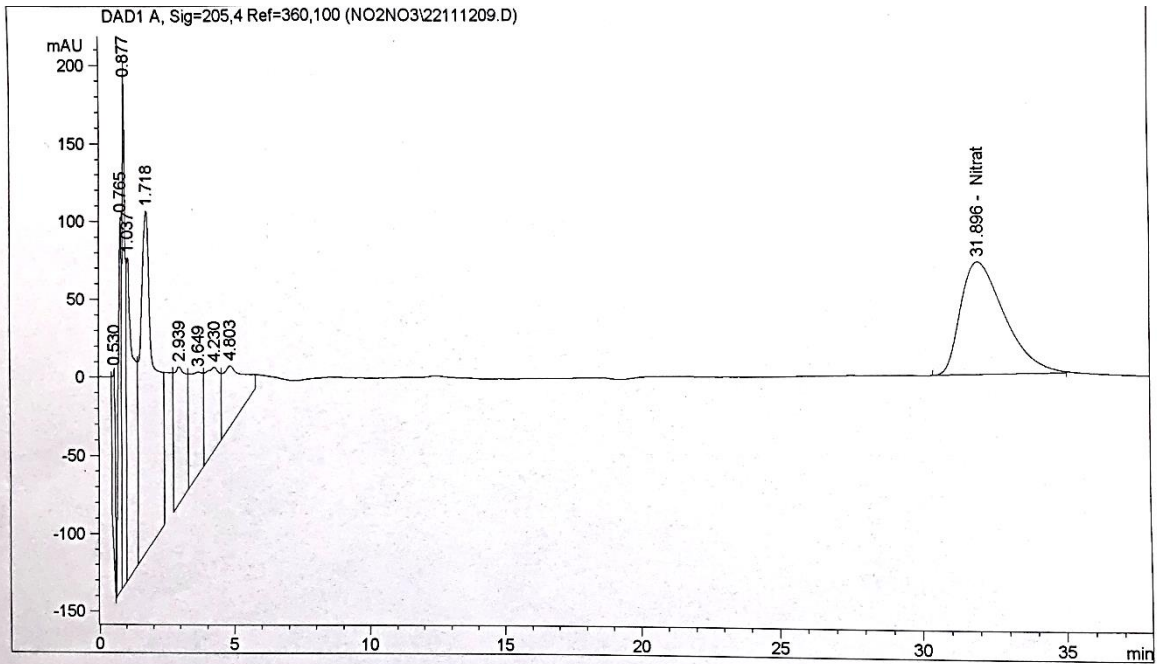
RetTime [min]	Type	Area [mAU*s]	Amt/Area	Amount [mg/L]	Grp	Name
13.081	VV	1460.63989	3.24888e-3	4.74544		Nitrit
29.631	VBA	2142.09595	2.44955e-3	5.24717		Nitrat

Totals : 9.99261

Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

EK 4 FAPAS® Lettuce Puree



External Standard Report

Sorted By : Signal
 Calib. Data Modified : 22.11.2012 11:49:51
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000

Signal 1: DAD1 A, Sig=205,4 Ref=360,100

RetTime [min]	Type	Area [mAU*s]	Amt/Area	Amount [mg/L]	Grp	Name
12.463		-	-	-		
31.896	BB	7562.84180	2.50229e-3	18.92439		Nitrit Nitrat
Totals :				18.92439		