**1. HAFTA**

**ET VE ET ÜRÜNLERİNDE ÖRNEK ALMA**

Et ve et ürünleri heterojen bir yapıya sahiptir. Bu nedenle standart ve partiyi temsil edecek şekilde örnekler alınmalıdır.

Karkas veya büyük et parçalarından alınan örnekler bütünü temsil etmediği için örneğin alınış amacına göre farklı yöntemler kullanılır:

* Mikrobiyolojik analizler için (Salmonella, Koliform), yüzey örnekleri tercih edilir.
* Kimyasal analizler için her bölgeden örnek alınmalıdır.
* Derinde oluşan kokuşmalar için kemik seviyesinde derin kas örneği alınır.
* Yağ örnekleri için (örn; pestisit tayini), özellikle böbrek yağı tercih edilir.

Örnek alma araç gereçleri olarak genellikle bıçak, et testeresi, kıyma makinesi, blender, hava geçirmez kaplar kullanılır. Bu araç ve gereçler kuru ve temiz olmalıdır. Ayrıca, duyusal analiz yapılacaksa herhangi bir tat ve koku bulaştırmamalıdır. Mikrobiyolojik analizler için araç ve gereçler steril olmalı ve örnek aseptik koşullarda alınmalıdır. Örnek kapları su ve yağ geçirmez olmalı ve sterilizasyona dayanıklı veya steril tek kullanımlık olmalıdır. Araç gereçlerin sterilizasyonu için belirtilen yöntemlerden biri tercih edilebilir; en az 121 °C’de 20 dk ıslak sterilizasyon, en az 170 °C’de 20 dk kuru sterilizasyon, 100 °C’de 60 dk buharda tutma, alkolle yakma, alevden geçirme. Örnekler soğukta taşınmalı ve hemen analize alınmayacaksa -18 °C’de saklanmalıdır.

Üretim yerlerinden numune alma planları mevzuata göre yapılır. Bununla ilgili örnek bir çizelge aşağıda verilmiştir.

Sucuk ve sosis-salam partilerinden alınacak örnek sayısı

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Kitle Büyüklüğü (N) | Örnek Sayısı (n) | Kabul Edilebilir Kusurlu Örnek Sayısı (c) |
| 150 ve daha az | 6 | 1 |
| 151-500 | 13 | 2 |
| 501-1200 | 21 | 4 |
| 1201-3200 | 48 | 6 |
| 3201-10000 | 84 | 9 |
| 10001-32000 | 126 | 13 |

**2. HAFTA**

**ET VE ET ÜRÜNLERİNDE NEM VE SU AKTİVİTESİ**

Gıdalarda nem analizinin yapılış amaçları birkaç ana başlıkta toplanabilir:

* Mikrobiyal aktivitenin kontrolü
* Kimyasal reaksiyonların kontrolü
* Gıdaların içerik tayininde sonuçların standart şekilde açıklanması
* Gıdaların optimum düzeyde işlenmesi, işlem basamaklarının ve son ürünün kontrolü

Su aktivitesi gıdalarda kolayca bulunabilen ve kullanılabilen serbest suyu ifade eder. Etin işlenmesi sırasında uygulanan kurutma, dondurma, tuzlama, dumanlama, yağ katılması gibi işlemler su aktivitesi değerini etkiler.

**Deneyin yapılışı**

**Nem Tayini**

Krozeye saf deniz kumu ve cam baget konukur, 105 ºC’lik etüvde kurutulur, desikatöre alınarak soğutulur ve tartılır. Örnek blenderle homojenize edilir. Homojenize edilmiş örnekten 5–10 gr kadar krozeye konulur. İçinde örnek olan kroze 105 ºC’lik etüvde 4–5 saat tutulur. Kroze desikatöre alınarak soğutulur ve tartılır. Bu işleme sabit tartıma ulaşılıncaya kadar devam edilir.

% Kuru Madde =

D = Krozenin darası (deniz kumu ve cam baget dahil) (gr)

G1 = Krozenin darası (deniz kumu ve cam baget dahil) + sucuk örneği miktarı (gr)

G2 = Krozenin darası (deniz kumu ve cam baget dahil) + kurutulmuş sucuk örneği miktarı (gr)

**Su Aktivitesi Tayini**

Örnek blenderle homojenize edilir. Homojenize edilmiş örneğin su aktivitesi değerleri su aktivitesi cihazı kullanılarak belirlenir.

**3. HAFTA**

**ET VE ET ÜRÜNLERİNDE YAĞ, PROTEİN VE KÜL TAYİNİ**

Yağlar organizmada depo yağlar (deri altı ve yağların depo edildiği kısımlar), hücre içi yağlar (fibriller çevresinde) ve hücre dışı yağlar (kaslar arasında ve kas üstünde) olmak üzere üç şekilde bulunurlar. Hayvansal yağlar sert yağlardan sayılmaktadır. Yağın yapısı değişik faktörler tarafında denetlenmektedir; hayvanın yaşı (genç hayvanlarda yumuşak, daha açık renkli yağ görülür), cinsiyet (erkeklerde koyu renkli, zor eriyen yağ), karkas bölgesi (bonfile etinin yağı daha yüksek oranda doymuş yağ asidi içerir), hayvan türü (boğa, keçi etleri daha yüksek oranda doymuş yağ asidi içerir). Et endüstrisinde genelde zor eriyen yağlar tercih edilirken, tüketim açısından daha yumuşak yağlar tercih edilir. Aynı zamanda endüstride yağın renginin beyaz veya beyaza yakın olması istenir.

Ette bulunan proteinler sarkoplazmik proteinler, fibrilik proteinler ve bağ doku proteinleri olmak üzere üç grupta incelenir. sarkoplazmik proteinler sarkoplazmada bulunan ve suda çözünen proteinlerdir. Çözünmüş formda bulunduklarından beslenmede önemlidir, kesimden sonra ete uygulnan işlemlerle uzaklaştırılabilirler. Aktin ve myosin ise fibrilik proteinler grubunda incelenen, kas teli içinde yayılmış veya gruplan oluşturmuş halde bulunan proteinlerdir. kollogen ve elastin ise bağ doku proteinlerine örnektir. Kas tellerini saran ince bir zar tabakası halindedirler. Kollogen kemik ve kıkırdak dokularının yapı taşıyken, elastin kas içi ve organlar arası bağ sağlayan proteindir.

Kül et ve et ürünlerinde mineral ve tuz içeriğinin bir göstergesidir. Ette ortalama %1 kadardır. Et ürünlerinde kullanılan kürleme ajanları, baharat ve tuzlar nedeniyle kül miktarı artmaktadır.

**Deneyin Yapılışı**

**Toplam Yağ Tayini**

Yağ balonu 105 ºC’lik etüvde sabit tartıma kadar kurutulur, tartılır. Örnek blenderla homojenize edilir. Homojenize edilmiş örnekten 5-10 gr kadar tartılıp ekstraksiyon kartuşuna konulur (ekstraksiyon öncesi örnek kurutulabilir). Kartuşun ağzı kapatılarak ekstraksiyon aparatına yerleştirilir. Üzerine 1,5 sifon yapacak kadar hekzan eklenir. Geri soğutucu yerleştirildikten sonra su açılır, ısıtıcı çalıştırılır, 5-6 saat kadar ekstraksiyon sürdürülür. Ekstraksiyon sonunda, yağ balonu rotary evaparatöre bağlanır, hekzan uçurulur. kalan hekzan ve nemin uzaklaştırılması için 105 ºC’lik etüvde sabit tartıma gelinceye kadar tutulur.

% Yağ =

D = Yağ balonunun darası (gr)

G1 = Örnek miktarı (gr)

G2 = Yağ balonunun darası + yağ miktarı (gr)

**Ham Protein Tayini**

Yakma İşlemi

Homojenize edilmiş 1-2 gr örnek kuru kjeldahl tüpüne konur. Üzerine 1 adet kjeldahl tableti ve 15 ml derişik H2SO4 eklenir. Hazırlanan kjeldahl tüpü yakma ünitesine yerleştirilir. Sıcaklık kademeli olarak artırılarak siyahlık kalmayıncaya kadar yakma işlemi sürdürülür. Yakma işlemi bitince kjeldahl balonu soğutulur ve üzerine 100 ml kadar saf su ilave edilir.

Destilasyon İşlemi

Kjeldahl tüpü destilasyon düzeneğine bağlanır. Üzerine 75 ml % 40’lık NaOH eklenir. Destilasyon düzeneğinin diğer ucuna içinde 50 ml % 2’lik H3BO4 çözeltisi ve 5–6 damla kadar indikatör bulunan erlen bağlanır. 5-10 dakika kadar destilasyon işlemi yapılır.

Titrasyon İşlemi

Destilasyon sonrası erlen alınarak 0,1 N HCl çözeltisi ile titre edilir. Aynı işlemler kör deneme için de yapılır.

% Azot = x 100

% Protein = % N x 6,25

V1 = Titrasyonda harcanan HCl çözeltisi miktarı (ml)

V0 = Kör deneme titrasyonunda harcanan HCl çözeltisi miktarı (ml)

N = Titrasyonda kullanılan HCl çözeltisinin normalitesi (0,1 N)

0,014 = Azotun miliekivelan ağırlığı

m = Alınan örnek miktarı(g)

**Kül Tayini**

Kül krozesi sabit tartma getirilir, desikatöre alınarak soğutulup tartılır. Örnek blenderle homojenize edilir. Homojenize edilmiş örnekten 1-5 gr kadar krozeye tartılır. Örnek 105 ºC’lik etüvde 1–2 saat kurutulur. Kurutulan örnek kül fırınında, 500–550 ºC’lerde esmer lekeler kalmayıncaya kadar yakılır. Yakılan örnekte siyah lekeler varsa üzerine birkaç damla hidrojen peroksit (H2O2) damlatılır ve yakma işlemine devam edilir. Yakma işlemi sonunda kroze desikatöre alınarak soğutulur ve tartılır.

% Kül =

D = Krozenin darası (gr)

G1 = Örnek miktarı (gr)

G2 = Krozenin darası + kül miktarı (gr)

**4. HAFTA**

**ET VE ET ÜRÜNLERİNDE** **SU TUTMA KAPASİTESİ**

Su tutma kapasitesi ete uygulanan kesme, kıyma, presleme, ısıl işlemler gibi uygulamalar süresince et tarafından tutulabilen su miktarını ifade eden bir terimdir. Genel olarak hayvanın türüne, yaşına, post mortem uygulamalara bağlı olarak değişir.

**Deneyin yapılışı**

İyice kıyılmış etten kurutulmuş süzgeç kağıdı üzerine yaklaşık 300 mg tartılır. Örnek ve süzgeç kağıdı cam plakalar arasında konur ve cam plaka üzerine 1 kg ağırlık konularak 20 dk beklenir. Süre sonunda süzgeç kağıdı üzerinde biri etin yayılma alanı diğeri de suyun yayılma alanı olmak üzere iki daire gözlenir. Dairelerin planimetre ile alanları ölçülür ve aşağıdaki eşitliğe göre su tutma kapasitesi hesaplanır.

Su tutma kapasitesi = etin yayılma alanı (cm2) / toplam alan (cm2)

**5. HAFTA**

**ET VE ET ÜRÜNLERİNDE KOKUŞMA TESPİTİ**

Kokuşma analizi et ve et ürünlerinin kullanılabilirliğini, tazeliğini belirlemek amacıyla yapılır. Bitki ve hayvan dokularının mikroorganizmalar tarafından bozunmasına kokuşma denir. Kokuşma geri dönüşü olmayan bir dönemdir ve bu dönemde et kullanılamayacak bir duruma gelir. Bu dönemde proteinler azotlu ve hidrojenli bileşiklere parçalanır ve açığa çıkan bu bileşikler etin kokmasına neden olur.

**Deneyin Yapılışı**

Amonyağa karşı aktif olan Nessler reaktifi kullanılarak amonyak varlığının saptanması esasına dayanır.

Nessler Reaktifinin Hazırlanması: 30 g HgCl2 ve 37 g KI 250 ml saf suda çözdürülür. Bu sırada kırmızı renkli HgI çöker. Çöken kısım alınır, yıkanır. Üzerine 30 g KI ve çözünecek kadar su ilave edilir. 100 g NaOH eklenir, çözdürülür. Hacim 500 ml’ye tamamlanır.

Petri kutusuna analiz yapılacak örnekten bir miktar alınır. Üzerine birkaç ml Nessler reaktifi damlatılır. Amonyak varlığında açıktan koyuya değişen tonlarda portakal rengi görülür.

**6. VE 7. HAFTA**

**ET VE ET ÜRÜNLERİNDE TÜR TAYİNİ**

Bu analizin en önemli amacı tağşişi önlemek ve dini inançlara uygunluğu denetlemektir. Tür tayininde immünolojik, morfolojik, elektroforetik veya genetik yöntemler kullanılabilir.

**Elektroforez (SDS-PAGE):** Proteinlerin molekül ağırlıklarına göre elektriksel alanda birbirlerinden ayrılmalarına dayanan bu metot elektroforetik yöntemlere örnek olarak verilebilir. Bu yöntemde aranan türe spesifik bir protein türü tespit edilmeye çalışılır.

**Genetik Yöntem (PCR):** Türe ait DNA taraması yapılır. Bu yöntemde üründen DNA izolasyonunu takiben PCR ile türe özgü nükleotid çoğaltılır. PCR ise üç aşamalı bir döngüden oluşur:

1. DNA denatürasyonu (95 oC)
2. Primerlerin DNA ipliklerine bağlanması (55-60 oC)
3. Uzama (yeni DNA ipliği sentezi) (72 oC)

Sonuçların incelenmesinde geleneksel PCR ve gerçek zamanlı PCR olmak üzere iki yöntem kullanılmaktadır. Geleneksel PCR’da, elde edilen DNA kopyaları floresan boyalarla ve jel elektroforez yöntemleri ile tespit edilir. Gerçek zamanlı PCR’da sentez sırasında ışıma yapan boyalarla işaretli problar kullanılır. Böylece her bir sentezde, anlık olarak, gerçekleşen ışıma tespit edilir ve ölçülür.

**ELISA Metodu:** İmmünolojik bir yöntemdir. Aranan türe özgü antijenler tespit edilmeye çalışılır. Türe özgü antijenlere spesifik olan antikorlar bir yüzeye yapıştırılır. Bu antikorlar numuneden elde edilen protein solüsyonu ile yıkanır. Aranan türe özgü antijenler antikorlara bağlanarak varlıkları tespit edilir.

**8. HAFTA**

**TBA TESTİ**

Oksidasyon gıdaların içerdiği yağlar ile oksijen arasında gerçekleşen ve kötü tat ve koku oluşumu ile sonuçlanan bir reaksiyon dizisidir. Her zaman az ya da çok kalite düşmesine neden olur (renk, tat ve kokuda değişimler, toksik bileşiklerin oluşumu…).

TBA testi ile et ve et ürünlerinde oksidasyon sonucu oluşan malonaldehitler belirlenerek oksidasyon hakkında bilgi edinilir. TBA testinin diğer yöntemlere göre avantajları ve dezavantajları vardır. Avantajları; 1) TBA sayısının belirli bir pik noktasından sonra düşüşü uzun zaman alır, 2) gıdadan alınan örnek direkt kullanılır, ekstraksiyona gerek kalmaz. Dezavantajları; 1)Tam olarak spesifik değildir, TBA reaktifi ile reaksiyon veren diğer bileşikler sonucu etkiler, 2) Düşük miktarlardaki malonaldehitler tespit edilemez.

**Deneyin Yapılışı**

Malonaldehitlerin TBA ile reaksiyonu sonucu kırmızı renkli kompleks oluşumu ve spektrofotometre kullanılarak bu kompleksin 538 nm’deki absorbansının belirlenmesi ilkesine dayanır.

Kürlenmemiş etlerden 10 gram örnek alınıp saf su ile homojenize edilir. 4N HCl kullanılarak ortam pH’sı 1,5 dolayına getirilir. Toplam hacim 100 ml’ye tamamlanır. Karışım destilasyon düzeneğine bağlanır, 50 ml destilat toplanana kadar destilasyon devam eder. 5 ml destilat ve 5 ml TBA reaktifi cam tüpe alınır, karıştırılır, kaynar su banyosunda 35 dk bekletilir. Soğuduktan sonra 538 nm’de absorbans okunur. Kürlenmiş etlerde 10 gram örnek, 49 ml su, 1 ml sülfanilamid karıştırılır. 48 ml saf su ve 2 ml HCl eklenerek diğer işlemler aynen uygulanır.

**9. HAFTA**

**ET VE ET ÜRÜNLERİNDE pH VE LAKTİK ASİT TAYİNİ**

Kesim sonrası etin ulaştığı son pH değeri olgunlaşma, yumuşaklık, su bağlama kapasitesi, şişme özelliği, renk oluşumu, dayanıklılık gibi teknolojik özellikleri yakından ilgilendirir.

Fermente et ürünlerinde pH’ın düşürülmesi, dolayısıyla yapı oluşumu, dayanıklılık artışı ve tat-koku gelişimi, ette mevcut olan ve ilave edilen karbonhidratlardan laktik asit oluşumuna bağlıdır. olgunlaşmış fermente ürünlerde ana ürün laktik asittir. Laktik asit oluşumu starter kültür, şeker miktarı, tuz oranı ve etin başlangıç laktik asit miktarına göre değişir.

**Deneyin Yapılışı**

**pH Tayini**

10 gram örnek tartılır. Üzerine 100 ml su ilave edilerek öğütücüde iyice parçalanır, süzülür. Tampon çözelti ile kalibre edilmiş pH-metrede süzüntünün pH’sı okunur.

**Laktik Asit Tayini**

10 gram örnek 200 ml saf su ile öğütücüde parçalanır. Filtre kağıdından süzülür ve süzüntü hacmi 250 ml’ye tamamlanır. Bu çözeltiden 25 ml alınıp üzerine 75 ml saf su ilave edilir. Fenolftaleyn eşliğinde 0.01 N NaOH ile titre edilir.

**10. HAFTA**

**ET VE ET ÜRÜNLERİNDE TUZ TAYİNİ**

Tuz; sucuk, sosis, pastırma gibi ürünlerde temel katkı maddesidir. Tuz et ürünlerinde lezzet geliştirici, bağlayıcı, koruyucu olarak görev alır. Ürüne yeterli oranda tuz katılmadığında stabil olmayan, kıvamın ve tat/lezzetin iyi olmadığı ürünler oluşur. Yine tuz miktarı yetersiz olunca raf ömrü az, mikrobiyal gelişime açık, enzim aktivitesi yüksek bir ürün elde edilir.

**Deneyin Yapılışı**

**Mohr Yöntemi**

Çözeltiye geçen sodyum klorür (Nacl), serbest klorür miktarının saptanmasıyla ölçülür. Gümüş iyonu (Ag) ortamda bulunan tuzun Cl iyonu ile reaksiyona girerek sarı renkte çökelek oluşturup çöker. Tuz bittiği anda gümüş, kromat ile reaksiyona girer, kırmızı renkli AgCrO4 oluşur.

10 gram örnek bir miktar su ile öğütücüde parçalanır ve süzülür. Süzüntü hacmi 100 ml’ye tamamlanır. 10 ml süzüntü alınıp üzerine 10 damla potasyum kromat (K2CrO4) eklenir. 0,1 N gümüş nitrat (AgNO3) ile kiremit kırmızı renge kadar titre edilir.

**11. HAFTA**

**ET VE ET ÜRÜNLERİNDE NİŞASTA TAYİNİ**

Salam sosis gibi emülsifiye et ürünlerinde kullanılan katkı maddelerinden biri de nişastadır. Nişasta dolgu ve kıvam sağlayıcı bir katkı maddesidir. Emülsiyon oluşumundan sonra hamurda serbest halde kalan su nişasta ile bağlanır ve hamur belli bir kıvam kazanır.

**Deneyin Yapılışı**

**Nişasta Varlığının Belirlenmesi**

10-20 gram örnek tartılır. Üzerine 200 ml su eklenerek homojenize edilir. Karışıma 5 ml iyod-potasyum iyodür çözeltisinden ilave edilip karıştırılır. Nişasta varlığında renk maviye döner.

**Nişasta Miktarının Saptanması**

Örnekteki yağ sabunlaştırılır, proteinler hidroliz edilir. Nişasta hidroklorik asitte çözdürülür ve miktarı gravimetrik olarak belirlenir.

10 gram örnek tartılıp üzerine 50 ml %8’lik alkollü KOH çözeltisi eklenir ve 20 dakika ara sıra karıştırılarak su banyosunda ısıtılır. Hacim etanol ile 100 ml’ye tamamlanır ve çözelti 2000 rpm’de 5 dakika santrifüjleir. Sıvı kısım atılır. Kalıntı üzerine 25 ml etanol eklenip tekrar santrifüjlenir ve sıvı kısım atılır. Kalıntı üzerine 50 ml HCl çözeltisi (1/1’lik) ilave edilir, kalıntı çözünene kadar karıştırılır ve santrifüjlenir. Sıvı kısımdan 25 ml bir behere alınarak üzerine 75 ml etanol ilave edilir, karıştırılır. Beherin ağzı kapatılarak bir gece bekletilir. Çözelti önceden darası bilinen Gooch krozesinden süzülür, kurutulur ve tartılır.

**12. HAFTA**

**ET VE ET ÜRÜNLERİNDE BOYA ARANMASI**

Renk tüm gıdalarda olduğu gibi et ve et ürünlerinde de kaliteyi belirleyen en önemli faktörlerden biridir. Ayrıca, tüketici tercihlerini açısından da renk, et ve et ürünleri için en önemli kriterlerden biridir. Tüketici beğenisi için et ürünlerine hile amacıyla zaman zaman inorganik boyalar katılmaktadır. Et ve et ürünlerinde yapay boya maddeleri kullanmak yasaktır. Ancak; yumurta sarısı, kırmızı biber gibi doğal boyaların kullanılmasına izin verilmektedir. Örneğin, pastırma çemenindeki kırmızı renk, kırmızı biberden dolayı mı yoksa yapay Ponso 4R boyasından mı kaynaklanmaktadır? Bu sorunun cevabı yapılacak boya maddeleri analizleriyle belirlenmektedir.

Et ürünlerinde bulunabilecek boya maddeleri organik (karmen kırmızısı), inorganik (Ponso 4R) ve doğal boya maddeleri (kırmızı biberde bulunan karotin) olmak üzere 3 grupta incelenmektedir.

**Deneyin Yapılışı**

**Organik Boya Maddeleri Aranması**

50 gram homojenize edilmiş örnek behere konur. Üzerine eşit oranda karıştırılmış saf su ve gliserin karışımı ile %5lik sodyum salisilat karışımından yeterli miktarda eklenerek yarım saat sıcak su banyosunda ısıtılır. Süzgeç kağıdından süzülür. Süzüntü sarı renkli ise boya yoktur, kırmızı renkli ise süzüntünün 1/3’ü mezüre alınarak üzerine konsantre şap çözeltisinden 2-3 ml eklenir. 1-2 saat beklenir. Eğer kırmızı çökelek oluşmuşsa organik boya var demektir.

**İnorganik Boya Aranması**

Organik boya aranmasında elde edilen süzüntünün geriye kalanının üzerine 10 ml %10’luk potasyum bisülfit çözeltisi ve birkaç damla asetik asit eklenir. Daha sonra karışımın içine yağı önceden giderilmiş yün parçası atılır. Sıcak su banyosunda karışım ısıtılır. Yün parçası kırmızıya boyanır ve yıkamayla çıkmazsa inorganik boya var demektir.

**13. HAFTA**

**NİTRİT VE NİTRAT TAYİNİ**

Kürleme, etlerin nitrat veya nitrit veya her ikisinin varlığında tuz ile muamele edilerek işlenmesi, muhafaza edilmesi ve daha farklı görünüm, tat ve aromada ürünler haline getirilmesidir.

Et ürünlerinin kürlenmesinde nitrat ve nitritin fonksiyonları şunlardır:

* Göze hoş gelen parlak kırmızı rengin oluşumunu sağlarlar
* Et ürünlerinin farklı bir tat ve aroma kazanmalarını yardım ederler
* Antioksidan etkileriyle et ürünlerindeki yağların oksitlenmesini engellerler
* Bazı mikroorganizmaların çoğalmasını ve toksin salgılamasını engellerler

Nitrit insanlar tarafından kullanılmasına izin verilen ve ürün formülasyonuna giren tek toksik maddedir. Ayrıca, nitrit kanın oksijen taşımasından sorumlu hemoglobini oksijen taşıyamayan methemoglobine dönüştürebilir. Bu nedenle dokular oksijensiz kalabilir. Tedavi edilmezse kalıcı hasarlar oluşabilir. Bunlara ek olarak, nitrit, sekonder aminlerle reaksiyona girerek karsinojenik etkileri bulunan nitrozaminleri oluşturabilir. Belirtilen bu olası etkileri nedeniyle nitrit kullanımı için belli kurallar belirlenmiştir. WHO’nun belirlediği günlük alım dozu 0,2 mg/kg vücut ağırlığı’dır. Letal doz ise 15-20 mg/kg vücut ağırlığı’dır.

**Deneyin Yapılışı**

**Kalıntı Nitrat Tayini**

Özetle; örnek sıcak saf su ile ekstrakte edilir, proteinler çöktürülür ve süzülür. Ekstraksiyon sonucu er ürününden elde edilen nitratlar metalik kadmiyum ile nitrite indirgenir. Süzüntüye sülfanilamid ve N-1 naftilendiamin dihidroklorür katılarak kırmızı renk oluşturulur ve 538 nm’de absorbans ölçümü yapılır.

Bir erlene örnekten 10 g alınarak üzerine 5 ml doymuş boraks çözeltisi ve 100 ml 70°C sıcaklıkta saf su eklenir. Erlen su banyosuna konularak 15 dakika ısıtlır. Oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra erlen içerişine 2 ml Reaktif I (potasyum ferrosiyanat) ve 2 ml Reaktif II (çinko asetat) katılır. Erlen içeriği 200 ml’ye saf suyla seyreltilir, 30 dk bekletilir ve süzülür.

Süzüntüden 20 ml alınır ve kadmiyum kolonunun depo kısmına konur, üxerine 5 ml amonyak tampon çözeltisi katılır. Kolonun altından akan sıvı balonjojede toplanır. Depo kısmı tamamen boşalınca, depo kenarları 2 kez 15 ml saf su ile yıkanır. Yıkama suları kolona geçtikten sonra depo saf su ile doldurulur. Kolonun altından yaklaşık 100 ml sıvı toplanınca balonjoje alınır ve 100 ml’ye saf su ile tamamlanır.

Bu sıvıdan 25 ml bir balonjojeye alınır ve saf su ile 60 ml’ye tamamlanır. Üzerine 10 ml sülfanilamid çözeltisi ve 6 ml %44,5’lik HCl çözeltisi eklenir, karıştırılır ve karışım karanlık bir yerde 5 dk bekletilir. Bu sürenin sonunda 2 ml n-1 naftiletilendiamin dihidroklorür katılır, karıştırılır ve karışım oda sıcaklığında 10 dk bekletilir. Daha sonra karışım 100 ml’ye saf su ile tamamlanır. Çözeltinin absorbansı 538 nm’de okunur.

Nitrat (mg/kg örnek) =

m: Örnek ağırlığı

V: Kolondan elde edilen sıvı kısımdan alınan örnek hacmi

C: Örneğin absorbans değerine karşılık gelen kalibrasyon eğrisindeki konsantrasyon değeri

B: Nitrit miktarı (mg sodyum nitrit/kg örnek)

**Kalıntı Nitrit Tayini**

Kalıntı nitrit miktarının saptanmasında izlenen yol; örneğin ekstrakte edilmesi, proteinlerin çöktürülüp süzülmesi, süzüntüdeki nitritin sülfanilamid ve naftiletilendiamin dihidroklorür ile kırmızımsı azo bileşiği vermesi ve bu bileşğin 538 nm’de absorbansının okunması şeklindedir.

Bir erlene 10 g örnek alınır ve üzerine 5 ml doymuş boraks çözeltisi ve 100 ml 70°C sıcaklıkta saf su eklenir. Erlen su banyosuna konularak 15 dakika ısıtlır. Oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra erlen içerişine 2 ml Reaktif I (potasyum ferrosiyanat) ve 2 ml Reaktif II (çinko asetat) katılır. Erlen içeriği 200 ml’ye saf suyla seyreltilir, 30 dk bekletilir ve süzülür.

Süzüntüden 25 ml bir balonjojeye alınır ve saf su ile 60 ml’ye tamamlanır. Üzerine 10 ml sülfanilamid çözeltisi ve 6 ml %44,5’lik HCl çözeltisi eklenir, karıştırılır ve karışım karanlık bir yerde 5 dk bekletilir. Bu sürenin sonunda 2 ml n-1 naftiletilendiamin dihidroklorür katılır, karıştırılır ve karışım karanlıkta 10 dk bekletilir. Daha sonra karışım 100 ml’ye saf su ile tamamlanır. Çözeltinin absorbansı 538 nm’de okunur.

Nitrit (mg/kg örnek) =

m: Örnek ağırlığı

V: Kolondan elde edilen sıvı kısımdan alınan örnek hacmi

C: Örneğin absorbans değerine karşılık gelen kalibrasyon eğrisindeki konsantrasyon değeri