

## Et Ürünlerinde Nitrosamin Oluşumunun Laktik Asit Bakterileri Kullanımıyla Önlenmesi

Ar. Gör. Uz. Halil VURAL, Yrd. Doç. Dr. Aydın ÖZTAN

H. Ü. Gıda Mühendisliği Bölümü — ANKARA

1950'li yıllardan sonra kanser olaylarında ki artışlar, kanser etmenlerinin araştırılmasının hızlandırmış, bu etmenlerden biri olan kimyasal kanserojenler grubunda yer alan nitrosaminler üzerinde de oldukça fazla çalışmalar yapılmıştır. Nitrosaminler, kuvvetli kanserojenik etkili maddeler olmaları yanında, mutajenik ve teratojenik etki de gösterirler. Nitrosaminler, nitratların bakteriyal indirgenmesiyle veya gıdalara katılan nitritle aminlerin reaksiyonu sonucu oluşurlar. Bu bileşenlerin bir çok gıda türünde bulunduğu saptanmıştır (GRAY ve RANDALL, 1979; VURAL ve TABAK, 1990).

### N-NİTROSAMİNLERİN OLUŞUMU

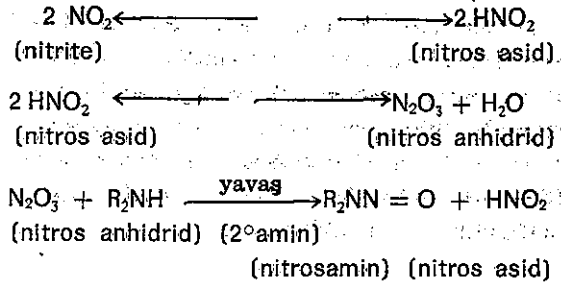
N-Nitrosaminler; primer, tersiyer ve özellikle Sekonder aminlerle nitritin reaksiyonu sonucu oluşurlar. Et ve et ürünlerinde; putrescin, tiramin, piperidin, morfolin, pirrolidin, di-n-propilamin, dimetilamin, histamin, kadaverin, trimetilamin, 2-feniletilamin, n-propilamin, isopropilamin gibi aminlerin varlığı saptanmıştır (PATTERSON ve MOTTRAM, 1974; LAKRITZ ve ARK., 1975; RICE ve ARK., 1975; SINGER ve LIJINSKY, 1976; VANDEKERCKHOVE, 1977).

Nitrit ise: et ürünlerinin kürlenmesinde kullanılan temel bileşendir. Et ürünlerinde 4 farklı işlevi birarada yerine getirmektedir.

1. Et ürünlerinin kendine özgü renginin oluşumunda rol alır (WIRTH, 1989).
2. Et ürünlerinin orinal tat-koku ve aromasını oluşturur (GRAY ve ARK., 1981).
3. Yağ oksidasyonunun önlenmesinde rol alır, antioksidan etkilidir (MORRISSEY ve TICHIVANGANA, 1985).
4. Et ürünlerinde büyük risk faktörü olan **Clostridium botulinum** bakterisinin üremesini ve toksin oluşumunu önler, antimikrobiyal etkilidir (TOMPSON ve ARK., 1977).

Aminler ve nitrit arasındaki reaksiyon değişik aşamalardan geçer. Nitrit direkt aminlerle reaksiyon vermez, fakat nitros anhidrite ( $N_2O_3$ ) dönüşerek reaksiyon verir (Şekil 1). Nitritin bu dönüşümü asidik şartlarda olasıdır. Bununla beraber, ortam çok asidikse, amin proton alıp, nitros anhidritle reaksiyon veremeyebilir. Bu reaksiyonlar için optimum ortam pH'sı 2-4'dür (HOTCHKISS ve CASSENS, 1987).

### Şekil 1. N-nitrosaminlerin oluşum reaksiyonları



Amin ve nitritten nitrosamin oluşumu; aminlerin yapısına, reaktiflerin konsantrasyonuna, pH'ya, reaksiyonun ortam sıcaklığına ve ortamda mevcut bazı inorganik iyonların varlığına bağlı olarak değişir (WOLFF ve WASSERMAN, 1972; MIRVISH ve ARK., 1973). Nitrosamin oluşum oranı, nitrit konsantrasyonuna da direkt bağlıdır (MIRVISH, 1975).

### N-NİTROSAMİNLERİN TOKSİKOLOJİSİ

N-Nitrosaminlerin başlıca tehlikesi, güçlü kanserojenik etkin maddeler olmalarından kaynaklanmaktadır. N-nitrosaminlerin kanserojenik etkiye sahip oldukları ilk defa 1954 yılında dimetil nitrosamin (DFNA)'ın farelerin karaciğerinde tümörlere neden olması ile saptanmıştır. 1964 yılında koyun ve maymunlara yedirilen ve yüksek oranda DMNA içeren balık unu yeminin bu hayvanların karaciğerinde kanserojenik kümörlere neden olduğu görülmüştür (GÖKALP, 1984).

Nitrosaminlerin kanserojenik etkisi, 30'dan fazla hayvan türü üzerinde test edilmiş ve hep-

sinde etkili bulunmuştur. Nitrosaminlerin yapısı ve kanser oluşturdukları primer organlar arasında ilişki vardır örneğin; siçanda simetrik diaalkilnitrosaminler karaciğer kanseri oluştururken, simetrik olmayan diaalkiller, molekül ağırlıkları aynı olsa bile, yemek borusu kanseri yaparlar (HOTCHKISS ve CASSENS, 1987).

Kanserojenik etkinin seçiciliği üzerine alınan doz miktarının rolü de araştırılmıştır. Nitrosodietilamin (NDEA) uzun süre küçük dozlar halinde verildiğinde karaciğer tümörü oluşmasına karşın, kısa sürede veya birkaç büyük doz halinde verildiğinde daha çok böbrek tümörü oluşturmaktadır (ŞANLI, 1984).

N-nitrosaminler, kanserojenik etkileri yanında, hücreler içinde DNA'ya etki ederek mutajenik ve embriyopatik etki de gösterirler. N-nitrosaminlerin deney hayvanları üzerinde saptanan kanserojenik, teratojenik ve mutajenik etkilerini insanlar üzerinde gösterip göstermediği direkt bilinmiyor, fakat insanlarda da aynı etkileri gösterebileceği tahmin ediliyor (GRAY ve RANDALL, 1979; GÖKALP, 1984; HOTCHKISS ve CASSENS, 1987).

### N-NİTROSAMİN OLUŞUMUNUN İNHİBİSYONU

Baconda N-nitrosopirrolidin (N-Pyr) oluşumu. Ortama eklenen nitrit konsantrasyonu ile direkt bağlantılıdır (GRAY ve RANDALL, 1979). Baconda kalıntı nitrit konsantrasyonu, kürlenme prosesinde laktik asit starter kültürlerinin kullanımıyla azaltılabilir. Kürlenme salamurasına laktikasit kültürleri ve fermente şekerler ilave edilirse, ürün pH'sı düşecek, normale göre daha düşük pH derecelerinde artık nitrit harcanacaktır. Baconda üretim prosesinde dumanlama aşamasında ve bunu izleyen aşamalarda, laktik asit bakterileri ürer ve kürlenmede ek-

nen fermente şekerleri kullanarak ürün pH'sını düşürür, pH'nın düşürülmesi, nitrit kullanımını hızlandırır. (ANRRES, 1979; BACUS, 1979; BACUS ve BROWN, 1981; SMITH ve PALUMBO, 1981; SMITH ve PALUMBO, 1983).

Sonuçta, baconda artık nitrit içeriğindeki azalmaya yararlı olarak nitrosamin oluşum oranı da azalır (Çizelge 1) (BACUS ve BROWN, 1981).

Nitrit miktarının düşürülmesi, nitrosamin oluşumunun azaltılmasında etkin bir yol olarak görülmekle beraber, bu da **C. botulinum** riskini artırmaktadır. Wisconsin Üniversitesi'nde yapılan bir çalışmada (TRAISMAN, 1984), nitrit miktarı düşürülüp, starter kültürlerle kombineli çalışılırsa, hem nitrosamin oluşumunun, hem de **C. botulinum** riskinin azaldığı saptanmıştır.

Wisconsin Üniversitesi Gıda Araştırma Enstitüsü ve Amerikan Ziraat Teşkilatı (USDA)'nın birlikte yaptıkları bu çalışmada starter kültür ve fermente olabilen sübstrat kullanımıyla, baconda **C. botulinum** gelişimi ve nitrosamin oluşumu üzerine nitrit konsantrasyonunun etkileri incelenmiştir. Bacon örnekleri üç farklı şekilde hazırlanmıştır.

1. 120 ppm nitrit, şeker içermeyen örnek (kontrol grubu).
2. 80 ppm nitrit, % 0,7 şeker ve starter kültür içeren örnek.
3. 40 ppm nitrit, % 0,7 şeker ve starter kültür içeren örnek.

1000 **C. botulinum** spor/9 aşılansız, vakum paketlenip, 27°C'da inkübasyona bırakılmıştır. Kızartma süresince nitrosamin oluşumu ve botulinol üreme incelenmiştir. Analize alınan 30 örnekte N-Pyr sonuçları kontrol grubu örneklerde 5,2-38 ppb, 80 ppm'liklerde 0,5-8,5 ppb, 40 ppm'liklerde 0,5-2,2 ppb şeklindedir.

Çizelge 1. 21 gün 4°C'de bekletilen bacon analiz sonuçları

Örnekler	Artık nitrat	pH	Nitrosopirrolidin
Starter kültürsüz	20 - 40 ppm	6,0 - 6,4	10 - 30 ppb
Starter kültürlü	4 - 16 ppm	5,2 - 5,6	2 - 9 ppb

Laktik asit kültürlerinin gıdalarda özellikle bacadon kullanımı, nitrosaminleri azaltmak veya elimine etmek için Amerikan Ziraat Teşkilatı (The Federal Meat Inspection Act, 9 CFR 318.7) ve Gıda ve İlaç Teşkilatı -FDA- (21 CFR 133.113) tarafından önerilmektedir (BACUS ve BROWN, 1981).

*Lactobacillus plantarum* varyeteleri içeren ticari starter kültürler kullanıldığında hem besiyesinde, hem de et ortamında nitrat redüktaz aktivitesiyle nitrat nitrite indirgenir (SMITH ve PALUMBO, 1978). *L. plantarum* içeren starter kültür karışımları, fermente şeker içeren sucuk hamurunun pH'sını daha da düşürürler. Nitrat indirgeyici kapasitesi de gözönüne alındığında, nitrit ve sekonder aminlerden nitrosamin oluşumu önlenir (SMITH ve PALUMBO, 1983).

Fermente et ürünlerindeki nitrit içeriği düşüktür, çünkü artık nitrit sucuk mikroflorasıyla amonyuma indirgenir. Genelde 10 mg/kg'dan daha az nitrit vardır (WIRTH, 1983).

*L. plantarum* ve *Pediococcus Cerevisiae* (Lactacel CM) starter kültürleri ve 0; 50; 100; 1500 ppm nitrit, 0; 500; 1500 ppm nitrat kullanılarak üretilen Türinger tipi fermente sucuklarda nitrosamin analizi yapılmış ve sonuçta hiç bir örnekte nitrosamin belirlenmemiştir (DETHMERS ve ARK., 1975). KUEPER ve TRELEASE (1975)'de yaptıkları çalışmada denemeye aldıkları yaz sucuklarının (yarı-kurutulmuş fermente sucuklar) hiçbirinde nitrosamin saptamamışlardır.

Amerikan İlaç Teşkilatı'nca yapılan bir çalışmada (ANONYMOUS, 1980) 6 farklı şekilde hazırlanan kurutulmuş ve yarı-kurutulmuş sucuk örnekleri, bağımsız laboratuvarlar ve Teşkilat Laboratuvarları'nd aDMNA ve N-Pyr yönünden analizlenmiştir. 91 örneğin 82'sinde

N-Pyr saptanmamıştır. Dokuz örnekte saptanabilir düzeyde N-Pyr bulunmuştur. Deneme sonuçlarına göre, kurutulmuş sucuklar, yarı kurutulmuşlara göre N-Pyr oluşumuna daha eğilimlidirler.

Bağımsız laboratuvarlarda yapılan analizlerde 31 örneğin 48'inde 1-9 ppb DMNA saptanmış, Teşkilat laboratuvarlarında yapılan analizlerde örneklerin hiçbirinde DMNA saptanmamıştır. Farklılığın analiz yöntemlerinden gelebileceği belirtilmiştir.

Nitrosaminler: gerek doğal fermentasyonla, gerekse laktik asit starter kültürleri (*P. cerevisiae* ve *L. plantarum*) ile hazırlanan nitratla kürlenmiş lebanon bologna'da saptanmamıştır (PALUMBO ve ARK., 1974).

Almanya'da yapılan bir çalışmada, fermente et ürünlerinde düşük miktarlarda nitrosaminler saptanmıştır. Üretilen 14 fermente et ürününde ortalama DMNA miktarı 2 ppb olarak bulunmuştur (KÜHNE ve MIRNA, 1981).

## SONUÇ

Kanserojenik nitrosaminlerle ilgili son yıllarda oldukça fazla çalışmalar yapılmıştır. Çalışmaların çoğunda, et ürünleri için vazgeçilemez bir katkı maddesi olan nitrit ve nitritten kaynaklanan nitrosamin sorununun önlenmesi en fazla ilgi çeken alanlardan biridir. Laktik asit bakterisiyle nitrosamin oluşumunun önlenmesinde temel olay, pH'nın düşürülmesi ve düşük pH'da artık nitritin harcanması ve nitrosamin oluşumuna kaymamasıdır.

N-nitrosamin analizi oldukça güç ve kompleksdir. Ülkemizde, insan sağlığı için çok önemli bu komponentlerin analizini yapabilecek komple laboratuvarlar kurulması ile hedefimiz olmalıdır.

## KAYNAKLAR

ANDRES, C. 1979. Starter Culture Reduces Residual Nitrite in Bacon. Food Processing, 40: 56 - 58.

ANONYMOUS, 1980. A Survey of Nitrosamines in Sausages and Dry-Cured Meat Products. Food Tech., 34: 45 - 51, 53, 102.

TOMPkin, R.B., L.N. CHRISTIANSEN, A.B. SHAPARIS. 1977. Variation in Inhibition of *C. botulinum* by Nitrite in Perishable Canned Comminuted Cured Meat. J. Food Sci., 42: 1046 - 1048.

- TRAISSMAN, E. 1984. Lactic Acid Cultures for Meat Preservation. In Proceedings of the 10th Ann. Tech. Seminar, ABC Research Corp., Gainesville. Feb. 27 - 29.
- VANDEKERCKHOVE, P. 1977. Amines in Dry Fermented Sausage. *J. Food Sci.*, 42: 283 - 285.
- VURAL, H., G. TAKAK. 1990. Kanserojenik N-Nitrosaminlerle İlgili Yeni Gelişmeler. *Türk Hemsireler Derg.*, 39: 37.
- WIRTH, F. 1983. Technologische Bewertung der neuen Pökelfstoffregelung. *Fleischwirtschaft*, 63: 532, 534, 537 - 542.
- WIRTH, F. 1989. Salzen und Pökeln von Kochwurst und kochpökelfleisch. *Fleischwirtschaft*, 69: 294 - 307.
- WOLFF, I.A., A.E. WASSERMAN. 1972. Nitrites, Nitrites and Nitrosamines. *Science*, 177: 15 - 19.
- BACUS, J.N. 1979. Reduces Nitrosamines. *Food Eng.*, 51: 24 - 28.
- BACUS, J.N., W.L. BROWN. 1981. Use of Microbial Cultures: *Meat Food Tech.*, 35: 74 - 78, 83.
- DETHMERS, A.E., H. ROCK, T. FAZIO, R.W. JOHNSTON. 1975. Effect of Added Sodium Nitrite and Sodium Nitrate on Sensory Quality and Nitrosamine Formation in Thüringer Sausage. *J. Food Sci.*, 40: 491 - 495.
- GÖKALP, H.Y. 1984. N-Nitroso Bileşikleri, Kanserojenik Etkileri, Çeşitli Gıdaların N-Nitrosamin İçerikleri ve Çeşitli Kaynaklardan Bünyeye Alınan N-Nitrosamin Miktarları. *GIDA*, 9: 317 - 324.
- GRAY, J.I., C.J. RANDALL. 1979. The Nitrite/N-Nitrosamine Problem in Meats: An Update. *J. Food Prot.*, 42: 168 - 179.
- GRAY, J.I., B. MACDONALD, A.M. PEARSON, I.D. MORTON. 1981. Role of Nitrite in Cured Meat Flavor: A Review. *J. Food Prot.*, 44: 302 - 312.
- HOTCHKISS, J.H., R.G. CASSENS. 1987. Nitrate, Nitrite and N-Nitroso Compounds in Foods. *Food Tech.*, 39: 127 - 136.
- KUEPPER, T.V., R.D. TRELEASE. 1974. Variables Affecting Botulinum Toxin Development and Nitrosamine Formation in Fermented Sausages. In Proceedings, Meat Industry Research Conference, 69 - 74. American Meat Institute Foundation, Washington.
- KÜHNE, D., A. MİRNA. 1981. Zur Bestimmung von N-Nitrosaminen in Fleischwaren. *Fleischwirtschaft*, 61: 111 - 114.
- LAKRITZ, L., A.M. SPINELLI, A.E. WASSERMAN. 1975. Determination of Amines in Fresh and Processed Pork. *J. Agric. Food Chem.*, 29: 344 - 346.
- MIRVISH, S.S., J. SAMS, T.Y. FAN, S.R. TANNENBAUM. 1973. Kinetics of Nitrosation of the Amino Acids Proline, Hydroxyproline and Sarcosine. *J. Nat. Cancer Inst.*, 51: 1833 - 1840.
- TANNENBAUM, 1973. Kinetics of Nitrosation of the Amino Acids Proline, Hydroxyproline and Sarcosine. *J. Nat. Cancer Inst.*, 51: 1833 - 1840.
- MIRVISH, S.S. 1975. Formation of N-Nitroso Compounds: Chemistry, Kinetics and In Vivo Occurrence. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 31: 325 - 351.
- MORRISEY, P.A., J.Z. TICHIVANGANA. 1985. The Antioxidant Activities of Nitrite and Nitrosylmyoglobin in Cooked Meats. *Meat Sci.*, 14: 175 - 190.
- PALUMBO, S.A., J.L. SMITH, K.M. GENTILCORE, W. FIDDLER. 1974. Investigation on The Possible Occurrence of Nitrosamines in Lebanon Bologna. *J. Food Sci.*, 39: 1257 - 1258.
- PATTERSON, R.L.S., D.S. MOTTRAM. 1974. The Occurrence of Volatile Amines in Uncured and Cured Pork Meat and Their Possible Role in Nitrosamine Formation in Bacon. *J. Sci. Food Agric.*, 25: 1419 - 1425.
- RICE, S., R.R. ELTENMILLER, P.E. KOEHLER. 1975. Histamine and Tyramine Contents of Meat Products. *J. Milk Food Tech.*, 38: 256 - 258.
- SMITH, J.L., PALUMBO, S.A. 1978. Reduction of Nitrate in a Meat System by *Lactobacillus plantarum*. *J. Appl. Bacteriol.*, 45: 153 - 155.
- SMITH, J.L., S.A. PALUMBO. 1981. Microorganisms as Food Additives. *J. Food Protec.*, 44: 936 - 955.
- SINGER, G.M., W. LJINSKY. 1976. Naturally Occurring Nitrosatable Compounds. I. Secondary Amines in Foodstuffs. *J. Agric. Food Chem.*, 24: 550 - 555.
- ŞANLI, Y. 1984. Ankara Piyasasında Satılan Bazı İşlenmiş Et Ürünlerinde Şekillenebilen Nitrosamin Türevleri Üzerinde Bir Araştırma. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 31: 260 - 280.