

## 1.7. Kürlenmiş Et Ürünlerinde Yapılan Analizler

Kürlenmiş et ürünlerine özgü analizler şu şekilde sıralanabilir :

- Kalıntı nitrat varlığının saptanması ve miktarının belirlenmesi
- Kalıntı nitrit varlığının saptanması ve miktarının belirlenmesi
- Nitrosomyoglobin oluşum düzeyinin saptanması
- Nitrosamin varlığının belirlenmesi

Nitrat ve nitritin et ürünlerinde katkı maddesi olarak kullanımı oldukça eskidir. 1900'li yılların başında Polenske, tuzlanmış et ürünlerinde iyi bir kırmızı renk oluşumu için tuzun yalnız başına bunu sağlayamadığını, tuza doğal olarak bulaşmış sodyum ve potasyum nitratın kırmızı renk oluşumunu çok daha iyi geliştirdiğini çalışmaları sırasında gözlemlemiştir. Bundan sonra, curing (kürleme) sözcüğü; yenilebilir etlerin nitrat veya nitrit veya her ikisinin varlığında tuz ile muamele edilerek işlenmesi, muhafaza edilmesi ve daha değişik görünüm, tat ve aromada ürünler haline getirilmesi anlamında kullanılmaya başlanmıştır.

Nitrat ve nitrit et ürünleri kürlenmesinde asırlardır kullanılmasına karşın, bilinçli olarak ilk defa nitrat kullanımı, 1914 yılında tavuk etlerinin korunması amacıyla ete potasyum nitrat katılması ile başlamıştır. Nitrat/nitrit kullanımı bu tarihten sonra hızlı bir şekilde yaygınlaşmıştır. Bugün dünyada 250 kadar değişik tipteki sosis ve yüzlerce çeşitteki diğer et ürünlerine nitrat/nitrit katılmakta ve bu şekilde üretilen et ürünleri günde binlerce tonu bulmaktadır.

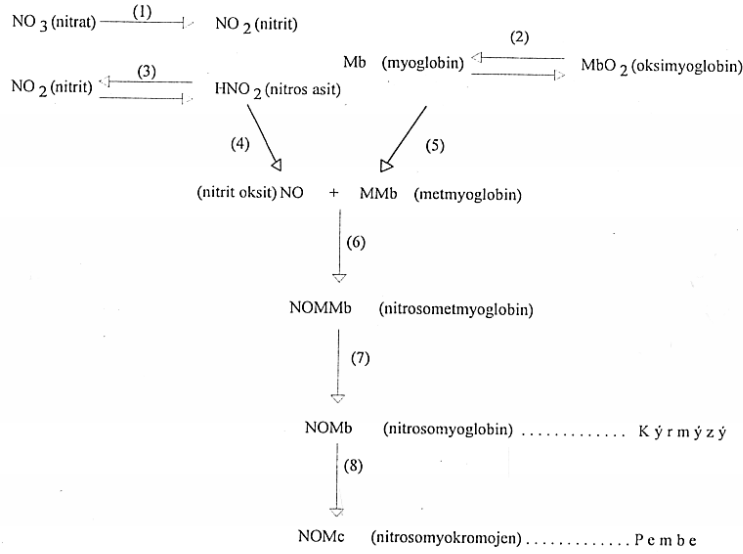
Et ürünlerinin kürlenmesinde nitrat ve nitritin fonksiyonları şu şekilde sıralanabilir :

- Nitrat ve nitrit, kürlenmiş et ürünlerinin göze hoş görünen parlak kırmızı renginin oluşumunu sağlarlar (Wirth, 1989),
- Kürlenmiş et ürünlerinin kendilerine özgü tat ve aroma kazanmalarına yardım ederler (Gray et al., 1981),
- Nitritin antioksidan özelliği vardır. Bu nedenle et ürünlerinde yağların oksitlenmesi ile oluşan ransidite oluşumunu büyük oranda engellerler (Morrissey ve Tichivangana, 1985),
- Uygun düzeydeki nitrit, tuz ile birlikte et ürünlerinde çok tehlikeli olan *Clostridium botulinum* bakterisinin çoğalmasını ve toksin salgılamasını engeller (Tompkin et al., 1977).

Et kürlemesinin tam olarak anlaşılabilmesi için, et pigmentlerinin ve kürleme sırasında oluşan reaksiyonlarının bilinmesi gerekir. Myoglobin, hemoglobin, stokrom, katalaz, flavin gibi birçok renk pigmenti etin yapısında yer almaktadır. Miktarca en fazla bulunanlar myoglobin ve hemoglobindir. Et kürlenmesinde en etkin pigment de myoglobindir.

Nitrat/nitrit; renk üzerine tuzun istenmeyen etkilerinin önlenmesinde kullanılırlar. Amaç, taze etin doğal rengini et ürünlerinde de sağlamaktır. Etteki pigmentler, nitrit oksitle reaksiyon verirler. Nitrit oksit, hemoglobin ve myoglobin yanında, sitokrom, oksidaz, peroksidaz ve katalaz gibi porfirin içeren bileşenlerle de kompleksler oluşturabilir (Vural ve Öztan, 1992).

Nitrat ve nitrit renk stabilizasyonu için kürlemede kullanılırken şu yol iziyle reaksiyona uğrarlar :



- (1) Eğer kürleme maddesi olarak nitrat kullanılmışsa, bakteriyal indirgenmeyle önce nitrite dönüşür. Et florasında mevcut bakteriler veya fermente et ürünlerine dışarıdan katılan nitrat redüktaz içeren mikroorganizmalarca dönüşüm gerçekleştirilir (Wirth, 1986).
- (2) Ette ortam koşullarına ve özellikle kesimden hemen sonra oksijen varlığına bağlı olarak myoglobin ve oksimeyoglobin denge halindedir (Forrest and Birdsall, 1980).
- (3) Yüksek hidrojen iyon konsantrasyonunda bu denge geçerlidir. Düşük pH'da nitrit hidrojen alarak nitros asit formuna geçer (Ranken, 1981).
- (4) Nitros asitten, nitrit oksit oluşum aşaması bir indirgenme reaksiyonudur. Bu reaksiyon, dışarıdan indirgeyici ajanlar eklenmediği normal koşullarda ette mevcut sitokrom enzim sistemi ve sülfidril gruplarından etkilenir (Fox and Ackerman, 1968; Potthast, 1987).
- (5) Oksidasyon basamağıdır. Myoglobindeki demir (Fe<sup>+2</sup>), metmyoglobinde (+3) değerine okside olur. Ortamda nitrit varsa bu aşama hızla gerçekleşir (Cassens, et al., 1979).
- (6) Nitritten gelen nitrit oksit ve etten gelen metmyoglobin kendiliğinden ve ani gerçekleşen bir reaksiyon ile nitrosometmyoglobini oluşturur (Kramlich et al., 1973).
- (7) Bir indirgenme basamağıdır. Ette mevcut indirgeyici ajanlar tarafından etkilenir. Demir (+3) formundan, (+2) formuna geçer. Isıl işlem uygulanmayan ürünlerdeki temel renk pigmenti nitrosomeyoglobin oluşur (Kramlich et al., 1973).
- (8) Isıl işlem gören ürünlerde, nitrosomeyoglobin molekülünün protein kısmının ısıyla denatürasyonu sonucu, nitrosohemokromojen elde edilir ki, renk parlak kırmızıdan kalıcı pembeye dönüşür (Bard and Townsend, 1971; Kramlich et al., 1973; Lawrie, 1979).

Nitrosomyoglobin oluşumundaki temel bileşenler nitrit ve myoglobindir. İyi bir rengin elde edilmesi için fazla nitrit kullanımı yerine, hammaddede yeterli myoglobinin var olması yeterlidir. Et ürünlerinde renk oluşumunun sağlanması için 30-50 ppm nitritin yeterli olduğu belirlenmiştir (Wirth, 1986).

Nitrosomyoglobin oluşumunu etkileyen faktörlerden biri ortam pH'sıdır. Nitritten nitros asid oluşumu için ortam pH'sının 5,2-5,4, nitrosomyoglobin oluşum aşamasında 5,4-5,5 olması durumunda optimum düzeyde oluşum gerçekleşir (Bischoff et al., 1982).

Nitrosomyoglobin oluşumunu etkileyen faktörlerden biri de; kullanılan kürlleme yardımcı maddeleridir ki, en önemlisi askorbik asit ve tuzlarıdır. Askorbik asit ve tuzları nitrosomyoglobin oluşumunda indirgeyici görev yapmaktadırlar. Nitrosomyoglobin oluşum reaksiyonlarında indirgenme aşamaları olan (4) ve (7) nolu reaksiyonların hızlandırılmasında görev alırlar. Hamura eklenen kürlleme yardımcı maddeleri renk oluşumunu hızlandırır, homojen kırmızı rengin oluşumunu sağlar ve üründe kalıntı nitrit miktarını düşürür (Bauernfeind et al., 1954; Ranken, 1981).

Kürlleme yardımcı maddeleri nitrit oksit oluşumunu kolaylaştırırken, aynı zamanda nitrit kullanımında da 1/3'lük bir tasarruf sağlar.



**Askorbik asitli tepkime**



Yukarda verilen tepkimelerden de görüleceği gibi askorbik asit kullanımında 2 mol NO için 2 mol nitros asit kullanılırken, doğal tepkimede 3 mol nitros aside gereksinim duyulmaktadır. Böylece kürlleme yardımcı maddeleri kullanıldığında 150 ppm nitrit yerine 100 ppm nitrit kullanımı aynı işlevi yerine getirmektedir (Ranken, 1981).

**Çizelge 1.7.** Farklı Starter Kültür Kullanımı İle Üretilen Sucuklarda NOMb Dönüşüm Oranları (%) (Vural ve Öztan, 1992)

|        |       | S T A R T E R K Ü L T Ü R L E R |       |       |       |       |       |       |
|--------|-------|---------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Günler | K*    | S.K-1**                         | S.K-2 | S.K-3 | S.K-4 | S.K-5 | S.K-6 | S.K-7 |
| 1      | 23,48 | 23,15                           | 26,53 | 29,52 | 26,95 | 24,43 | 21,10 | 22,66 |
| 2      | 32,05 | 37,93                           | 42,13 | 54,33 | 51,28 | 46,53 | 42,52 | 45,41 |
| 3      | 28,56 | 69,16                           | 66,64 | 71,71 | 68,73 | 60,35 | 62,49 | 61,12 |
| 4      | 31,75 | 47,86                           | 31,66 | 71,51 | 62,00 | 55,31 | 56,45 | 60,92 |
| 7      | 24,53 | 42,18                           | 59,77 | 58,74 | 61,97 | 49,32 | 55,18 | 68,45 |
| 10     | 25,79 | 42,65                           | 46,49 | 48,38 | 62,09 | 38,46 | 57,47 | 59,96 |

\*K: Kontrol

S.K: Starter Kültür

Nitritin et ürünlerinin tat ve aromalarını olumlu yönde geliştirdiği ve kürlenmiş et ürünlerinin kendilerine özgü tat kazanmalarında etkin olduğu pek çok araştırmacı tarafından belirtilmiştir (Gray et al., 1981).

Nitrit, et ürünlerinde oksidatif ransidite oluşumunu da önemli düzeyde engellemektedir. Nitritin ransiditeyi engellemedeki etkisinin, renk oluşumunu sağlayan reaksiyonlarla sağlandığı kabul edilmektedir. Et içinde oksitlenmiş konumda bulunan myoglobindeki demir (+3) yapısı yağ oksidasyonunu katalizler niteliktedir. Kürlenmiş etlerde nitrit oksidin myoglobinle reaksiyonu, renk pigmentinde demirin +2 konumda tutulmasının sağlar. Demir (+2)'nin yağ oksidasyonu üzerinde katalitik etkisi yoktur.

Nitrat/nitritin gıdalarda ve özellikle et ürünlerinde zehirleyici etkiye sahip olan *Clostridium botulinum*'un çoğalmasını ve toksin salgılamasını engellediği uzun yıllardır bilinmektedir. Yakın zamanlarda yapılan pek çok araştırma, kürlenmiş et ürünlerinde, tütsülenmiş balık, kümes hayvanı etlerinde ve çeşitli sosis, salam gibi ürünlerde nitritin *C. botulinum* çoğalmasını ve toksin salgılamasını engellediğini göstermiştir (Christiansen et al., 1973; 1975; Tompkin, 1978; Tompkin et al., 1977; 1978).

Ülkemizde et ürünlerine katılmasına izin verilen nitrit ve nitrat miktarları sırasıyla 150 ve 300 ppm ile sınırlandırılmıştır. Nitrat ve nitrit yalnız olarak ve küçük dozlarda bünyeye alındığında insan organizmasına olumsuz etkileri olmamaktadır. Fakat çok fazla miktarda nitrat/nitrit vücuda alınır veya gıdalara katılırsa, gıdalarda veya vücutta N-Nitroso bileşikleri oluşturarak kanserojenik etkilere neden olabilir (Gray and Randall, 1979; Gray et al., 1982).

**Çizelge 1.8.** Farklı Kuter Yardımcı Maddesi (K.Y.M) ve Farklı Nitrit Kullanımının pH, NOMb Dönüşüm Oranı ve Kalıntı Nitrit Miktarı Üzerine Etkileri (Özcan ve Ark., 1991)

| K.Y.M.  | Nitrit Mik.<br>(ppm) | pH   | NOMb Dön.<br>(%) | Kalıntı Nitrit<br>(ppm) |
|---------|----------------------|------|------------------|-------------------------|
| Kontrol | 100                  | 6,49 | 44,21            | 40,70                   |
|         | 125                  | 6,38 | 56,07            | 38,38                   |
|         | 150                  | 6,26 | 52,73            | 56,50                   |
| Katkı 1 | 100                  | 6,20 | 57,64            | 13,00                   |
|         | 125                  | 6,29 | 75,03            | 12,00                   |
|         | 150                  | 6,41 | 44,80            | 27,00                   |
| Katkı 2 | 100                  | 6,25 | 42,80            | 11,00                   |
|         | 125                  | 6,28 | 49,03            | 33,25                   |
|         | 150                  | 6,30 | 52,46            | 36,50                   |
| Katkı 3 | 100                  | 5,89 | 32,92            | 42,50                   |
|         | 125                  | 5,81 | 62,84            | 32,50                   |
|         | 150                  | 5,94 | 58,98            | 49,50                   |
| Katkı 4 | 100                  | 6,18 | 44,44            | 23,00                   |
|         | 125                  | 6,16 | 45,17            | 28,50                   |

## Nitrosomyoglobin Oluşumunun Saptanması

Hornsey (1956) tarafından bulunup, Zaika ve arkadaşlarının (1974) uyguladığı yöntem kullanılmaktadır. Yöntemin ilkesi, kurlenmiş et ürünlerinden aseton- saf su çözeltisiyle nitroso pigmentlerinin ekstraksiyonudur. Hidroklorik asit içeren çözelti kullanılarak da mevcut toplam pigmentler belirlenebilmektedir. Buradan toplam pigment içindeki nitrosomyoglobin yüzdesi saptanabilmektedir.

**Materyal:** Kurlmeden sonra 24 saat bekletilmiş ve homojen hale getirilmiş et ürünü örneği

### Kimyasal:

- Aseton
- Hidroklorik asit

### Araç-Gereç:

- Spektrofotometre
- Renkli cam şişeler
- Terazî

**Kurlenmiş pigmentlerin analizi:** 5 g örnek tartılıp, kahverengi cam şişeye konur. Üzerine 20 ml aseton+ 1.5 ml saf su içeren karışım eklenir. 5 dk hızlıca çalkalanıp süzülür. Santrifüj edilir. 540 nm’de 20 ml aseton+ 1.5 ml saf su içeren köre karşı okuma yapılır. ppm cinsinden nitrosomyoglobin bileşenlerinin miktarı 290 ile çarpılarak bulunur.

**Toplam pigment analizi:** 5 g örnek tartılıp, kahverengi cam şişeye alınır. Üzerine 20 ml aseton+ 1 ml saf su + 0.5 ml derişik HCl karışımından eklenir. Karıştırılan örnek yarım saat karanlıkta bekletilir ve sonrasında süzülür. 640 nm’de 20 ml aseton+ 1 ml saf su + 0.5 ml derişik HCl içeren köre karşı spektrofotometrede okunur. ppm cinsinden toplam pigment miktarı 680 çarpanı ile çarpılarak bulunur.

### Hesaplama:

$$\% \text{NOMB} = \frac{\text{NOMB (ppm)}}{\text{Toplam pigment (ppm)}} * 100$$