

Et Ürünlerinde Nitrat ve Nitrit Kullanımına Potansiyel Alternatif Yöntemler

Gülen Yıldız Turp^{1*}, Çisem Sucu²

¹Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bornova, İzmir, +90 232 3113038, gulen.yildiz.turp@ege.edu.tr

²Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Bornova, İzmir

*İletişimden sorumlu yazar / Corresponding author

Geliş / Recieved: 3 Haziran (June) 2016

Kabul / Accepted: 8 Ağustos (August) 2016

DOI: <http://dx.doi.org/10.18466/cbujos.70961>

Özet

Nitrat ve nitrit et ürünlerinde; karakteristik renk ve lezzetin gelişimine katkıda bulunması, lipid oksidasyonunu kontrol altına alması ve başta *Clostridium botulinum* olmak üzere patojen mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etki göstermesi nedenleriyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak bu katkılar, alım dozu, sıklığı ve şekline bağlı olarak akut ve kronik zehirlenmelere yol açarak insan sağlığı açısından risk oluşturmaktadırlar. Nitrat ve nitrit tek başına kanserojen olmayıp, pişirme veya sindirim sırasında diğer bileşenlerle birlikte reaksiyona girerek kanserojen form oluşturma potansiyeli taşımaktadırlar. Nitrat nitrite dönüşmekte, nitrit ise potansiyel olarak kanserojen olan nitrozaminlerin oluşumuna neden olmaktadır. Tüm Dünyada kullanımları ile ilgili yasal sınırlamalar bulunan bu katkıların sağlık üzerine etkileri tüketicilerde negatif algıya neden olmaktadır. Et ürünlerinde nitrat ve nitritin fonksiyonlarını gerçekleştirebilecek doğal katkı maddesi arayışlarına yönelik olarak yapılan çalışmalar, uzun yıllardır devam etmekle birlikte özellikle son yıllarda artış göstermiştir. Yapılan güncel çalışmalar, et ürünlerinde bitkisel kaynaklı doğal katkıların, organik asitlerin, mikrobiyal kaynakların kullanımı, ışınlama, yüksek basınç ve/veya engel teknolojisinin uygulanması ile formülasyonlardan nitrat ve nitritin çıkarılması veya miktarlarının azaltılması ve son üründe kalıntı nitrit miktarının azaltılması yönündedir. Uygulanan yöntem ve kullanılan katkıların kürlenmiş et ürünlerinde istenilen renk ve lezzet özelliklerinin gelişimi yanında mikrobiyal güvenliği ve oksidatif stabiliteyi sağlaması da hedeflenmektedir. Bu derleme, et ürünlerinde nitrat ve nitrit kullanımına alternatif olarak farklı katkıların ve yöntemlerin uygulanması yönünde yapılan güncel çalışmalara bir bakış sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler — et ürünleri, kalite, kanserojen, kürlenme, nitrat, nitrit.

Potential Alternative Methods to the Usage of Nitrate and Nitrite in Meat Products

Abstract

Nitrate and nitrite are widely used in meat products to contribute the development of characteristic color and flavor, take control the lipid oxidation and exhibit antimicrobial effect on pathogen microorganisms in the first instance *Clostridium botulinum*. However, these additives constitute the risk in terms of human health, causing acute and chronic

poisoning depending on intake dose, frequency, and manner. While nitrate and nitrite are not carcinogenic by themselves, they have the potential to form carcinogens by reacting with other compounds during cooking or digestion. Nitrate is converted to nitrite and nitrite leads to the formation of nitrosamines which are potentially carcinogenic. The health effect of these additives which have legal limitations regarding their usage all around the world causes a negative perception of consumers. Studies which are intended to research for natural additives to perform the functions of nitrates and nitrites in meat products have continued for long years and also increased especially in recent years. Current studies focus on the removal of nitrate and nitrite from the formulations or lessening their amounts and reduction of residual amounts of nitrite in the final product with the use of plant-derived natural additives, organic acids, microbial sources, the implementation of irradiation, high pressure and/or hurdle technology. The implementation of the method and the additives used in cured meat products are aimed to provide the microbial safety and oxidative stability as well as development of the desired color and taste characteristics. This review offers an overview of the current studies on the application of different additives and methods as an alternative to the use of nitrate and nitrite in meat products.

Keywords – meat products, quality, carcinogenic, curing, nitrate, nitrite

1 Giriş

Kürleme, et ürünlerine tuz, nitrat ve nitrit gibi katkı maddelerinin ve ürünün çeşidine göre çeşitli baharatların eklenmesi ile ürünün renk, doku, tat, aroma ve lezzet gibi özelliklerinin iyileştirilmesi ve dayanıklılığının artırılması amacıyla uygulanan bir işlemdir [1]. Temel bir katkı maddesi olan nitrit, et ürünlerinde karakteristik kurlenmiş et renginin, lezzet ve doku özelliklerinin geliştirilmesi ve özellikle *Clostridium botulinum* başta olmak üzere patojen mikroorganizmaların inaktivasyonu ve oksidatif acılaşıma oluşumunun engellenmesi için uzun yıllardır kullanılmaktadır [2, 3]. Ancak, nitrit, etteki sekonder aminlerle reaksiyona girerek kanserojen, teratojen ve mutajen özellikteki N-nitroso bileşenlerin oluşumuna neden olmaktadır [4,5,6]. N-nitroso bileşenlerinin oluşumu, kolorektal kanser başta olmak üzere bazı kanser türlerinin ortaya çıkma riskini arttırabilmektedir [7]. Günde 50 g işlenmiş et tüketimi ile kolorektal kanser riskinin %18 oranında arttığı bildirilmiştir [8]. Günümüzde tüketicilerin, et ürünlerinin tüketimi ile sağlık riskleri arasındaki ilişkiyi ortaya koyan benzer çok sayıda bilgilendirmeye maruz kaldığı ve buna bağlı olarak doğal katkılı et ürünlerine olan taleplerinin arttığı gözlenmektedir.

Et ürünlerinde nitrat ve nitritin fonksiyonlarını gösteren ve sağlık riski oluşturmayan alternatif katkıların kullanım imkanlarının araştırılması

yönünde uzun yıllardır çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Ancak nitrat ve nitrit kurlenmiş et ürünlerinin özellikleri üzerinde geniş bir aktiviteye sahip olduğu için henüz bu katkıların tüm fonksiyonlarını gerçekleştirebilecek düzeyde etkili alternatif tek bir katkı maddesi tespit edilememiştir. Yapılan güncel çalışmalar et ürünleri formülasyonlarında nitrat ve nitrit kullanımının ve üründe kalıntı nitrit miktarının doğal katkılarla, çeşitli katkıların kombinasyonlarıyla azaltılması ya da bu katkıların hiç kullanılmaması yönünde olup, son yıllarda bu alanda mikrobiyal kaynaklardan, organik asitlerden, yüksek basınç, ışınlama, engel teknolojisi uygulamalarından yararlanılması da dikkat çekicidir.

2 Nitrat ve Nitritin Et Ürünlerinde Kullanım Nedenleri

Nitrat pasif bir kürleme ajanıdır. Bu yüzden et ürünlerinde kürleme reaksiyonlarının gerçekleşebilmesi için nitratın daha aktif formda olan nitrite indirgenmesi gerekmektedir [9]. Bu indirgeme işlemi, ette var olan bakteriler tarafından veya nitrat redüktaz aktivitesi içeren bakterilerin ilavesi ile gerçekleşebilmektedir [10, 11]. Nitrat ancak uzun olgunlaşma süresine sahip et ürünlerinde kullanılabilir. Son yıllarda, doğal ve organik işlenmiş et ürünlerinin kurlenmesinde yaygın olarak nitrat kullanımına rastlanmaktadır [12]. Ülkemizde nitrat kullanımı yasal düzenlemeler ile önemli ölçüde kısıtlanmıştır.

Kürlenmiş et ürünlerinde nitrit; karakteristik rengin ve lezzetin gelişimini sağlamakta, *Clostridium botulinum* gelişimini [13], lipid oksidasyonunu ve oksidasyon sonucunda arzu edilmeyen lezzet oluşumunu kontrol altına alabilmektedir [14, 15, 16]. Renk oluşumu ve stabilitesi, işlenmiş et ürünlerinin kritik kalite özelliklerinin başında gelmektedir. Karakteristik kürlenmiş renk, hem pigmentlerinin (myoglobin, hemoglobin) konsantrasyonu, bu pigmentlerin kimyasal durumları ve eklenen katkı maddelerine göre değişim göstermektedir [17]. Et ürünlerinde arzu edilen rengin oluşumunu sağlayan nitrozomyoglobin (NO-Mb), bir dizi reaksiyon sonucunda meydana gelmektedir. Nitrozomyoglobin oluşum sürecini şu şekilde özetlemek mümkündür; nitrit oldukça aktif bir kimyasal olması nedeniyle, myoglobini metmyoglobine yükseltirken kendisi de azot monoksit (NO)'e indirgenmektedir. Ferrik demir iyonu (Fe⁺³) NO'e bağlanarak nitrozo metmyoglobin (NO-metMb)'i oluşturmaktadır. Fe⁺³ ette yaygın olarak bulunan indirgeyici bileşenler tarafından iki değerlikli demir iyonuna (Fe⁺²) indirgenerek, NO-Mb oluşumu gerçekleşmektedir [18, 19]. Isı uygulamasıyla myoglobinin protein kısmı denatüre olarak, kürlenmiş etlerin karakteristik açık pembe rengini oluşturan nitrozohemokrom pigmenti ortaya çıkmakta, renk sabitlenmektedir [20]. Pişmiş et ürünlerinde 2-14 mg/kg nitrit kullanımı arzu edilen pembe rengin oluşumunu gerçekleştirebilmekte, 40-50 mg/kg nitrit kullanımı ise homojen renk dağılımını sağlamakta ve zamanla rengin solmasını engelleyebilmektedir [11].

Nitrit bakteriyostatik ve bakterisidal etki göstermektedir [12]. Nitritin tek başına veya diğer tuzlarla birlikte kullanımı birçok aerobik ve anaerobik mikroorganizmanın gelişimini engellemektedir [21]. Nitritin, kürlenmiş et ürünlerindeki en bilinen ve önemli özelliği, *Clostridium botulinum* sporlarının gelişimini engellemesi ve botulizmi tamamen kontrol altına almasıdır [12]. Nitrit, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* ve *Clostridium perfringens* gibi diğer patojen mikroorganizmalar üzerine de antimikrobiyal etki gösterebilmektedir [20, 22]. Nitrit, bakterilerin metabolik enzimlerini inhibe etmeyi, oksijen alımlarını kısıtlamayı ve proton değişimlerini bozmayı hedef almaktadır. Bunlara ilave olarak, NO demiri bağlayarak enzim fonksiyonelliğini,

bakteri metabolizması ve gelişimi için gerekli olan demir ulaşılabilirliğini sınırlamaktadır [21, 23].

Nitritin indirgenmesi sonucunda oluşan NO, serbest radikal tutucusu olarak görev alarak, antioksidan özellik göstermektedir. NO'in birincil antioksidan etkisi, et pigmentinin hem demirini bağlayıp, stabilize etmesine ve pişirme süresince ortaya çıkan, lipid oksidasyonunun kuvvetli bir katalizörü olan serbest demir miktarının azaltılmasına dayanmaktadır [20].

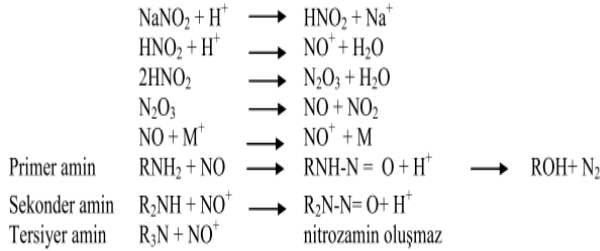
Kürlenmiş et ürünlerinde nitrit ile ilgili kimyasal reaksiyonların özgün lezzetin oluşmasında rol oynadığı düşünülmekte olup, bu reaksiyonlarla oluşan özel bileşenler halen bilinmemektedir [12]. Shahidi [24], kürlenmiş et ürünlerindeki karakteristik lezzetin lipid oksidasyonunun geciktirilmesinden dolayı acı, kokuşmuş lezzet eksikliğinden kaynaklandığını öne sürmüştür. Kürlenmiş et ürünlerinde tipik lezzet gelişimi için 50 mg/kg nitrit miktarının yeterli olduğu belirtilmiştir [12]. Uzun süreli olgunlaşma işlemine tabi tutulan kürlenmiş et ürünlerinde lezzet gelişimi için nitratın gerekli olduğu, ürüne daha fazla aroma ve lezzet yoğunluğu kazandırdığı bildirilmiştir [25].

3 Nitrozamin Oluşumu ve Etkileyen Faktörler

Nitrozaminler yüksek sıcaklıklarda nitrit ile aminlerin reaksiyonu sonucunda oluşmaktadır. Nitrozamin oluşumu için gerekli koşullardan biri ortamda amin bulunmasıdır. Taze ette amin miktarı oldukça az olup, olgunlaşma ve fermantasyon ile artmaktadır. Yalnızca ikincil aminler kararlı nitrozamin oluşturmada, birincil aminler ise hemen alkol ve azota parçalanmaktadırlar. Üçüncül aminler ise reaksiyona girmemektedirler. Bu koşullara ilave olarak, azot monoksit iyonu (NO⁺) oluşturmak için pH değeri yeterince düşük olmalı veya metal iyonları tutulmalıdır (Şekil 1)[26].

Nitrozamin, nitrat veya nitritin gıdalardan alınması ile insan vücudunda oluşabileceği gibi son üründe de oluşabilmektedir. Nitrozamin oluşumunu etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bu faktörler; et ürününe ilave edilen nitrit miktarı, etin kalitesi, yağ içeriği, diğer bileşenler, kurutma ve dumanlama süresince uygulanan ısıl işlem, olgunlaştırma ve depolama koşulları, ambalajlama şeklinde sıralanabilir [27].

Ayrıca bakteriler, sıcaklık (100-185 °C) ve pH değeri (3-7) de nitrozamin oluşumunda önemli rol oynamaktadır [28, 29, 30, 31]. Uygun fizyolojik şartlarda, kimyasal reaksiyon veya bakteriyel faaliyetlerle midede nitrozamin oluşumunun gerçekleşebildiği belirtilmiştir [32, 33].



Şekil 1. Nitrozamin oluşumundaki kimyasal reaksiyonlar (M/M⁺; Fe²⁺/Fe³⁺ gibi geçiş metal iyonlarını temsil etmektedir) [26].

Ortamda bulunan iyon ve diğer bileşiklerin de nitrozamin oluşumunda etkisi bulunmaktadır. Örneğin, tiyosiyanat iyonu bu oluşumu hızlandırırken, askorbik asidin engellediği [32, 34], ayrıca tokoferol, laktik asit ve eritorbatın da azalttığı bildirilmiştir [35, 36].

4 Nitrat ve Nitrit Kullanımı ile İlgili Yasal Düzenlemeler

Et ürünlerinde kullanımına izin verilen nitrat ve nitrit miktarları, ürün tipine ve ürünün üretildiği ülkeye göre değişiklik gösterebilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde kıyılmış ürünler için kabul edilen maksimum sodyum nitrit miktarı 156 mg/kg, sodyum nitrat miktarı ise 1718 mg/kg olarak belirlenmiştir [37, 38]. Avrupa Birliği'nde kabul edilen nitrat ve nitrit miktarları, Avrupa Komisyonu Yönergesi (2006/52/EC) tarafından düzenlenmiştir [39]. Yönergede, kurutulmuş fermente et ürünleri için maksimum nitrat ve nitrit miktarı 150 mg/kg, nitrit içermeyen uzun olgunlaşma süresine sahip ürünler için ise maksimum nitrat miktarı 250 mg/kg olarak belirtilmektedir [40]. Ülkemizde et ürünlerinde nitrit ve nitrat kullanımına yönelik olarak Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği [41] ile yapılan yasal düzenlemeler Çizelge 1'de görülmektedir.

Çizelge 1. TGK Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliğine göre et ürünlerine ilave edilebilecek maksimum nitrat ve nitrit miktarları [41].

| Ürün | Kullanılan Katkı Maddesi | Maksimum Miktar (mg/kg) |
|---|--------------------------|-------------------------|
| Isıl İşlem Görmemiş İşlenmiş Etler | Nitrit | 150 |
| Isıl İşlem Görmemiş İşlenmiş Etler (fermente sucuk ve pastırma hariç) | Nitrat | 150 |
| Isıl İşlem Görmüş İşlenmiş Etler (sterilize et ürünleri hariç) | Nitrit | 150 |
| Isıl İşlem Görmüş İşlenmiş Etler (sadece sterilize et ürünleri) | Nitrit | 100 |

5 Nitrat ve Nitritin Sağlık Üzerine Etkileri

Kürlenmiş et, kalıntı nitrit, N-nitrozo bileşenler ve kanser arasındaki ilişki üzerine 1970'li yıllardan beri çalışılmaktadır [35]. İnsan sağlığı üzerine olan olumsuz etkilerinden dolayı nitrat ve nitrit, belirli dozların üzerinde gıdalarda bulunması istenmeyen maddelerdir. Bunun yanında epidemiyolojik ve klinik çalışmalar, bitkisel kaynaklı nitrat ve nitritin kardiyovasküler sağlık ve gastrointestinal bağıışıklık fonksiyonunu desteklemede temel fizyolojik bir rol oynadığını ortaya koymaktadırlar [42]. Nitrat ve nitritin tüketiminin kanser riskleri ile ilişkilendirilmesine rağmen bu bileşenlerin tek başına kanserojen olmadığı, pişirme veya sindirim sırasında diğer bileşenlerle birlikte reaksiyona girerek kanserojen form oluşturma potansiyeli taşıdığı belirtilmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda ise, nitrat

ve nitrit tüketimi ile kanser oluşum riski arasında tutarlı bir ilişki olmadığı sonucuna varılmıştır [43, 44, 45].

Nitrat iyonları doğrudan toksik etkiye sahip değildir. Nitrat, bakteriyel nitrat redüktaz aktivitesi vasıtasıyla zararlı nitrit iyonlarına dönüşmektedir [46, 47]. Vücuda alınan nitratın önemli bir kısmı dışkı yoluyla hızla atılmakta iken bir kısmı da ağızda bulunan bakteriler tarafından nitrite indirgenmekte ve yutma yoluyla mideye taşınmaktadır [26, 48]. Bu mekanizma ile vücuda alınan nitratın % 20'sinin nitrite dönüştürüldüğü bildirilmektedir [32, 49]. Nitrat, midede bakteriyel gelişime bağlı olarak, nitrite dönüşmekte, nitrit ise nitrozaminlerin oluşumuna neden olmaktadır [50]. Nitrit, insan vücudunda iki tip zehirlenmeye neden olmaktadır. İlki akut zehirlenme olup; nitrit ile hemoglobinin etkileşime girerek methemoglobin oluşması yolu ile ortaya çıkmaktadır. Hemoglobindeki Fe^{+2} yükseltgenerek Fe^{+3} e dönüşmekte, böylece kanın O_2 taşıma işlevi önlenmekte ya da azalmaktadır. Bu durum "methemoglobinemi" olarak adlandırılmaktadır [51]. Çocuklar için tehlikelidir ve "mavi bebek sendromu" olarak bilinmektedir [52]. Yetişkinlerde methemoglobin, methemoglobin-redüktaz enzimi ile tamamen hemoglobine dönüşebilmektedir [53, 54]. Ancak yapılan bazı çalışmalarda yetişkinlerde de methemoglobinemi'ye rastlanabileceği belirtilmiştir [55, 56, 57]. İkinci zehirlenme türü ise kronik nitrit zehirlenmesi olup, oluşan nitrozaminlerden kaynaklanmaktadır. Nitrit, nitrozaminlerin oluşumuna neden olmaktadır ve bu bileşikler potansiyel olarak kanserojen, mutajen ve/veya teratojendir [58]. Alım dozu, sıklığı ve şekline bağlı olarak, vücutta etkilenen organ farklı olabilmektedir [59].

6 Et ve Et Ürünlerinde Nitrat ve Nitrit Kullanımına Potansiyel Alternatif Yöntemler

Tüketicilerin nitrat ve nitritin kullanılmadığı doğal ve organik et ürünlerine yönelik olarak yoğun talebi, bu konuda yapılan çalışmaları artırmaktadır. Nitrit alternatifi olarak nispeten daha sağlıklı olarak kabul edilen, doğal kaynaklardan elde edilen katkıların kullanımı ve ürün koruma yöntemlerinin geliştirilmesi, bu konuda yapılan çalışmaların en büyük kısmını oluşturmaktadır. Ancak nitritin et

ürünlerinde geniş kapsamlı bir aktiviteye sahip olması nedeniyle, tüm fonksiyonlarını gerçekleştirebilecek tek bir katkı henüz tespit edilememiştir. Bu nedenle et ürünlerinde doğal katkıların yanında farklı katkıların kombinasyonlarının, organik asitlerin, mikrobiyal kaynakların kullanımı, ışınlama gibi güncel koruma yöntemlerinin, engel teknolojisinin uygulanması, nitrit ve nitrat kullanımı yerine araştırılan potansiyel yöntemleri oluşturmaktadır.

6.1 Bitkisel Katkıların Kullanımı

Bazı sebzeler önemli miktarda nitrat içermektedirler. Kereviz [11], ıspanak [60], turp, marul ve kurutulmuş pazı [61] yüksek nitrat içeriğine sahip sebzelerden başlıcalarıdır [21, 62]. Kereviz suyu ve kereviz tozu et ürünlerinin lezzeti üzerinde olumsuz değişime neden olmadığı için daha fazla kullanım alanı bulmaktadırlar [11]. Sebzelerde doğal olarak bulunan nitrat, nitrat indirgeyici mikroorganizmalar tarafından (*Staphylococcus carnosus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Escherichia coli*, *Micrococcus denitrificans*, *Enterobacter aerogenes*) nitrite dönüştürülmektedir [11, 31]. Nitratın nitrite dönüşümü belirli bir sıcaklıkta inkübasyon süresince gerçekleşmektedir [40]. Bu dönüşüm, et ürünü içinde, nitrat indirgeyici mikroorganizma inokülasyonu ile veya nitrat içerikli katkı et ürününe ilave edilmeden önce dış ortamda gerçekleştirilebilmektedir. Nitratın nitrite önceden dönüştürüldüğü sebze suyu tozları, et ürünlerinde doğrudan kullanılmak üzere ticari olarak satılmaktadırlar. Bu toz ürünler 10000-15000 mg/kg gibi yüksek konsantrasyonlarda nitrit içermektedirler [16, 63].

Jambon örneklerinde *Listeria monocytogenes* gelişimi üzerine, eklenen 100 veya 200 mg/kg nitrit içeren kereviz tozlarının aynı konsantrasyonlardaki nitrit ile önemli bir etkinlik farklılığı olmadığı belirlenmiştir [64]. Başka bir çalışmada %3 kızılçık tozu ilave edilen kereviz tozu ile doğal kürlenmiş sosislerde 49 günlük depolama sonunda *Listeria monocytogenes* sayısının 5.3 log CFU/g azalma gösterdiği, kontrol örneğine kıyasla kalıntı nitrit içeriğinin daha düşük olduğu ancak bu örneklerde oksidasyon gelişiminin daha yüksek olduğu gözlenmiştir [65]. Benzer şekilde kereviz tozu (%0.2 ve 0.35) ve *Staphylococcus carnosus* içeren jambon örneklerinde oksidasyon gelişiminin 200 mg/kg

sodyum nitrit içeren kontrol örneğine göre daha yüksek olduğu, kalıntı nitrit içeriğinin ise daha düşük olduğu belirlenmiştir [16]. Bu sonuçlara paralel olarak, Yıldız Turp ve ark. [66] tarafından yapılan bir çalışmada, farklı oranlarda kereviz tozu (% 0.2, 0.3 ve 0.4) kullanılan sucuk örneklerinin 30 günlük depolanması sonucunda, oksidasyon gelişiminin 150 mg/kg sodyum nitrit içeren kontrol ve %0.2 kereviz tozu içeren örneklerde en düşük düzeyde gerçekleştiği saptanmıştır.

Et ürünlerinde nitrit alternatifi olarak doğal nitrat kaynaklarının tercih edilmesinin önemli bir nedeni bu kaynakların kullanımı ile son üründe daha düşük oranlarda kalıntı nitrit elde edilmesidir. Yapılan bir çalışmada, jambon örneklerine sodyum nitrit yerine, içerdiği nitratin ürüne eklenmeden önce nitrite dönüştürüldüğü sebze suyu tozu (%0.2) eklenmiş ve 42 günlük depolama süresi sonucunda kalıntı nitrit miktarının kontrol örneğine göre daha düşük olduğu saptanmıştır [63]. Et ürünlerinde kür rengi oluşumunun daha hızlı gerçekleşmesi ve depolama süresince bu rengin korunmasında askorbik asit önemli rol oynamaktadır. Askorbik asidin doğal bir kaynağı olan kiraz ununun, kereviz unu ile doğal kürleme uygulanmış sosis örneklerinde kullanımının, geleneksel kürlenmiş kontrol örneğine kıyasla daha düşük kalıntı nitrit oluşumuna neden olduğu belirlenmiştir [9].

Et ürünlerinde nitrat ve nitrite alternatif katkıların araştırıldığı çalışmaların yanı sıra nitritin çeşitli doğal katkılar ile kombinasyonu sonucunda miktarının azaltılmasına yönelik çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Farklı oranlarda pırasa unu ve sodyum nitrit kullanılarak üretilen fermente et ürünü örneklerinde sodyum nitrit miktarının %50 oranında azaltılabileceği sonucuna varılmıştır. Bu çalışmada; % 0.84 pırasa unu ve 75 mg/kg sodyum nitrit içeren örneğin 150 mg/kg sodyum nitrit içeren kontrol örneği ile benzer renk, oksidasyon, doku ve duyu özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir [67]. Başka bir çalışmada ise, ciğer ezmesinde biberiye ekstraktı kullanımı ile örneklerin oksidasyon seviyesinde ve renk stabilitesinde olumsuzlukla karşılaşmadan eklenen sodyum nitrit miktarının 120 mg/kg'dan 80 mg/kg'a düşürülebileceği saptanmıştır [68]. Yapılan bir çalışmada sosis örneklerinde %12 oranında

domates püresi kullanımı ile örneklerin renk ve duyu özelliklerinde olumsuz bir etki oluşmadan nitrit miktarının 150 mg/kg'dan 100 mg/kg'a düşürülebileceği sonucuna varılmıştır [69]. Başka bir çalışmada, sosis üretiminde domates tozu (%2) ve nitritin (100 mg/kg) birlikte kullanımının rengi geliştirdiği ve oksidasyonu geciktirdiği saptanmıştır [70]. Domuz etinden hazırlanmış emülsiyon hamuru ile yapılan bir çalışmada, paprika biberi (%1.5-2) ve domates püresinin (%2.5-3) nitrit (100 mg/kg) ile birlikte kullanımının lipid oksidasyonunu azalttığı, renk ve doku özelliklerini geliştirdiği belirlenmiştir [71]. Bu sonuçlara paralel olarak domuz etinden üretilen rulo tipi et ürününe eklenen domates püresi tozu; ürünün renk özelliklerini geliştirmiş, kalıntı nitrit miktarında azalma sağlamış fakat aynı zamanda prooksidan etki göstermiştir. Formülasyona % 1.5 oranında domates püresi tozu ilavesi ile nitrit miktarının 100 mg/kg'dan 50 mg/kg'a düşürülebileceği sonucuna varılmıştır [72].

6.2 Organik Asitlerin Kullanımı

Organik asitler, laktik asit fermantasyonu süresince üretilen ve et ürünleri için güvenli olarak kabul edilen antimikrobiyallerdir [73]. Et ürünlerine ilave edilen nitrit miktarını azaltmak amacıyla organik asitlerin kullanıldığı çalışmalar bulunmaktadır. Mortadella salami ile yapılan bir çalışmada, formülasyonda sodyum nitrit yerine sodyum sorbat kullanımı, oksidasyon gelişimi yüksek ve duyu olarak kabul edilemez nitelikte ürün eldesine neden olmuş, sorbatın nitrit yerine kullanılmayacağı sonucuna varılmıştır. Ayrıca et ürünlerinde nitrit yerine yalnızca sorbat kullanımının alerjik reaksiyonlara neden olabileceği belirtilmiştir [21, 74]. Bununla birlikte, yapılan bir çalışmada sorbat (1000- 2600 mg/kg) ve nitritin (80 mg/kg) birlikte kullanımının, 120 mg/kg nitrite karşı başarılı bir alternatif olduğu sonucuna varılmıştır [75]. Başka bir çalışmada ise, farklı oranlarda sodyum askorbat (500, 750 ve 1000 mg/kg) ve sodyum nitrit kombinasyonlarının kullanıldığı karaciğer ezmesi örneklerinde nitrit miktarının 40 mg/kg'a düşürülmesinin renk stabilitesini olumsuz etkilediği ve lipid oksidasyonunu arttırdığı ancak sodyum askorbat varlığında nitrit miktarının 80 mg/kg'a düşürülmesinin bu özelliklerde olumsuz bir etki oluşturmadığı belirlenmiştir [76].

Lactobacillus curvatus (10⁴/g) ve *Listeria monocytogenes* (10²/g) inoküle edilen jambon örneklerinde sodyum diasetat ve sodyum sitrat ilavesi ile ürünün pH değeri düşmüş ve kalıntı nitrit miktarı azalmıştır. Ancak % 0.2 oranında ilave edilen sodyum diasetat, ürün lezzetinde negatif yönde değişime neden olmuştur [77]. Yapılan başka bir çalışmada ise, dana köftesine sodyum laktat ilavesinin üründe kürlenmiş renk gelişimine katkıda bulunduğu ve kalıntı nitrit miktarını azalttığı belirlenmiştir [78].

6.3 Mikrobiyal Kaynakların Kullanımı

Gıdaların güncel muhafaza yöntemleri arasında laktik asit bakterileri (LAB), antibakteriyel peptitler ve bakteriyosinlerin kimyasal veya doğal koruyucularla kombinasyon halinde uygulanması yer almaktadır. Özellikle bazı LAB bakteriyosinleri (nisin, enterosin, sakasin ve pediosin) bakteriyel patojenleri kontrol altına almak amacıyla, gıdalarda tek başına veya diğer fiziksel ve kimyasal engellerle kombinasyon halinde uygulanmaktadır [79, 80]. Nisin, *Lactococcus lactis*'in bazı suşları tarafından üretilen düşük molekül ağırlıklı bir bakteriyosin olup, en yaygın kullanım alanına sahiptir. Birçok çalışmada, et ürünleri formülasyonlarına eklenen nitrit miktarını azaltmak amacıyla nisin kullanılmış, nitrit ve nisin kombinasyonlarının *Clostridium perfringens* ve *Clostridium sporogenes* sporlarını inaktive ettiği saptanmıştır [21]. Sakasin C2'yi üreten *Lactobacillus sakei* C2'nin iki farklı konsantrasyonda (5 ve 7 log CFU /g) fermente et ürünlerine inokülasyonu örneklerin toplam bakteri popülasyonu ve *Listeria monocytogenes* sayısında önemli bir azalma sağlamıştır. *Lactobacillus sakei* C2 inokülasyon miktarındaki artış üründe kalıntı nitrit ve oksidasyon sonucu oluşan malonaldehit miktarında azalmaya, bunun yanında nitrozomyoglobin miktarında artmaya neden olmuştur [81]. Model sistem jambon örneği ile yapılan bir çalışmada enterosin AS-48'in nitrit/nitrat, pentasodyum tripolifosfat, sodyum benzoat veya potasyum sorbat ile kombinasyon şeklinde kullanımının *Listeria monocytogenes*'e karşı etkili olduğu saptanmıştır [82]. İtalyan tipi salam örneklerinden izole edilen *Lactobacillus curvatus* MBSa2'den elde edilen bakteriyosinlerin salam örneğinde, *Listeria monocytogenes* sayısında yaklaşık 2 log CFU/g azalmaya neden olduğu belirtilmiştir [83].

Et ürünlerinde renk oluşumu ve stabilitesinin doğal yöntemlerle sağlandığı, metmyoglobinin nitrozomyoglobine mikrobiyal yolla dönüşümü konusunda artan sayıda çalışma bulunmaktadır [21]. Bu çalışmalar kapsamında, *Nocardia* türleri [84], *Lactobacillus fermentum* [85], *Staphylococcus xylosus* [86] ve *Staphylococcus carnosus* [87] bakterilerinin azot monoksit sentezleyebildiği ve metmyoglobini nitrozomyoglobine dönüştürebildiği belirlenmiştir. Çin'e özgü geleneksel kırmızı Harbin sosisi ile yapılan bir çalışmada; 10⁸ CFU/g oranında *Lactobacillus fermentum* AS1.1880 inoküle edilen örneklerde, karakteristik pembe renk oluşumu ve lezzet gelişimi gözlenmiş ve *Lactobacillus fermentum* AS1.1880'in nitrit ikamesi olarak kullanılabilmesi sonucuna varılmıştır [85]. Başka bir çalışmada, kıyılmış domuz etine nitrit yerine 10⁶ CFU/g oranında *Staphylococcus xylosus* inokülasyonunun istenen renk oluşumunu sağladığı belirtilmiştir [86]. Benzer şekilde kıyılmış domuz etinde *Staphylococcus xylosus* ve *Lactobacillus fermentum*'un metmyoglobini nitrozomyoglobine dönüştürebildiği ve bozulmaya neden olan birçok mikroorganizmanın gelişimini engellediği saptanmıştır [88].

6.4 Engel Teknolojisinin Kullanımı

Engel teknolojisi, gıdaların duyu kalitesini ve mikrobiyal stabilitesini geliştirmek amacıyla bir araya getirilmiş engeller olarak tanımlanmaktadır [89]. Başlangıçta ortamda var olan mikroorganizmalar, depolama süresince engelleri aşamadıkları için, mikrobiyal bozulma ve gıda zehirlenmesi kontrol altına alınabilmektedir [90, 91, 92].

Engel teknolojisi kullanılarak formülasyonda nitrit miktarının azaltılmasına yönelik yapılan bir çalışmada, 50 mg/kg nitrit ilave edilen, pH'sı glukona delta lakton ile 5.4'e ayarlanan, iç sıcaklığı 75°C oluncaya kadar pişirilen, kısa sürede soğutulan ve düşük sıcaklıkta (>3°C ve ≤10°C) muhafaza edilen sosis örneklerinde, 120 mg/kg nitrit içeren kontrol örneğine kıyasla toplam mikroorganizma sayısının düştüğü, *Clostridium perfringens* ve *Clostridium botulinum* patojenlerinin gözlenmediği bildirilmiştir [92]. Geleneksel Katalan fermente et ürünü ile yapılan bir çalışmada 148 AU/g enterosin AS-48 kullanımı ve yüksek basınç uygulamasının (400 MPa) olgunlaşma

sonunda *Listeria monocytogenes* sayısında 5.5 log ve *Salmonella enterica* sayısında ise 1.79 log azalma sağladığı belirtilmiştir [80]. Yüksek basınç teknolojisinin (350 MPa), domuz etinde sodyum nitrit (50-100 mg/kg) veya sodyum klorür (%1.5-3) kullanımları ile kombinasyonunun uygulandığı bir çalışmada *Enterobacteriaceae* türleri, laktik asit bakterileri ve aerobik mezofilikler üzerine önemli etki sağlanmıştır [93].

Et ürünlerine engel teknolojisi uygulamasının üründe kalıntı nitrit miktarı üzerine etkilerinin incelendiği çeşitli çalışmalar yapılmıştır. “Dendeng” adı verilen Endonezya’ya özgü kurutulmuş bir et ürününde yapılan çalışmada; %2 kişniş ve %10 sarımsak içeren 150 mg/kg nitrit ile yaş kürtleme işlemine tabi tutulmuş ve pişirme öncesi 5 dk suda bekletilmiş örneklerde kalıntı nitrite rastlanmamıştır [94]. Jo ve ark. [95] tarafından %100 CO₂ ile ambalajlanmış ve ışınlama (5 KGy) uygulanmış domuz sosisi örneklerinde, vakum ve aerobik ambalajlama uygulanmış örneklere göre daha düşük kalıntı nitrit miktarı saptanmıştır. Benzer şekilde, yapılan başka bir çalışmada, vakum veya modifiye atmosfer ile ambalajlanan sosis örneklerinde aerobik ambalajlama uygulanan örneklere göre daha az kalıntı nitrit miktarı belirlenmiştir. Işınlama dozunun artmasıyla örneklerde kalıntı nitrit miktarının azaldığı gözlenmiştir [2]. Çin’e özgü Rugao jambonu ile yapılmış olan bir çalışmada, jambonlara olgunlaşma öncesinde ve sonrasında uygulanan 5 kGy’lik gama ışınlamasının üründeki kalıntı nitrit miktarını azalttığı belirlenmiştir [96]. Dutra ve ark. [97] tarafından *Clostridium botulinum* inoküle edilen Mortadella tipi salam örneklerinde ışınlama uygulaması sonucunda farklı oranlarda nitrit içeren tüm örnek gruplarında *Clostridium botulinum* inaktivasyonunun sağlandığı saptanmıştır.

7 Sonuç

Günümüzde işlenmiş et ürünlerinin sağlığa zararlarının vurgulandığı çalışmalar, tüketicilerin kimyasal katkı maddesi içermeyen et ürünlerine olan taleplerinin artmasına yol açmış, bunlara paralel olarak et ürünlerinde nitrat ve nitrit kullanımına alternatif yöntemlerin araştırıldığı çalışmalar da artış göstermiştir. Yapılan çalışmalardaki yaklaşımlardan

biri; nitrat içeren bitkisel kaynakların et ürünlerinde kullanılması yönündedir. Bu tür katkıların kullanımı sonucunda üründeki kalıntı nitrit miktarında azalma gerçekleşebilmekte ancak ürünün bazı kalite özelliklerinde istenmeyen yönde değişimler meydana gelebilmektedir. Bir diğer yaklaşım ise nitritin et ürünlerinde göstermiş olduğu fonksiyonları; antimikrobiyal özellikteki organik asitler, antibakteriyel özellikteki bakteriyosinler ve nitrozomyoglobin oluşumunu sağlayan mikrobiyal kaynaklar ile gerçekleştirme yönündedir. Ancak bu uygulamaların genel olarak nitritin fonksiyonlarını etkin olarak karşılamada yetersiz kaldığı görülmektedir. Et ürünlerinde nitrit azaltılmasında yenilikçi yaklaşımlardan biri olan engel teknolojisinin yüksek basınç teknolojisi gibi teknolojileri içerecek şekilde kullanılması, özellikle mikrobiyal güvenlik bakımından olumlu sonuçlar vermiştir. Ancak uygulanan güncel teknolojiler ile et ürününde oksidatif stabilitenin, istenilen renk ve lezzet özelliklerinin sağlanabilmesi için daha fazla çalışmaya gereksinim bulunmaktadır.

8 Kaynaklar

- [1] Aksu, M.; Kaya, M. Farklı Kürtleme Yöntemleri ve Starter Kültür Kullanılarak Pastırma Üretimi. Turk J Vet Anim Sci. 2002; 26, 909-916.
- [2] Ahn, H.J.; Kim, J.H.; Jo, C.; Lee, J.W.; Yook, H.S.; Byun, M.W. Combined effects of gamma irradiation and a modified atmospheric packaging on the physicochemical characteristics of sausage. Radiation Physics and Chemistry. 2004; 71(1-2), 51-54.
- [3] Liu, D.C.; Wu, S.W.; Tan, F.J. Effects of addition of anka rice on the qualities of low-nitrite Chinese sausages. Food Chemistry. 2010; 118(2), 245-250.
- [4] Pourazrang, H.; Moazzami, A.A.; Fazly Bazzaz, B.S. Inhibition of mutagenic N-nitroso compound formation in sausage samples using L-ascorbic acid and α -tocopherol. Meat Science. 2002; 62, 479-483.
- [5] Zanardi, E.; Dazzi, G.; Madarena, G.; Chizzolini, R. Comparative study on nitrite and nitrate ions determination. Annella Facolta di Medicina Veterinaria di Parma. 2002; 22, 70-86.
- [6] Zarringhalami, S.; Saahari, M.A.; Hamidi-Esfehani, Z. Partial replacement of nitrite by annatto as a colour additive in sausage. Meat Science. 2009; 81(1), 281-284.
- [7] Santarelli, R.L.; Pierre, F.; Corpet, D.E. Processed meat and colorectal cancer: a review of epidemiologic and experimental evidence. Nutrition and Cancer. 2008; 60(2), 131-144.

- [8] IARC. International Agency for Research on Cancer Monographs evaluate consumption of red meat and processed meat. 26 October 2015. No: 240.
- [9] Terns, M.J.; Milkowski, A.L.; Claus, J.R.; Sindelar, J.J. Investigating the effect of incubation time and starter culture addition level on quality attributes of indirectly cured, emulsified cooked sausages. *Meat Science*. 2011; 88(3), 454–61.
- [10] Gray, J.I.; Macdonald, B.; Pearson, A.M.; Morton, I.D. Role of nitrite in cured meat flavor: a review. *J Food Prot*. 1981; 44, 302–312.
- [11] Sebranek, J.G.; Bacus, J.N. Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: What are the issues?. *Meat Science*. 2007; 77, 136–147.
- [12] Sindelar, J.J.; Milkowski, A.L. Sodium nitrite in processed meat and poultry meats: a review of curing and examining the risk/benefit of its use. AMSA white paper series. Illinois, USA: American Meat Science Association. 2011; 2-11.
- [13] Shahidi, F.; Pegg, R.B. Nitrite-free meat curing systems: update and review. *Food Chem*. 1992; 43, 185–91.
- [14] Yun, J.; Shahidi, F.; Rubin, L.J.; Diosady, L.L. Oxidative stability and flavor acceptability of nitrite-free meat curing systems. *Can Inst F Sci Tec J*. 1987; 40, 246–51.
- [15] Vasavada, M.N.; Cornforth, D.P. Evaluation of milk mineral antioxidant activity in beef meatballs and nitrite-cured sausage. *Journal of Food Science*. 2005; 70(4), C250–C253.
- [16] Sindelar, J.J.; Cordray, J.C.; Sebranek, J.G.; Love, J.A.; Ahn, D.U. Effects of varying levels of vegetable juice powder and incubation time on color, residual nitrate and nitrite, pigment, pH, and trained sensory attributes of ready-to-eat uncured ham. *Journal of Food Science*. 2007; 72(6), 388–395.
- [17] Gøtterup, J.; Olsen, K.; Knöchel, S.; Tjener, K.; Stahnke, L.H.; Møller, J.K.S. Relationship between nitrate/nitrite reductase activities in meat associated staphylococci and nitrosylmyoglobin formation in a cured meat model system. *International Journal of Food Microbiology*. 2007; 120(3), 303–310.
- [18] AMSA. Meat color measurement guidelines. Savoy, IL: American Meat Science Association. Illinois, USA, 2011.
- [19] Song, X.; Cornforth, D.; Whittier, D.; Luo, X. Nitrite spray treatment to promote red color stability of vacuum packaged beef. *Meat Science*. 2015; 99, 8–17.
- [20] Parthasarathy, D.K.; Bryan, N.S. Sodium nitrite: the “cure” for nitric oxide insufficiency. *Meat Science*. 2012; 92(3), 274–9.
- [21] Alahakoon, A.U.; Jayasena, D.D.; Ramachandra, S.; Jo, C. Alternatives to nitrite in processed meat: up to date. *Trends in Food Science & Technology*. 2015; 45(1), 37-49.
- [22] Pradhan, A.K.; Ivanek, R.; Grohn, Y.T.; Geornaras, I.; Sofos, J.N.; Wiedmann, M. Quantitative risk assessment for *Listeria monocytogenes* in selected categories of deli meats: Impact of lactate and diacetate on listeriosis cases and deaths. *J Food Prot*. 2009; 72(5), 978–989.
- [23] Tompkin, R.B. Nitrite Davidson PM, Sofos JN, Branen AL (Eds.). In: *Antimicrobials in food*. 3rd edition. CRC Press: Boca Raton, Florida, USA, 2005; 169-236 pp.
- [24] Shahidi. *Flavor of Meat. Meat Products and Seafoods*, second ed., Blackie Academic and Professional, London, UK, 1998; 290–317 pp.
- [25] Sanz, Y., Vila, F., Toldra, F., Flores, J. Effect of nitrate and nitrite curing salts on microbial changes and sensory quality of non-fermented sausages. *Meat Science*. 1998; 42, 213–217.
- [26] Honikel, K.O. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Science*. 2008; 78(1-2), 68–76.
- [27] Herrmann, S.S.; Granby, K.; Duedahl-Olesen, L. Formation and mitigation of N-nitrosamines in nitrite preserved cooked sausages. *Food Chemistry*. 2015; 174, 516–26.
- [28] Kotter, L.; Schmidt, H.; Fisher A. Zur Nitrosaminbildung in gereiften Fleischwaren. *Archiv für Lebensmittelhygiene*. 1977; 28(1): 8-11.
- [29] Hofmann, K. Die Nitrosamine ein Problem, das alle angeht. *Fleischwirtschaft*. 1979; 59(6), 823-825.
- [30] Kampe, W. Stickstoffdüngung und Gesundheit. *Gemüse*. 1981; 17(5), 195-196.
- [31] Özçelik, S. Bazı gıdalarda nitrit ve nitrosaminlerin oluşumu ve sağlığa zararlı etkileri. *Gıda*. 1982; 7(4), 183-188.
- [32] Bayraktar, N.; Gökçe, R.; Ergün, Ö. Gıdalarda Nitrat ve Nitrit Kalıntılarının İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri. *ÇEV-KOR*. 1998; 7(28), 28–30.
- [33] Palamutoğlu, R.; Sarıçoban, C. Et ürünlerinde nitrat ve nitrite alternatif doğal kürlenme maddeleri. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*. 2012; 7(3), 46–58.
- [34] Yıldırım, Y. Nitrat ve nitritin et ürünlerine katılma oranlarının sınırlandırılması. *Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*. 1979; II(1), 71-77.
- [35] Cassens, R.G. Composition and safety of cured meats in the USA. *Food Chemistry*. 1997; 59(4), 561–566.
- [36] Boğa, A.; Binokay S. Gıda Katkı Maddeleri ve Sağlığımıza Etkileri. *Arşiv*. 2010; 19, 141-154.
- [37] USDA. *Processing Inspector's Calculations Handbook (FSIS Directive 7620.3)*. U.S. Government Printing Office, Washington, DC, 1995.
- [38] Redondo-Solano, M.; Valenzuela-Martinez, C.; Cassada, D.A.; Snow, D.D.; Juneja, V.K.; Burson, D.E.; Thippareddi, H. Effect of meat ingredients (sodium nitrite and erythorbate) and processing (vacuum storage and packaging atmosphere) on germination and outgrowth of *Clostridium perfringens* spores in ham during abusive cooling. *Food Microbiology*. 2013; 35(2), 108–15.

- [39] European Commission. European Directive 2006/52/EC of the European Parliament and of the Council of 5 July 2006 amending Directive 95/2/EC on food additives other than colours and sweeteners and Directive 94/35/EC on sweeteners for use in foodstuffs. Official Journal of the European Union. 2006; L204,10-22.
- [40] Grasso, S.; Brunton, N.P.; Lyng, J.G.; Lalor, F.; Monahan, F.J. Healthy processed meat products – Regulatory, reformulation and consumer challenges. Trends in Food Science & Technology. 2014; 39(1), 4–17.
- [41] TGKY. Gıda katkı maddeleri tebliği. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. T.C. Resmi Gazete Sayı: 28693. 2013.
- [42] Hord, N.G.; Tang, Y.; Bryan, N.S. Food sources of nitrates and nitrites: the physiologic contact for potential health benefits. The American Journal of Clinical Nutrition. 2009; 90(6), 1–10.
- [43] Eichholzer, M.; Gutzwiller, F. Dietary nitrates, nitrites, and N-nitroso compounds and cancer risk: A review of the epidemiologic evidence. [review]. Nutrition Reviews. 1998; 56(4), 95–105.
- [44] Klurfeld, D.M. Nitrite and nitrate and risk of cancer. Nitrite and Nitrate in Human Health and Disease. Humana Press: New York, 2011.
- [45] Bedale, W.; Sindelar, J.J.; Milkowski, A.L. Dietary nitrate and nitrite: Benefits, risks, and evolving perceptions. Meat Science. 2016. [Accepted 2 March 2016].
- [46] Bories, P.N.; Bories, C. Nitrate determination in biological fluids by an enzymatic one-step assay with nitrate reductase. Clinical Chemistry. 1995; 41, 904-907.
- [47] Özdeştan, Ö.; Üren, A. Gıdalarda Nitrat ve Nitrit. Akademik Gıda. 2010; 8(6), 35–43.
- [48] Roberts, T.A.; Dainty, R.H. Nitrate and nitrite as food additives: rationale and mode of action. Hill MJ (chief ed). In: Nitrates and Nitrites in Food and Water. Ellis Horwood Series in Food Science and Technology. 1991; 113-124 pp.
- [49] Croll, B.T.; Hayes, C.R. Nitrate and water supplies in the United Kingdom. Environmental Pollution. 1988; 50, 163-187.
- [50] Prasad, S.; Chetty, A.A. Nitrate-N determination in leafy vegetables: Study of the effects of cooking and freezing. Food Chemistry. 2008; 106(2), 772–780.
- [51] Yan, P.M.; Xue, W.T; Tan, S.S.; Zhang, H.; Chang, X.H. Effect of inoculating lactic acid bacteria starter cultures on the nitrite concentration of fermenting Chinese paocai. Food Control. 2008; 19(1), 50–55.
- [52] Cemek, M.; Akkaya, L.; Birdane, Y.O.; Seyrek, K.; Bulut, S.; Konuk, M. Nitrate and nitrite levels in fruity and natural mineral waters marketed in western Turkey. Journal of Food Composition and Analysis. 2007; 20(3-4), 236–240.
- [53] Simon, C. Die Alimentare Methämoglobinämie im Sauglingsalter. Ernährungsumschau. 1970; 17, 3-5.
- [54] Kara, E.E. Sebzelerde nitrat akümülyasyonu. Ekoloji Dergisi. 1993; 7, 10-13.
- [55] Yu, C.; Zhao, C.H. Treatment of acute poisoning causing methaemoglobinaemia. Clinical Medicine. 2000; 16, 503–504 [in Chinese].
- [56] Hu, P.L.; Zhuang, Z.C. Analysis and treatment of 15 cases of acute nitrite poisoning. Pract. J. Cardiac Cereb. Pneum. Vasc. Dis. 2009; 17, 208–209 [in Chinese].
- [57] Chan, T.Y.K. Vegetable-borne nitrate and nitrite and the risk of methaemoglobinaemia. Toxicology Letters. 2011; 200(1-2), 107–108.
- [58] Connolly, D.; Paull, B. Rapid determination of nitrate and nitrite in drinking water samples using ion-interaction liquid chromatography. Analytica Chimica Acta. 2001; 441(1), 53–62.
- [59] Lijinsky, W.; Kovatch, R.M. Carcinogenesis by nitrosamines and azoxyalkanes by different routes of administration to rats. Biomedical and Environmental Science. 1989; 2, 154-159.
- [60] Gabaza, M.; Claeys, E.; Smet, S.D; Raes, K. Potential of fermented spinach extracts as a nitrite source for meat curing. Proceedings of the 59th International Congress of Meat Science and Technology (ICOMST). İzmir, Turkey, 18-23 August 2013; 74 p.
- [61] Sebranek, J.G.; Jackson-Davis, A.L.; Myers, K.L.; Lavieri, N.A. Beyond celery and starter culture: advances in natural/organic curing processes in the United States. Meat Science. 2012; 92(3), 267–273.
- [62] Santamaria, P. Nitrate in vegetables: toxicity content, intake and EC regulation. J. Food Agric. 2006; 86,10–17.
- [63] Krause, B.L.; Sebranek, J.G.; Rust, R.E.; Mendonca, A. Incubation of curing brines for the production of ready-to-eat, uncured, no-nitrite-or-nitrate-added, ground, cooked and sliced ham. Meat Science. 2011; 89(4), 507–513.
- [64] Horsch, A.M.; Sebranek, J.G.; Dickson, J.S.; Niebuhr, S.E.; Larson, E.M.; Lavieri, N.A.; Wilson, L.A. The effect of pH and nitrite concentration on the antimicrobial impact of celery juice concentrate compared with conventional sodium nitrite on *Listeria monocytogenes*. Meat Science. 2014; 96(1), 400–407.
- [65] Xi, Y.; Sullivan, G.A.; Jackson, A.L.; Zhou, G.H.; Sebranek, J.G. Effects of natural antimicrobials on inhibition of *Listeria monocytogenes* and on chemical, physical and sensory attributes of naturally-cured frankfurters. Meat Science. 2012; 90(1), 130–138.
- [66] Yıldız Turp, G.; Serdaroğlu, M.; Ergezer, H. Sucuk üretiminde kereviz tozu kullanımının ürün özellikleri üzerine etkilerinin incelenmesi. 1. Uluslararası “Adriyatik’ten Kafkaslar’a Geleneksel Gıdalar” Sempozyumu. Tekirdağ, Türkiye, 15-17 Nisan 2010; ss 385-388.
- [67] Tsoukalas, D.S.; Katsanidis, E.; Marantidou, S.; Bloukas, J.G. Effect of freeze-dried leek powder (FDLP) and nitrite level on processing and quality characteristics of fermented sausages. Meat Science. 2011; 87(2), 140–145.

- [68] Doolaeghe, E.H.A.; Vossen, E.; Raes, K.; De Meulenaer, B.; Verhé, R.; Paelinck, H.; De Smet, S. Effect of rosemary extract dose on lipid oxidation, colour stability and antioxidant concentrations, in reduced nitrite liver pâtés. *Meat Science*. 2012; 90(4), 925–31.
- [69] Deda, M.S.; Bloukas, J.G.; Fista, G.A. Effect of tomato paste and nitrite level on processing and quality characteristics of frankfurters. *Meat Science*. 2007; 76(3), 501–8.
- [70] Eyiler, E.; Oztan, A. Production of frankfurters with tomato powder as a natural additive. *LWT - Food Science and Technology*. 2011; 44(1), 307–311.
- [71] Bázan-Lugo, E.; García-Martínez, I.; Alfaro-Rodríguez, R.H.; Totosaus, A. Color compensation in nitrite-reduced meat batters incorporating paprika or tomato paste. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2012; 92(8), 1627–1632.
- [72] Hayes, J.E.; Canonico, I.; Allen, P. Effects of organic tomato pulp powder and nitrite level on the physicochemical, textural and sensory properties of pork luncheon roll. *Meat Science*. 2013; 95(3), 755–62.
- [73] Hugo, C.J.; Hugo, A. Current trends in natural preservatives for fresh sausage products. *Trends in Food Science & Technology*. 2015; 45(1), 12–23.
- [74] Gray, J.I.; Pearson, A.M. Cured meat flavor. *Advances in Food Research*. 1984; 29, 1-86.
- [75] Al-Shuibi, A.; Al-Abdullah, B. Substitution of nitrite by sorbate and the effect on properties of mortadella. *Meat Science*. 2002; 62(4), 473–478.
- [76] Vossen, E.; Doolaeghe, E.H.A.; Moges, H.D.; De Meulenaer, B.; Szczepaniak, S.; Raes, K.; De Smet, S. Effect of sodium ascorbate dose on the shelf life stability of reduced nitrite liver pâtés. *Meat Science*. 2012; 91(1), 29–35.
- [77] Stekelenburg, F.; Kant-Muermans, M.L. Effects of sodium lactate and other additives in a cooked ham product on sensory quality and development of a strain of *Lactobacillus curvatus* and *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology*. 2001; 66(3), 197–203.
- [78] McClure, B.N.; Sebranek, J.G.; Kim, Y.H.; Sullivan, G.A. The effects of lactate on nitrosylmyoglobin formation from nitrite and metmyoglobin in a cured meat system. *Food Chemistry*. 2011; 129(3), 1072–1079.
- [79] Gálvez, A.; Abriouel, H.; López, R.L.; Ben Omar, N. Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *International Journal of Food Microbiology*. 2007; 120(1-2), 51–70.
- [80] Ananou, S.; Garriga, M.; Jofré, A.; Aymerich, T.; Gálvez, A.; Maqueda, M.; Valdivia, E. Combined effect of enterocin AS-48 and high hydrostatic pressure to control food-borne pathogens inoculated in low acid fermented sausages. *Meat Science*. 2010; 84(4), 594–600.
- [81] Gao, Y.; Li, D.; Liu, X. Bacteriocin-producing *Lactobacillus sakei* C2 as starter culture in fermented sausages. *Food Control*. 2014; 35(1), 1–6.
- [82] Ananou, S.; Baños, A.; Maqueda, M.; Martínez-Bueno, M.; Gálvez, A.; Valdivia, E. Effect of combined physicochemical treatments based on enterocin AS-48 on the control of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in a model cooked ham. *Food Control*. 2010; 21(4), 478–486.
- [83] de Souza Barbosa, M.; Todorov, S.D.; Ivanova, I.; Chobert, J.M.; Haertlé, T.; de Melo Franco, B.D.G. Improving safety of salami by application of bacteriocins produced by an autochthonous *Lactobacillus curvatus* isolate. *Food Microbiology*. 2015; 46, 254–62.
- [84] Chen, Y.; Rosazza, J.P.N. Purification and characterization of nitric oxide synthase (NOS_{NOC}) from a *Nocardia* species. *J. Bacteriol.* 1995; 177(17), 5122–5128.
- [85] Zhang, X.; Kong, B.; Xiong, Y.L. Production of cured meat color in nitrite-free Harbin red sausage by *Lactobacillus fermentum* fermentation. *Meat Science*. 2007; 77(4), 593–598.
- [86] Li, P.; Kong, B.; Chen, Q.; Zheng, D.; Liu, N. Formation and identification of nitrosylmyoglobin by *Staphylococcus xylosum* in raw meat batters: A potential solution for nitrite substitution in meat products. *Meat Science*. 2013; 93(1), 67–72.
- [87] Pantel, I.; Lindgren, P.E.; Neubauer, H.; Gotz, F. Identification and characterization of the *Staphylococcus carnosus* nitrate reductase operon. *Molecular and General Genetics*. 1998; 259, 105-114.
- [88] Li, P.; Luo, H.; Kong, B.; Liu, Q.; Chen, C. Formation of red myoglobin derivatives and inhibition of spoilage bacteria in raw meat batters by lactic acid bacteria and *Staphylococcus xylosum*. *LWT - Food Science and Technology*. 2016; 68, 251–257.
- [89] Leistner, L. Basic aspects of food preservation by hurdle technology. *International Journal of Food Microbiology*. 2000; 55(1-3), 181–186.
- [90] Leistner, L.; Gorris, L.G.M. Food preservation by hurdle technology. *Trends in Food Science and Technology*. 1995; 6, 41–45.
- [91] Leistner, L.; Gould, G.W. Hurdle technologies: combination treatments for food stability, safety and quality. Kluwer Academic/Plenum Publishers. London, 2002.
- [92] Jafari, M.; Emam-Djomeh, Z. Reducing nitrite content in hot dogs by hurdle technology. *Food Control*. 2007; 18(12), 1488–1493.
- [93] Duranton, F.; Guillou, S.; Simonin, H.; Chéret, R.; De Lamballerie, M. Combined use of high pressure and salt or sodium nitrite to control the growth of endogenous microflora in raw pork meat. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2012; 16, 373–380.
- [94] Suryati, T.; Astawan, M.; Lioe, H.N.; Wresdiyati, T.; Usmiati, S. Nitrite residue and malonaldehyde reduction in dendeng-Indonesian dried meat-influenced by spices,

curing methods and precooking preparation. *Meat Science*. 2014; 96(3), 1403–1408.

[95] Jo, C.; Ahn, H.J.; Son, J.H.; Lee, J.W.; Byun, M.W. Packaging and irradiation effect on lipid oxidation, color, residual nitrite content, and nitrosamine formation in cooked pork sausage. *Food Control*. 2003; 14(1), 7–12.

[96] Wei F.; Xu X.; Zhou G.; Zhao G.; Li C.; Zhang Y.; Chen L.; Qi J. Irradiated Chinese Rugao ham: Changes in volatile N-nitrosamine, biogenic amine and residual nitrite during ripening and post-ripening. *Meat Science*. 2009; 81(3), 451–5.

[97] Dutra, M.P.; de Cassia Aleixo, G.; de Lemos Souza Ramos, A.; Louzada Silva M.H.; Pereira, M.T.; Piccoli, R.H.; Ramos, E.M. Use of gamma radiation on control of *Clostridium botulinum* in mortadella formulated with different nitrite levels. *Radiation Physics and Chemistry*. 2016; 119, 125–129