

NITRITES AND NITROSAMINES IN PROCESSED MEATS

STUDY ON NITROSOHEME PHOTODECOMPOSITION (Cured Meat pigment)

A. FROUIN, M. THENOT, D. JONDEAU

Service de Recherche; Société OLIDA-CABY, 147, rue Victor Hugo, 92300, LEVALLOIS-PERRET - FRANCE.

SUMMARY

This study gives the dynamic of the cured meat pigment decomposition, the nitrosohème. The results from three methods are identical (spectrometry, conductimetry, mineral determination).

They show that the iron is temporary liberated, tetrapyrrole is broken, a complex is formed which empirical formula is $C_{15}H_{15}O_2NFe$, in which NO is strongly fixed; the consequence is the unlikelyhood of nitrosamine formation.

This reaction is autocatalytic, in consequence of the liberated Fe^{+++} which explains the stabilizing effect of iron complexing agents and, per contra the effect of mutual autocatalysis with lipid oxydation.

ETUDE SUR LA PHOTODECOMPOSITION DU NITROSOHEME (Pigment des viandes salées)

A. FROUIN, M. THENOT, D. JONDEAU

Service de Recherche, Société Olida-Caby, 147, rue Victor Hugo, 92300, LEVALLOIS-PERRET - FRANCE.

RESUME

Cette étude donne la dynamique de décomposition du pigment des viandes salées, le nitrosohème. Les résultats obtenus selon 3 méthodes sont concordants (spectrométrie, conductimétrie, dosage minéral).

Elles montrent la libération transitoire du fer, la rupture du T trapyrrole, la formation d'un complexe de formule brute $C_{15}H_{15}O_2NFe$, dans lequel NO est fortement fixé, ce qui rend improbable la formation de nitrosamines.

Cette réaction est autocatalytique, par suite de l'effet du Fe^{+++} libéré ce qui explique l'effet stabilisant sur la couleur des complexants du fer, et, en contrepartie, l'effet d'autocatalyse réciproque avec l'oxydation des gras.

STUDIUM AUF DIE LICHTZERSETZUNG VON NITROSOHEME (Farbstoff von p kelfleische)

A. FROUIN, M. THENOT, D. JONDEAU

Service de Recherche, Société Olida-Caby, 147, rue Victor Hugo, 92300, LEVALLOIS-PERRET - FRANCE.

ZUSAMMENFASSUNG

Dieses Studium gibt die Verwesungsdynamik des Farbstoffes der P kelfleische Nitrosoh me.

Die nach drei verschiedenen Methoden erhalten Ergebnisse sind übereinstimmend (Spektrometrie, Conductimetrie und Mineralbestimmung). Sie zeigen die vorüber gehende Befreiung des Eisens, den Bruch der Tetrapyrrol, die Bildung einer von roher Formel $C_{15}H_{15}O_2NFe$ Verbindung, in der NO fest fixiert bleibt, was, die Bildung von Nitrosamine unwahrscheinlich macht. Dieser chemische Prozess ist autokatalitisch, infolge der Wirkung des gefreierten Fe^{+++} , was die stabilisierende Wirkung auf die Farbe der Fixiermittel (" complexants ") des Eisens und, auf der anderen Seite, die gegenseitige autokatalitische Wirkung mit der Sauerstoffbindung der Fetten.

ETUDE SUR LA PHOTODECOMPOSITION DU BITROSOHEME

A. FROUIN, M. THENOT, D. JONDEAU

Nos études précédentes ont démontré que le pigment des viandes salées était un nitrosohème réducteur, c'est-à-dire que les nitroso myo et hémoglobine, les nitroso myo et h mochromog nes sont quatre noms pour un même corps : le nitrosohème.

Notre attention se porte ici sur le phénomène observé depuis longtemps de décomposition de ces pigments à l'air et à la lumière, confirmé par CANTONI, MANDIGO, JACQMAIN.

Les risques de formation de nitrosamines dépendent en effet de l'éventuelle libération de NO lors de cette décomposition du nitrosohème, d'où l'importance du sujet. RAEVUORI montre que l'acide citrique freine cette décomposition, d'autres auteurs confirment ce résultat et l'étendent à l'acide tartrique.

HAUROWITZ, YOUNATHAN, BROWN, GREENE, HIRANO, KOISUMI, entre autres, montrent une interaction importante entre l'oxydation des pigments hémiques, et l'al t ration des gras - phénomène que nous avons confirmé et retrouvé sur le nitrosohème.

Les études effectuées par les autres auteurs étaient conduites sur la " nitroso myoglobine " des viandes in situ, ce qui rend l'étude difficile, à cause de la complexité du milieu. Puisque l'on sait maintenant que le pigment nitros  obtenu à partir de l'hémoglobine est identique, nous avons travaillé sur celui-ci, profitant d'un milieu plus simple et beaucoup plus concentré.

Nous avons, ainsi, obtenu l'évolution spectrophotométrique du pigment en cours de décomposition, pu établir la dynamique de celle-ci, et donner des premiers éléments sur les composés qui se forment, trouvant au passage une explication sur l'effet autocatalytique sur l'oxydation des gras.

RESULTATS EXPERIMENTAUX

La figure 1 donne l'évolution de la courbe d'absorption spectrophotométrique au cours de la décomposition à la lumière du nitrosohème obtenu par extraction de HORNSEY; on observe une disparition progressive totale de tous pics en lumière visible, sans formation de complexe intermédiaire visible.

La figure 2 donne la cinétique de la disparition du pic caractéristique à 540 nm en fonction du temps; cette courbe reste identique à elle-même aux autres longueurs d'onde. On observe une descente linéaire, puis un plateau, enfin une décroissance exponentielle.

Par contre, si l'on centrifuge l'extraire qui commence à se décolorer avant

NITRITES AND NITROSAMINES IN PROCESSED MEATS

de faire chaque mesure spectrophotométrique, on n'observe plus les phases successives de la courbe, mais une chute rapide qui semble linéaire jusqu'au niveau d'absorption final, identique à celui précédent.

Ces expériences s'accompagnent de la formation d'un précipité noir soluble dans la pyridine, ou dans un mélange eau-pyridine, partiellement soluble dans l'eau ou l'alcool, et présentant une absorption photométrique maximum à 440 nm dans pyridine, 275 dans l'eau, 400 dans le mélange (fig.3). Ce précipité se dissout aussi en milieu chlorhydrique.

Ces éléments indiquent une décomposition du noyau hémique; nous l'avons d'abord confirmée par une réaction positive au ferrocyanure de potassium: celui-ci vire en formant du bleu de Prusse, ce qui prouve la présence d'ions Fe^{+++} libre.

Ce résultat a été confirmé sur jambons cuits: absence de réaction au ferrocyanure avant décoloration, formation lente après celle-ci, ce qui montre une nature identique de réaction, doublée très certainement dans les viandes d'une complexation du fer par les protéines.

Les mesures en absorption atomique sur le précipité repris par HCl à 1% confirme ce résultat.

Nous avons recherché la composition chimique brute du précipité noir observé (après l'avoir desséché à 104°C).

L'azote a été dosé par la méthode de KJENDHAL, le fer par absorption atomique après minéralisation classique humide (H_2SO_4 concentré + H_2O_2 , chauffage violent 5 h), les C et H par incinération à 800° sous courant d'air purifié, en présence de Cu et Pt, ce qui conduit à la formation de CO_2 et H_2O absorbé et dosé, l'un sur barite, l'autre sur P_2O_5 .

NO a été caractérisé par réaction de GRIESS. Cette dernière réaction ne se développe pas normalement, mais très lentement, ce qui prouve la présence de NO sous une forme fortement liée dans ce complexe, et retire toute valeur quantitative au dosage de GRIESS.

L'oxygène est estimé par différence.

La formule brute trouvée est $C_{15}H_{15}O_2NFe$

Nous n'avons pas cherché à la préciser.

Les résultats spectrophotométriques en UV (fig.3) peuvent laisser supposer la présence de deux corps, ou d'un seul dont la structure se modifie avec le solvant.

Nous avons complété cette étude par la mesure de la cinétique d'apparition de Fe^{+++} . La méthode de mesure utilisée est celle décrite par CHARLOT (colorimétrie à 480 nm au KSCN à 15% en milieu HCl).

L'extrait de HORNSEY était filtré au moment de chaque mesure, le dosage étant effectué sur le précipité retenu par le filtre (fig.4).

On observe la croissance quasi linéaire jusqu'au niveau d'équilibre.

L'étude de l'évolution conductimétrique sur l'extrait de HORNSEY (fig.5) montre une courbe présentant un maximum très net.

CONCLUSION

On constate, d'abord, que le NO reste fortement lié lors de la décomposition du nitrosohème, ce qui confirme la quasi absence de risque de formation de nitrosamine à partir du pigment des viandes salées, même lors de leur décoloration.

Par ailleurs, l'ensemble des résultats que nous avons obtenus nous conduisent à l'explication suivante de la photodécomposition du nitrosohème en présence d'air: il y a rupture du noyau tétrapyrolique avec libération transitoire du fer, comme montré ci-dessus.

Cette réaction est une réaction d'oxydation catalysée par Cu^{++} , comme l'a montré BEMBERS, et par Fe^{+++} comme la plupart des oxydations, et notamment celles des graisses.

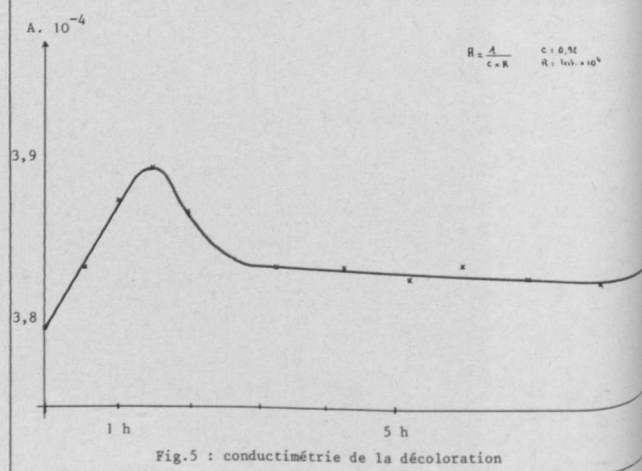
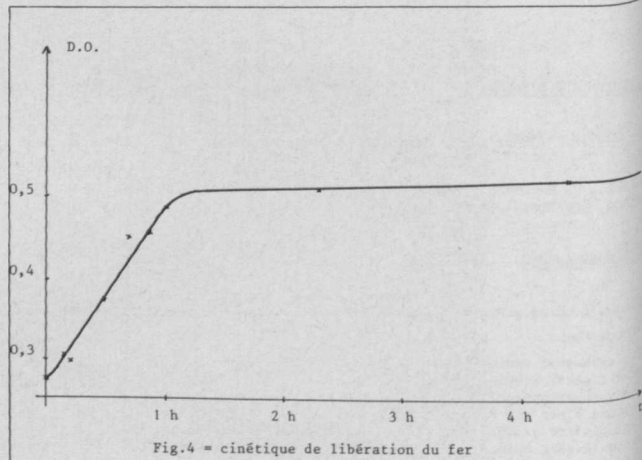
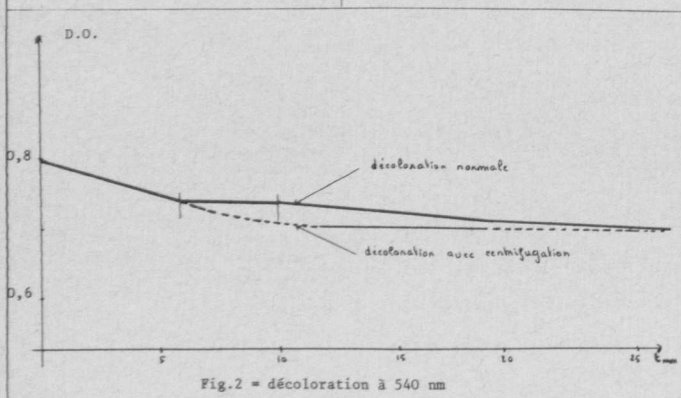
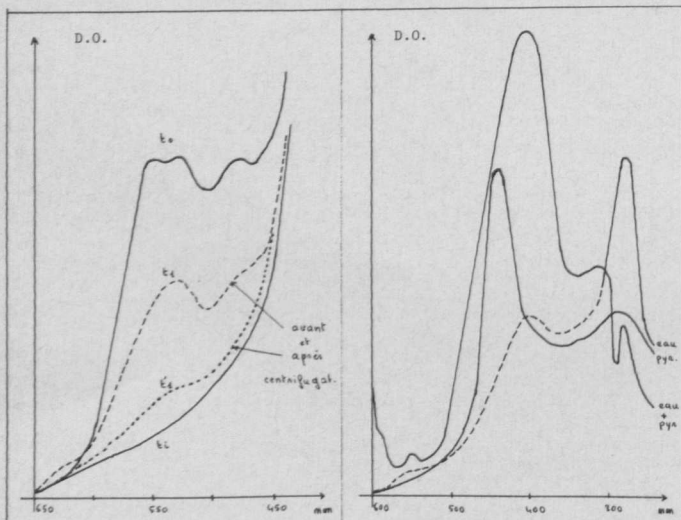
La réaction est donc autocatalytique, ce qui prouve l'allure linéaire de la première phase de la réaction observée, tant en spectrophotométrie qu'en conductimétrie, ou sur la dynamique de libération du fer.

Il y a ensuite formation d'un complexe de formule brute $C_{15}H_{15}O_2NFe$ pratiquement insoluble qui prouve la décomposition du tétrapyrole, par sa teneur en azote.

Ce complexe ne précipite qu'après rétrogradation en micelles de taille importante, ce qui explique le plateau observé sur la dynamique photométrique directe, et les modifications qu'apporte la centrifugation qui élimine ce complexe, au fur et à mesure de sa formation.

La conductimétrie confirme cette interprétation: elle croît pendant que le fer se libère et la phase de décroissance correspond à la formation de ce complexe.

L'action stabilisante observée de l'acide citrique et de l'acide tartrique s'explique par le pouvoir complexant du fer qui freine son action de catalyse. Nous avons trouvé la même action avec le pyrophosphate, et même l'acide glutamique et nombre d'acides aminés, cette action semblant fonction de leur pK de liaison au fer. La plupart des protéines ont un effet similaire, et stabilisent la couleur des salaisons. L'action de catalyse réciproque entre l'oxydation des gras et des pigments devient évidente avec la théorie ci-dessus.



NITRITES AND NITROSAMINES IN PROCESSED MEATS

- 1 AMERICAN MEAT INSTITUT The Science of Meat and Meat Product
W.H. FREEMAN and Co Ed.1960
- 2 E.ANTONINI, M.BRUNONI Hemoglobin and Myoglobin in then reactions with ligands - North Holland
Ed.1971
- 3 C.CANTONI, P.RENON, M.MACCAPANI
Grappi eme nelle carni sterilizzate con il calore
Industrie Alimentari - Aprile 73, p.81/85
- 4 C.CANTONI, R.BENATTI Pigmenti muscolari e concentrazione di H₂ S nelle carni in scatola
Ind.Alimentari - Aprile 73, p.86/90
- 5 C.CANTONI, M.MACCAPONI Le problème de la décoloration de jambons cuits - Ind.Alimentari 1974
V.13 N.102 p.77/89
- 6 CODES DES USAGES EN CHARCUTERIE-SALAISSON
(Méthodes d'analyse)
- 7 BEMBERS M. ZACHARIAH N. Influence de la fixation du cuivre sur l'autoxydation des oxymyoglobines
J.Of Food Science 1973, V.38; N.7 p.1122-1123
- 8 BROWN W.D. HARRIS L.S. Catalysis of unsaturated lipid oxydation by iron protoporphyrin derivatives
Arch.Biochem.Biophys.1963 101:14
- 9 J.CHARPENTIER La coloration des viandes et les principaux facteurs de variation - INRA 1969
12 p.
- 10 J.CHARPENTIER, L.MESLE Etude de la coloration des jambons de PARIS, 8ème Meet.of Meat Res.Inst.1962
27 p.
- 11 DIVISION OF MEDICAL SCI Hemoglobine standard Science - vol.127
1958 6 p.1376/78
- 12 L.DOMANGE Précis de chimie générale et minérale
Masson et Cie, 1959
- 13 A.M.ERDMANS, B.WATTS Spectrophotometric determination of color change in cured Meat
J.Agric.Food Chem.1957,vol.5,n°6,p.453/55
- 14 J.E.FALK **Porphyrine and metalloporphyrine**
Elsevier Publ.Comp.Amsterdam 1964
- 15 J.B. FOX, ACKERMAN Formation of nitrite oxyde myoglobin mechanisms of the reaction with varioux Reductons
J.of Food Sci.vol.33,1968,p.364/70
- 16 A.FROUIN, J.P.CORDIER Composition du pigment des viandes salées - The XIX th European meeting of Meat Research institutes, V.4,p.1473/92
- 17 M.FRITTOLI, C.CANTONI Reazioni ossidoriduttive nel processo del salagione della carne ossidazione del nitroto e formazione di met-pigmenti
Ind.Agrarie,vol.X, nov.72,p.443/452
- 18 A.FROUIN, J.BAZILE, M.THENOT Etude sur les pigments des viandes salées - Schéma réactionnel et risque de nitrosamines - IAA, 1974 (en cours de publication)
- 19 B.E.GREENE Retardation of oxydative color changes in raw ground beef journal of Food Science, V.36,1971,p.940/942
- 20 HAUROWITZ F. Destruction of Hemin and hemoglobin by the action of unsaturated fatty acids and oxygen
J.Biol.Chem.1941 140:353.
- 21 HIRANO Y Effetour of hème compounds on lipid oxydation
J.am.Oil Chem.Soc.1971 48:523
- 22 H.C.HORNSEY The colour of cooked cured porc
Journ.Sci.Food Agric.7,Aug.1956,p.534/40
- 23 H.C.HORNSEY The colour of cooked cured porc
Journ.Sci.Food Agric.10 feb.1959 p.114/124
- 24 B.JAY, J.FOX The Chemistry of Meat pigment
Journ.Agric.Food Chem.1966.Vol.14,n°3 p.207/210.
- 25 JACQMAIN D. LENGES J. Evaluation objective de la coloration de surface d'un produit alimentaire
Ind.Alim.et Agric.1973, p.1.13
- 26 KOIZUMI C. Oxydative changes in oxymyoglobin during interaction with arginine-linoleate
J.of Food Science. V.38 1973 p.813-815
- 27 C.KOIZUMI, W.DUANE BROWN Formation of nitric oxyde Myoglobin by Nicotinamide adenine dinucleotides and Flavins
Journ.Of.Sci.1971,V.36,p.1105/1109
- 28 MANDIGO R. KUNERT G. Traitement rapide du porc : influence sur la stabilité de la coloration des jambons salés
Journ.of Food Science,1973,V.38,n°6, p.1078/1079
- 29 R.P.MAHLER Process of stabiling the color of cooked Meat
United States Patent.2860.993 - nov.58
- 30 MARSHALL C.R. The action of nitrite ond Blood
J.Biol.Chem.1945 - p.187/208
- 31 K. MOHLER Bilan de la formation des pigments de viande salée
Z.Lebensmittel-Untersuchung - Forsh, vol.142 (3) 1970, p.169
- 32 K. MOHLER Formation of curing pigments by Chemical biochemical on enzymatic reactions, 1973, p.1/10
- 33 V.V.PALMIN, V.K.PRIZENKO Some aspects of colour formation in meat products
The XIX th European Meeting of meat Research institutes,v.4,p.1467/1472
- 34 J.F.REITH, M.SZAKALY Formation and stability of nitric oxyde myoglobin
J.of Food Sci.Vol.32,1967,p.188/196
- 35 J.D.ROBERT, M.C.CASERIO Chimie organique moderne
Ediscience 1968
- 36 RAEVUORI, M. HILL, P. NURMI, E Effet du nitrite, de l'erythroate et de l'acide citrique sur la couleur, le goût et la conservation des saucisses cuites.
Suomen ElaInl, 1973,79 (3) p.150/156
- 37 D.RUSSEL, L.PAULING The Magnetic properties of the compouds ethylisocyanide Ferrohemoglobin and imidazole-ferrihemoglobin
proc.N.A.S. 1939,vol.25,p.517/522
- 38 W.I. SOLOVIEW Intensité et stabilité de la couleur dans les produits carnés
Revue de la Conserve, mars 1959,p.77/83
- 39 B.G.TARLADGIS Interpretation of the Spectra of Meat Pigments
J.Sci.Food Agric.1962,vol.13,sept. p.485/495
- 40 B.G.TARLADGIS Preservation of Meat color
U.S.Patent 3.360.381,1967
- 41 B.G.TARLADGIS Procédé de conservation de la couleur de la viande
Brevet français 1.534.137 du 25.7.1967
- 42 H.WAHL Chimie générale appliquée
Masson et Cie, 1968
- 43 J.T.WEISS, GREEN R. WATTS B Effect of metal ions on the formation of nitric oxyde Hemoglobin
Food Res.1953,vol.18,p.11/16
- 44 F.WIRTH, L.LEISTNER Potentiel Red Ox dans les conserves de viande
15ème European Meat.Of Meat Res.Work, 1969,p.447/453
- 45 YOUNATHAN M.T. Oxydation of tissue lipids in cooked pork Food Res.25: 538 - 1960
- 46 O.ZATOGIL, C.BRUNN Sur le problème de l'action du Nitrite dans les produits carnés
Die Fleischwirtschaft,sept.1963,p.798/800
- 47 ANONYME Hemoglobin standard
Science V.127, p.1376/1378
- 48 ANONYME Salaison de viandes, recherche sur les facteurs de stabilité de la couleur.
Revue de la Conserve, 1958,p.88/99.