

STATE OF "NITRITE" IN MEAT PRODUCTS

ANDRE FROUIN AND MONIQUE THENOT

Sodium sulphite, in alkaline solution, gives a photometric absorption plot with peaks at 263 nm when the solution is pure, 268 and 274,5 nm when NO is present, 263 and 300 nm when NO_2^- is present, 263 and 350 nm when NO_2 is present. Using this reaction on cooked hams and dry sausages extracts the authors corroborate their theoretical study of last year, showing that "nitrite" is in the form of nitrogen monoxide NO in pork-butcher's meat. They corroborate this result by Zambelli's reagent.

This reagent does not give any characteristic peak with NO_2^- when the initial stage, in acidic solution, is suppressed, but it gives a peak with NO in the same conditions.

Therefore it is necessary to take into account the theoretical equilibrium equations explained last year, and to estimate that nearly all the NO_2^- is broken up to NO and fixed under this form in meat products.

This explains that nitrosamines are formed only when high nitrite contents saturate the fixation capacities of NO by meat, or with high temperatures which release NO and permit its re-oxidation, giving NO_2^- .

Therefore, a new approach of the problems of quantitative analysis and toxicity of nitrite is necessary, taking account of these elements.

ETAT DU " NITRITE " DANS LES PRODUITS DE VIANDE

ANDRE FROUIN ET MONIQUE THENOT

Le sulfite de sodium, en milieu alcalin, donne une courbe d'absorption photométrique avec des pics à 263 nm en solution pure, 268 et 274,5 nm en présence de NO, 263 et 300 nm en présence de NO_3^- , 263 et 350 nm en présence de NO_2 .

En utilisant cette réaction sur extraits de jambons cuits et de saucissons secs, les auteurs confirment leur étude théorique de l'an dernier, en montrant que le " nitrite " se trouve sous forme de monoxyde d'azote NO dans les produits de charcuterie.

Ils confirment ce résultat par le réactif de Zambelli : celui-ci ne donne pas de pic caractéristique avec NO_2^- lorsque l'on supprime le passage initial en solution acide, mais donne un pic avec NO dans ces mêmes conditions.

Il y a donc lieu de tenir compte des équations théoriques d'équilibre exposées l'an dernier, et d'estimer que la quasi totalité du NO_2^- est décomposée en NO et fixée sous cette forme dans les produits de viandes. Ceci peut expliquer que les nitrosamines ne se forment qu'en cas de fortes teneurs en nitrite saturant les capacités de fixation de NO par les viandes, ou avec des températures élevées qui délient le NO et permettent sa réoxydation en NO_2 .

Une nouvelle approche des problèmes de dosage et de toxicité du nitrite, tenant compte de ces éléments, est donc nécessaire.

ZUSTAND DES "NITRITS" IN DEN FLEISCHERZEUGNISSEN

ANDRE FROUIN UND MONIQUE THENOT

Natriumsulfit weist in alkalischer Umgebung eine photometrische Absorptionskurve mit Spitzen bei 263 nm in reiner Lösung, bei 268 und 274,5 nm in Anwesenheit von NO, bei 263 und 300 nm in Anwesenheit von NO_3^- und bei 263 und 350 nm in Anwesenheit von NO_2 auf.

Unter Verwendung dieser Reaktion auf Extrakten von gekochtem Schinken und Hartwurst bestätigen die Verfasser ihre theoretische Untersuchung vom letzten Jahr und zeigen, dass "Nitrit" sich in Form von Stickstoffmonoxid NO in den Wursterzeugnissen findet.

Sie bestätigen dieses Ergebnis mittels des Zambelli-Reaktivs : Dieses liefert keine charakteristische Spitze mit NO_2^- , wenn der anfängliche Durchgang durch eine saure Lösung entfällt, liefert wohl aber eine Spitze mit NO unter den gleichen Bedingungen.

Es ist daher statthaft, die letztes Jahr vorgelegten theoretischen Gleichgewichtsgleichungen zu berücksichtigen und davon auszugehen, dass die Gesamtmenge NO_2^- sich in NO zersetzt und in dieser Form in den Fleischzeugnissen fixiert bleibt. Dies kann erklären, dass die Nitrosamine sich erst bilden, wenn starke Gehalte an Nitrit die Aufnahmefähigkeit des Fleisches an NO binden oder wenn hohe Temperaturen auftreten, die das NO lösen und seine Rückoxidierung in NO_2 ermöglichen.

Es wird somit eine neue Behandlung der Probleme der Dosierung und der Giftigkeit von Nitrit unter Berücksichtigung dieser Ergebnisse erforderlich.

СОСТОЯНИЕ "НИТРИТА" В МЯСНЫХ ПРОДУКТАХ

АНДРЕ ФРУЭН и МОНИКА ТЕНО

Сульфит натрия дает в щелочной среде кривую фотометрического поглощения с пиками 263 nm в чистом растворе, 268 и 274,5 nm при наличии NO, 263 и 300 nm при наличии NO_3^- , 263 и 350 nm при наличии NO_2 .

Используя эту реакцию на экстрактах вареной ветчины и сухой колбасы, авторы подтверждают свое расчетное исследование прошлого года, показывая, что "нитрит" находится в виде монооксида азота O в колбасных продуктах.

Они подтверждают этот результат реагентом Замбелли : последний не дает характерного пика с NO_2^- когда отменяется начальный проход в кислом растворе, но дает пики с NO в тех же условиях.

Так что следует учитывать расчетные уравнения равновесия, приведенные в прошлом году, и считать, что NO_2^- почти полностью разлагается в NO и фиксируется в этом виде в мясных продуктах. Это может объяснить, что нитросамины образуются только в случаях значительного содержания нитрита, насыщающего способности фиксации NO в мясе, или под высокими температурами, которые освобождают NO и позволяют его повторное окисление в NO_2 . Следовательно необходимо проводить дальнейшее исследование задач дозировки и токсичности нитрита, учитывая вышеуказанные элементы.

ETAT DU NITRITE DANS LES PRODUITS DE VIANDE

ANDRE FROUIN et MONIQUE THENOT

Service de Recherche de la Société Olida et Caby Associés
 50, rue Raspail
 92304 LEVALLOIS-PERRET (FRANCE)

Introduction

Nous vous avons montré, l'an dernier, que le nitrite NO_2^- devait se décomposer dans les conditions de pH et d'oxydo-réduction des produits de viande. Il doit être transformé presque complètement en monoxyde d'azote NO.

Nous avons également montré que les produits de viande contiennent de nombreux corps capables de fixer le NO de façon plus ou moins forte, si bien que la faible solubilité de l'oxyde NO dans l'eau n'empêche pas la présence d'une quantité importante de NO dans les produits de viande.

Nous avons également confirmé que les méthodes de dosage des nitrites, dérivant des réactions de GRIESS ou de ZAMBELLI, ne permettent pas de distinguer les nitrites de NO, ce qui est conforme aux résultats des divers auteurs qui ont étudié ce sujet.

Nous avons cherché, cette année, des réactions qui permettent de distinguer les nitrites (NO_2^-) et l'oxyde d'azote (NO) dans les produits de viande pour confirmer expérimentalement la théorie que nous vous avons proposée l'an dernier.

Méthodes

Nous avons trouvé deux réactions possibles pour résoudre ce problème. D'abord, celle de TREADWELL and HALL (1935), reprise par FOX (1974).

1/ - Les solutions de sulfite en milieu alcalin donnent des spectres photométriques qui permettent de caractériser séparément NO , NO_2^- et NO_3^- comme montré sur la figure 1 : pic à 263 nm des sulfites purs, à 268 et 274,5 nm en présence de NO, 263 et 300 nm en présence de NO_3^- , 263 et 350 nm en présence de NO_2^-

2/ - La seconde réaction dérive directement de celle de ZAMBELLI qui se compose normalement de deux phases : le produit est d'abord porté en milieu HCl à pH 0, en présence du réactif (acide sulfanilique + phénol). Ensuite, on porte la solution à pH 10 par adjonction de NH_3 ce qui permet le développement du pic caractéristique.

Lorsque l'on supprime le passage en milieu acide, en ajoutant directement le réactif (acide sulfanilique + phénol) en milieu alcalin (pH 8 à 13) avec NH_3 , le nitrite (NO_2^-) ne donne aucune coloration, mais l'oxyde d'azote NO donne une couleur caractérisée par un pic d'absorption à 400 nm comme le montre la figure 2.

Résultats

La figure 3 montre les courbes d'absorption photométriques obtenues sur extraits aqueux de jambons cuits et de saucissons secs, à pH 8, en présence de sulfite. Ces essais ont été répétés de nombreuses fois.

On y constate l'absence de nitrite (NO_2^-) et la présence d'oxyde d'azote NO en forte quantité. La figure 4 montre la courbe obtenue sur jambons cuits avec le réactif de ZAMBELLI utilisé en milieu alcalin, sans l'étape préalable acide. On y constate, comme ci-dessus, la présence d'oxyde d'azote NO.

Conclusion

La transformation pratiquement complète du nitrite apporté aux produits de viande en oxyde d'azote NO, nous paraît donc expérimentalement prouvée, conformément aux prévisions théoriques de la chimie fondamentale. Cela oblige à voir les problèmes des nitrites dans les viandes sous un jour nouveau, et à réorienter les études qui portent sur ces sujets, y compris celles qui regardent les formations de nitrosamines.

F9:4

En effet, le NO est maintenu dans les produits de viande parce que beaucoup de corps le fixent. Nous-mêmes, et de nombreux auteurs ont déjà mis en évidence la fixation de " nitrite " par beaucoup de composés de la viande. En réalité, ce n'est pas du " nitrite " mais de l'oxyde d'azote NO qui est fixé comme le montre l'étude précédente et nos travaux de l'an dernier. Toutes les réactions des nitrites ou du NO dans les viandes dépendent des forces de fixation de NO par les divers composés de la viande.

La réactivité de NO se caractérise par la présence de très nombreuses réactions d'équilibre de fixation de NO; nous connaissons très mal ces réactions et la vitesse à laquelle le nitrite est réduit en NO.

On notera que la transformation du nitrite en NO et la fixation de celui-ci expliquent que la formation de nitrosamines est nulle, lorsque la quantité de nitrite apportée est raisonnable, car les nitrosamines se forment à partir de NO_2H ou de N_2O_3 d'après les théories actuelles; or, ces corps disparaissent lorsque le nitrite est réduit en NO dans les viandes.

C'est probablement pour la même raison que l'on observe la disparition progressive des nitrosamines dans les produits de viande en cours de stockage, ou lorsque l'on ajoute artificiellement des nitrosamines.

La formation de nitrosamines lors du grillage du bacon s'explique aussi : nous avons constaté que l'on entraîne le NO des produits de viande par distillation, même à 40°C sous vide, encore mieux à chaud, évidemment.

Lors du grillage, le NO est donc délié de la viande, oxydé par l'oxygène de l'air ou des peroxydes, et transformé en NO_2 , N_2O_3 , N_2O_5 , NO_2H , NO_3H , etc .. et conduit ainsi à la formation de nitrosamines. On notera finalement que le remplacement du nitrite par le gaz NO, pour la salaison des viandes, ne doit pas changer les problèmes toxicologiques, car la formation de nitrosamines lorsque l'on ajoute du nitrite, ne peut se produire que pendant la phase initiale durant laquelle le nitrite est progressivement réduit en NO par la viande.

On réduira ou supprimera la formation de nitrosamines dans les produits de viande, en recherchant ces corps capables de fixer fortement le NO, comme par exemple, les pigments des viandes, ou l'ascorbate de sodium, comme l'ont montré divers auteurs.

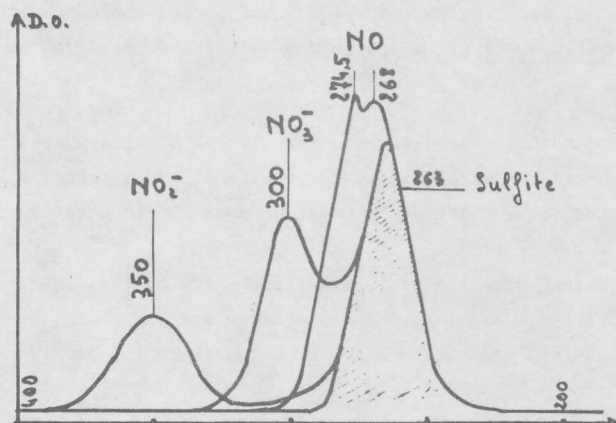


FIG 1 : Sulfite alcalin : caractérisation NO, NO_2^- , NO_3^-

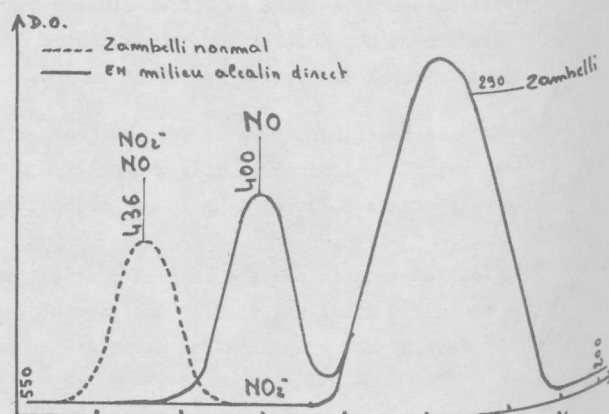


FIG 2 : caractérisation NO par Zambelli alcalin

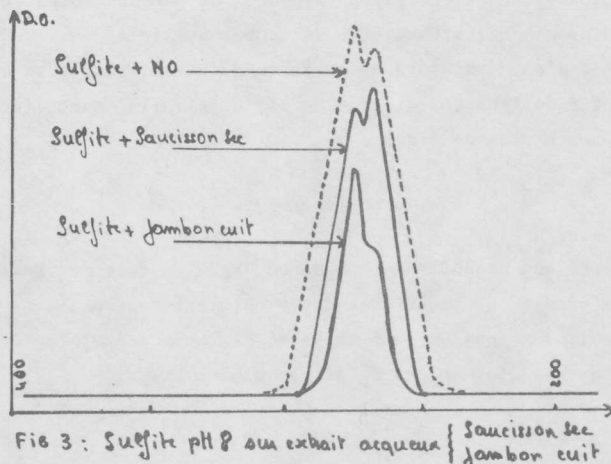


FIG 3 : Sulfite pH 8 sur extrait aqueux } Saucisson sec jambon cuit

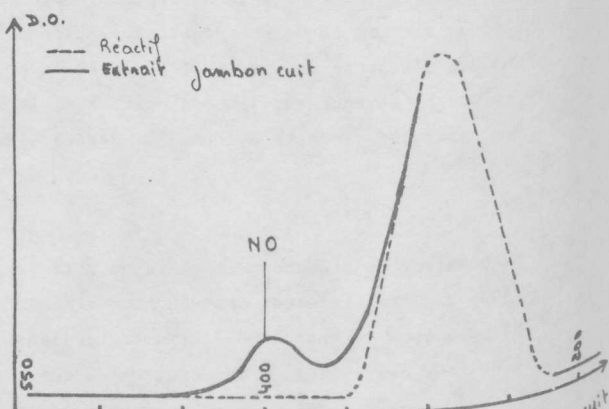


FIG 4 : Zambelli alcalin sur extrait aqueux jambon cuit

BIBLIOGRAPHIE

1. ANDO, N. Effects of some food preservatives on the behaviour of nitrite during the processing of meat products. XVth European Meeting of Meat Research Workers, Helsinki, 1969, 474-81
2. ANDO, N. et col. Reaction of nitrite with sarcoplasmic proteins. XVIIth European Meeting of Meat Research Workers, 1971, Bristol, C 8, 227-33
3. BURGER, I.H. et col. Interaction of nitrite with mammalian mitochondrial cytochromes. Biochem.J. 1971, 123
4. BURNS, T. Some studies on the photolytic decomposition stage in the estimation of N-nitrosamines. J.Food Technol. 1971, 6, 433-8
5. CANTONI, C. Nitrosamines in foods. Ind.Alimentari 1974, 13, 10, 95-97
6. CANTONI, C. Reactions between nitrites and SH groups of foods during digestion. Ind.Alimentari, 1974, 13, 12, 63-68 (R)
7. CANTONI, C. et col. Free and bound nitrites in meat products. Ind.Alimentari 1974, 9, 129-131
8. CASSENS, R. Où passe le nitrite. Food product development 1974, V 8, N 10, 50-56
9. CASSENS, R. Nitrites and nitrosamines in processed meats. XXth European Meeting of Meat Research Workers 1974 (session E: Medical Aspect) p. 38
10. EISENBRAND, G. Rapid formation of carcinogenic N-nitrosamines by interaction of nitrite with fungicides derived from dithiocarbamic acid.in vitro under simulated gastric conditions and in vivo in the rat stomach. Food and Cosmetics Toxicology 1974, 12, 2, 229-32 (R)
11. ENDER, F. et col. Conditions and chemical reaction mechanisms by which nitrosamines may be formed in biological products with reference to their possible occurrence in food products. Z.Lebensmittel-Unters und Forschung, 1971, 145, 133-42
12. FAN, T.Y. Natural inhibitors of nitrosation reactions. The concept of available nitrite. J.of Food Science, 1973, sept-oct, 1067-70
13. FAN, T.Y. et col. Stability of N-nitroso compounds. J.of Food Science, 1972, 37, 274-6
14. Fiddler, W. et col. The role of lean and adipose tissue on the formation of nitroso-pyrrolidine in fried bacon. J.of Food Science, 1974, 39, 5, 1070-71
15. FIDDLER, W. et col. Effect of frankfurter cure ingredients on N-nitrosodimethylamine formation in a model system. J.of Food Science, 1973, mai-juin, 714-15
16. FIDDLER, W. et col. Use of sodium ascorbate or erythorbate to inhibit formation of N-nitrosodimethylamine in frankfurters. J.of Food Science, 1973, sept-oct, 1084-86
17. FOX, J.B., JAY, B. Nitrite in meat Effect of various compounds on loss of nitrite. J.of Agricultural and Food Chemistry, 1974, 22, 2, 302-306
18. FRIEDMAN et col. Inhibition of mouse-liver microsomal enzyme function after oral administration of sodium nitrite. Food and Cosmetics toxicology, 1974, 12, 2, 195-200 (R)
19. FROUIN, A., CORDIER, J.P. Composition du pigment des viandes salées. The XIXth European Meeting of Meat Research Workers, 1973, V 4, 1473-92
20. FROUIN, A., JONDEAU, D., THENOT, M. Etude sur l'état de disponibilité du nitrite dans les produits de viande pour la formation de nitrosamines. The XXth European Meeting of Meat Research Workers, 1975, 200-202
21. FROUIN, A., THENOT, M., JONDEAU, D. Etude sur la photodécomposition du nitrosohème. The XXth European Meeting of Meat Research Workers, 1974, 85-87
22. GOUTEFONGEA, R. et col. Contribution à l'étude de la fixation du nitrite aux myofibrilles du muscle de porc. XXth European Meeting of Meat Research Workers, 1974, 88
23. KNOWLES, M.E. et col. Nitrosation of phenols in smoked bacon. Nature, UK 249, 1974, 5458, 672-73

24. KUBBERØD, R.G., CASSENS et col. Reaction of nitrite with sulfhydryl groups of myosin. J.of Food Science, 1974, 39, 1228-30.
25. KNOWLES, M.E. et col. C-nitrosation products in food. IV Int. Congress of Food Sc.and Technology. Abstracts of Papers 9a, 1974, 214 (R)
26. MIRNA, A. Determination of free and bound nitrite. Intern.Symp.on nitrite in Meat products, 1973, sept. ZEIST, 21-28
27. MIRVISH, S.S. Ascorbate-nitrite reaction: possible means of blocking the formation of carcinogenic N-nitrosocompounds. Science, 1972, 177, 65-7
28. MOHLER, K. Formation of nitrosamines from lecithin and nitrite. Zeitschrift für Lebens - Unters und Forsch, 151, 1, 52-53, 1973 (R)
29. MOTTRAM, D.S. Influence of ascorbic and pH on the formation of N-nitrosodimethylamine in cured pork containing added dimethylamine. J.of the Sc.of Food and Agriculture, 1975, 26, 1, 47-53 (R)
30. OLSMAN, W.J. The depletion of nitrite in heated meat products during storage. XVIIIth European Meeting of Meat Research Workers, 1972, Guelph, 409-15
31. RANKEN, M. Nitrites and nitrosamines in processed meats. XXth European Meeting of Meat Research Workers, 1974 (Session F = chemistry), 49
32. RIHA, W.E. et col. Instability of sodium nitrite in a chemically defined microbiological medium. J.of Food Sc. 1973, 38, 1-3
33. SEBRANEK, J.G., CASSENS, R.G. et col. Fate of added nitrite. Intern.Symp.on nitrite in Meat products, 1973, 38, 1-3
34. SEBRANEK et col. 15 N Tracer studies of nitrite added to a comminuted meat product. J.of Food Science, 1973, 38, 1220-22
35. SEN, N.P. et col. Effect of additives on the formation of nitrosamines in meat curing mixtures containing spices and nitrite. J.of Agricultural and Food Chemistry, 1974, 22, 6, 1125-30 (R)
36. SEN, N.P. et col. Effect of sodium nitrite concentration on the formation of nitroso-pyrrolidine and dimethylnitrosamine in fried bacon. J.of Agricultural and Food Chemistry, 1974, 22, 3, 540-41 (R)
37. SUSIC et col. Effect of nitrate, nitrite and ascorbic acid on sulfhydryl groups in canned cured meat. Die Fleischwirtschaft, 1974, 54, 6, 1081-1083
38. WALTERS, C.L. et col. The reduction of nitrite by skeletal muscle mitochondria. Bioch.Biophysica Acta, 1965, 96, 522-24
39. WALTERS, C.L. et col. Chemical and biochemical Implications of nitrite during curing. XVIIth European Meeting of Meat Research Workers, Bristol, 1971, a, C₁
40. WOLFF, I.A. et col. Nitrates, nitrites, Nitrosamines. Science, 1972 a, 177, 15-19