



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ**
UNIVERSITY OF WEST ATTICA

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Νιτρικά και νιτρώδη άλατα στην επεξεργασία κρέατος. Τρόπος δράσης και
δυνατότητα αντικατάστασης τους**



ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ: ΠΟΥΛΟΠΟΥΛΟΣ ΛΑΜΠΡΟΣ

ΑΜ : 20684084

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΜΠΡΑΤΑΚΟΣ ΣΩΤΗΡΙΟΣ

Έγινε δεκτή

Οι υπογράφοντες δηλώνουμε ότι έχουμε εξετάσει τη πτυχιακή εργασία με τίτλο «Νιτρικά και νιτρώδη άλατα στην επεξεργασία κρέατος. Τρόπος δράσης και δυνατότητα αντικατάστασης τους» που παρουσιάστηκε από τον Πουλόπουλο Λάμπρο και βεβαιώνουμε ότι γίνεται δεκτή.

Ημερομηνία παρουσίασης: 04/03/2024	Όνομα επιβλέπων Μπρατάκος Σωτήρης	Υπογραφή
	Όνομα μέλους επιτροπής Παπαδοπούλου Όλγα	Υπογραφή
	Όνομα μέλους επιτροπής Ευτυχία Κρίτση	Υπογραφή

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Ο κάτωθι υπογεγραμμένος, Πουλόπουλος Λάμπρος, με αριθμό μητρώου 20684084, φοιτητής του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Επιστημών Τροφίμων, του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, δηλώνω υπεύθυνα ότι: «Είμαι συγγραφέας αυτής της διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Πουλόπουλος Λάμπρος



Ο Δηλών

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ολοκληρώνοντας την πτυχιακή εργασία μου, φτάνω ένα βήμα πριν την ολοκλήρωση των προπτυχιακών σπουδών μου. Σε αυτό το σημείο, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου, την γιαγιά και τον παππού μου, που με στηρίζουν καθημερινά και με βοηθούν να εκπληρώσω τα όνειρά μου, καθοδηγώντας με σε όλους τους τομείς της ζωής μου. Ακόμα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον αδερφό μου, την κοπέλα μου και όλους τους φίλους που είναι πάντα στο πλευρό μου και που χωρίς εκείνους δεν θα ήμουν ο άνθρωπος που είμαι σήμερα. Επίσης ένα μεγάλο ευχαριστώ σε όλους τους καθηγητές που με βοήθησαν να εξελίξω τον τρόπο σκέψης μου και διευρύνοντας τις γνώσεις και το ενδιαφέρον με ώθησαν να πιστεύω περισσότερο στον εαυτό μου και να εξελιχθώ στην επιστήμη που έχω ακολουθήσει. Θα ήθελα να ευχαριστήσω ξεχωριστά την κα Παπαδοπούλου για τον χρόνο που αφιέρωσε για τις διορθώσεις αυτής της εργασίας και για την στήριξη που μου παρείχε.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα πτυχιακή εργασία εξετάζεται η προσθήκη των νιτρικών/νιτρωδών αλάτων σε προϊόντα κρεατοσκευασμάτων και οι πιθανοί τρόποι αντικατάστασής τους. Τα συγκεκριμένα πρόσθετα χρησιμοποιούνται εκτενώς στις βιομηχανίες κρέατος καθώς βελτιώνουν ορισμένα χαρακτηριστικά των πρώτων υλών, επεκτείνουν την διάρκεια ζωής τους επιβραδύνοντας την οξειδωτική τάγγιση και παρέχουν σημαντική μικροβιολογική ασφάλεια. Όμως, τα τελευταία χρόνια έχει αποδειχτεί ότι τα νιτρικά/νιτρώδη άλατα σχετίζονται με τον σχηματισμό N-νιτροζαμινών, που με βάση τον Διεθνή Οργανισμό Έρευνας για τον Καρκίνο (IARC) τοποθετούνται στις τρεις ισχυρότερες καρκινογόνες ουσίες που έχουν γονιδιατοξικές ικανότητες και προκαλούν βλάβες και μεταλλάξεις στο DNA. Το γεγονός αυτό προκαλεί αρκετές επιπτώσεις και προτείνεται η προσθήκη τους να περιοριστεί ή ακόμα και να αντικατασταθεί. Έως σήμερα, δεν υπάρχει κάποιο πρόσθετο ή κάποια ουσία που να παρέχει όλες τις δράσεις των νιτρικών/νιτρωδών αλάτων, ωστόσο υπάρχουν αρκετές εναλλακτικές λύσεις που με συνεργατική δράση έχουν αρκετά ικανοποιητικά αποτελέσματα.

Λέξεις κλειδιά: Νιτρικά άλατα, Νιτρώδη άλατα, Νιτροζαμίνες, Επεξεργασία κρέατος

ABSTRACT

In this study, the addition of nitrates/nitrites salts to meat products and possible ways of replacing them are examined. These additives are used extensively in the meat industries as they improve the sensory characteristics of raw meat, extend their shelf life by postponing oxidative rancidity, and provide significant microbiological safety. However, in recent years it has been shown that nitrates/nitrites are associated with the formation of N-nitrosamines, which according to the International Agency for Research on Cancer (IARC) are among the three most potent carcinogens with genotoxic potential and cause DNA damage and mutations. This fact causes several effects, and it is proposed that their addition should be limited or even replaced. To date, no additive or substance provides all the effects of nitrate/nitrite, but there are several alternatives, with synergistic actions that can provide satisfactory results.

Keywords: Nitrite, Nitrate, Nitrosamines, Meat processing

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Περιεχόμενα

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	4
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	5
ABSTRACT	6
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ^ο - ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	10
1.1 Ιστορική πορεία – πρώτες μέθοδοι συντήρησης.....	10
1.2 Πρόσθετα τροφίμων.....	10
1.3 Νιτρικά και νιτρώδη άλατα σε προϊόντα κρέατος.....	13
1.4 Νομοθεσία νιτρικών και νιτρώδων αλάτων	16
1.5 Παράγοντες διαφοροποίησης.....	18
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ^ο Ευεργετικές επιδράσεις νιτρικών και νιτρώδων αλάτων.....	21
2.1 Σχηματισμός χρώματος.....	21
2.2 Δράση νιτρικών στον χρωματισμό τους κρέατος.....	21
2.3 Δράση νιτρώδων στον χρωματισμό τους κρέατος.....	22
2.4 Αντιοξειδωτική δράση νιτρώδων αλάτων.....	23
2.5 Αντιμικροβιακή δράση.....	25
2.6 Επίδραση νιτρικών και νιτρώδων αλάτων στο άρωμα-γεύση.....	26
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ^ο Νιτροζαμίνες.....	28
3.1 Νιτροζαμίνες γενικά.....	28
3.2 Δευτερογενείς αμίνες - πρόδρομες ουσίες.....	29
3.3 Κατηγορίες N-νιτροζαμινών.....	29
3.4 Ανίχνευση Νιτροζαμινών.....	30
3.5 Σχηματισμός νιτροζαμινών.....	32
3.6 Παράγοντες που ευνοούν την δημιουργία νιτροζαμινών.....	33
3.7 Επιδράσεις νιτροζαμινών στην ανθρώπινη υγεία.....	34
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ^ο Αναγκαιότητα εναλλακτικών πηγών νιτρικών/νιτρώδων αλάτων.....	36
4.1 Κύριες αιτίες αντικατάστασης νιτρικών/νιτρώδων αλάτων.....	36
4.2 Εναλλακτικές λύσεις στον σχηματισμό χρώματος.....	37
4.3 Εναλλακτικές λύσεις στην αντιμικροβιακή δράση.....	38
4.4 Εναλλακτικές λύσεις για την αντιοξειδωτική δράση.....	40
4.5 Εναλλακτικές λύσεις για το άρωμα-γεύση.....	42

4.6 Μικροοργανισμοί ως αντικαταστάτες.....	43
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	45
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ	49

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

ΕΙΚΟΝΑ 1: ΜΟΡΦΗ ΝΙΤΡΩΔΟΥΣ ΚΑΛΙΟΥ	11
ΕΙΚΟΝΑ 2: ΜΟΡΦΗ ΝΙΤΡΩΔΟΥΣ ΝΑΤΡΙΟΥ	12
ΕΙΚΟΝΑ 3: ΜΟΡΦΗ ΝΙΤΡΙΚΟΥ ΝΑΤΡΙΟΥ	12
ΕΙΚΟΝΑ 4: ΜΟΡΦΗ ΝΙΤΡΙΚΟΥ ΚΑΛΙΟΥ	13
ΕΙΚΟΝΑ 5: ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΚΡΕΑΤΟΣΚΕΥΑΣΜΑΤΩΝ	14
ΕΙΚΟΝΑ 6: ΕΠΙΠΕΔΑ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΩΝ NO ₂ - ΚΑΙ NO ₃ - ΣΕ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΚΡΕΑΤΟΣ (BERARDI ET AL., 2021)	14
ΕΙΚΟΝΑ 7: ΝΙΤΡΙΚΑ ΚΑΙ ΝΙΤΡΩΔΗ ΣΕ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΚΡΕΑΤΟΣ. ΑΠΟΣΠΑΣΜΑ ΑΠΟ ΤΗΝ ΟΔΗΓΙΑ (1995) (ΙΣΧΥΕΙ ΕΩΣ ΤΟ 2006) ΕΚ ΤΟΥ ΕΥΡΩΠΑΪΚΟΥ ΚΟΙΝΟΒΟΥΛΙΟΥ ΚΑΙ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΥ (HONIKEL, 2008).....	17
ΕΙΚΟΝΑ 8: ΑΠΟΣΠΑΣΜΑ ΑΠΟ ΤΗΝ ΟΔΗΓΙΑ 2006/52/ΕΚ ΣΧΕΤΙΚΑ ΜΕ ΤΑ ΝΙΤΡΩΔΗ ΚΑΙ ΝΙΤΡΙΚΑ ΑΛΑΤΑ ΓΙΑ ΤΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΚΡΕΑΤΟΣ(HONIKEL, 2008).....	17
ΕΙΚΟΝΑ 9: ΜΕΤΑΤΡΟΠΗ ΤΗΣ ΜΥΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ ΣΤΟ ΚΡΕΑΣ.(GASSARA ET AL., 2016Α).....	22
ΕΙΚΟΝΑ 10: Ο ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΝΙΤΡΩΔΩΝ ΜΕΣΩ ΤΗΣ ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΗΣ ΡΙΖΑΣ ΤΩΝ ΛΙΠΙΔΙΩΝ.(JO ET AL., 2020).....	24
ΕΙΚΟΝΑ 11: ΧΗΜΙΚΕΣ ΔΟΜΕΣ ΤΩΝ ΟΥΣΙΩΝ N-ΝΙΤΡΟΖΟΔΙΜΕΘΥΛΑΜΙΝΗ (NDMA) ΚΑΙ N-ΝΙΤΡΟΖΟΔΙΑΙΘΥΛΑΜΙΝΗ (NDEA).....	30
ΕΙΚΟΝΑ 12: ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΝΙΤΡΟΖΑΜΙΝΗΣ (XIE ET AL., 2023)	32
ΕΙΚΟΝΑ 13: ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΜΕ 12 PPM CCMP ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ 156 PPM ΝΙΤΡΩΔΗ	37

ΕΙΚΟΝΑ 14: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΗΣ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ ΣΠΟΡΙΩΝ ΣΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΑΕΡΙΩΝ ΚΑΙ ΤΟΞΙΝΩΝ ΣΕ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΕΣ ΚΡΕΑΤΟΣ (WOOD ET AL., 1986)	39
ΕΙΚΟΝΑ 15 : ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΜΕ ΣΤΟΧΟ ΤΗΝ ΑΠΟΤΡΟΠΗ ΤΗΣ ΠΟΙΟΤΙΚΗΣ ΥΠΟΒΑΘΜΙΣΗΣ ΤΩΝ ΚΡΕΑΤΟΣΚΕΥΑΣΜΑΤΩΝ. (MARTINEZ-ZAMORA ET AL., 2021)	42

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

ΠΙΝΑΚΑΣ 1: ΕΓΚΕΚΡΙΜΕΝΟΙ ΚΩΔΙΚΟΙ ΝΙΤΡΩΔΩΝ/ΝΙΤΡΙΚΩΝ ΑΛΑΤΩΝ.	11
ΠΙΝΑΚΑΣ 2: ΕΠΙΠΕΔΑ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΩΝ NO ₂ - ΚΑΙ NO ₃ - ΣΕ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΚΡΕΑΤΟΣ (BERARDI ET AL., 2021)	15
ΠΙΝΑΚΑΣ 3: ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΝΙΤΡΟΖΑΜΙΝΗΣ ΣΕ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΑ ΚΡΕΑΤΑ(MG/KG). (PARK ET AL., 2015).....	31
ΠΙΝΑΚΑΣ 4: ΚΥΡΙΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΑ ΕΙΔΗ ΠΟΥ ΕΠΙΔΕΙΚΝΟΥΝ ΔΡΑΣΗ ΜΕΙΩΣΗΣ ΤΩΝ ΝΙΤΡΩΔΩΝ ΑΛΑΤΩΝ. (ZHANG ET AL., 2023)	44

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο - ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Ιστορική πορεία – πρώτες μέθοδοι συντήρησης

Αδιαμφισβήτητα, τα προϊόντα κρέατος και το ίδιο το κρέας αποτελούν μερικές από τις σημαντικότερες πηγές ενέργειας για τον άνθρωπο. Η κατανάλωση προϊόντων κρέατος αποτελεί έντονη προτίμηση για το ανθρώπινο διαιτολόγιο και αποδεικνύεται από την επί αιώνες κατανάλωσή του, πριν από 3 εκατομμύρια χρόνια. Από το ξεκίνημα της ανθρωπότητας, το ζωικό κρέας συνέβαλλε ως «σύμμαχος» στον πρωτόγονο άνθρωπο, ώστε να ανταπεξέλθει στα τροφικά του ένστικτα. Όμως το νωπό κρέας, εγκυμονεί πολλούς κινδύνους και αντενδείκνυται για μακροχρόνια αποθήκευση. Το ανθρώπινο είδος, 1,5 εκατομμύριο χρόνια πριν, πειραματίστηκε με την χρήση φωτιάς και διαπίστωσε, ότι τα ψημένα ή καπνιστά προϊόντα κρέατος ήταν σταθερότερα για αποθήκευση, γεγονός που κατέστησε το ψήσιμο και το κάπνισμα τις πρώτες μεθόδους συντήρησης για το κρέας και τα προϊόντα του. Θεωρείται ότι η αιτία, για την τρέχουσα χρήση των νιτρικών και νιτρώδων αλάτων προέρχεται επίσης από τις αρχαίες πρακτικές, όπου συνηθιζόταν να αλατίζεται το κρέας διότι είχε διαπιστωθεί ότι εμφάνισε ανοχή στην βραχυπρόθεσμη υποβάθμισή του. Στη συνέχεια με την πάροδο των χρόνων, την εξέλιξη και την πρόοδο στους επιστημονικούς τομείς, ανακαλύφθηκαν τα «σημερινά» νιτρικά και νιτρώδη άλατα ως προσμίξεις με το κοινό αλάτι και χρησιμοποιούνται ευρέως στην επεξεργασία του κρέατος. (Zhang et al., 2023)

1.2 Πρόσθετα τροφίμων

Η ορολογία των πρόσθετων τροφίμων, μας παραπέμπει σε ουσίες που παρουσιάζουν ευρεία εφαρμογή στον κλάδο της Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων. Η χρήση-προσθήκη τους παρατείνει την διάρκεια ζωής διαφόρων κατηγοριών τροφίμων και κρεατοσκευασμάτων. Επιπρόσθετα, η δράση τους βελτιώνει την έλξη προϊόντων, μέσω του χρωματισμού και των γλυκαντικών υλών που περιέχουν. Βελτιώνουν τόσο την εμφάνιση όσο και την γεύση και καθιστούν συγκεκριμένα είδη ελκυστικότερα για τους καταναλωτές. Η δράση τους δεν εμφανίζει κορεσμό στα προαναφερθέντα, καθώς σημαντική σημασία παρέχουν οι αντιμικροβιακές ιδιότητες που αποτελούν ένα από τους πιο αξιοσημείωτους λόγους της εφαρμογής τους. Δρουν καταστροφικά για αρκετούς παθογόνους μικροοργανισμούς και διασφαλίζουν δικλείδα ασφαλείας, για την ασφαλή κατανάλωση τροφίμων. Γεγονός μείζονος σημασίας τόσο για τις αρμόδιες αρχές, τις επιχειρήσεις τροφίμων ή οπουδήποτε φορέα ή οργανισμό που συμμετέχει σε κάποιο στάδιο της τροφικής αλυσίδας, αλλά και τους για τους

καταναλωτές. Η χρήση τους ρυθμίζεται από την Ευρωπαϊκή ένωση, και εγκρίνεται από τον κανονισμό (ΕΚ) 1333/2008, ο οποίος λαμβάνεται από τις οδηγίες 94/36/ΕΚ για τις χρωστικές ουσίες, 94/35/ΕΚ για τα γλυκαντικά και 95/2/ΕΚ για τα πρόσθετα τροφίμων. Παρόλο την ήδη υπάρχουσα αυστηρή ρύθμιση, η δράση τους ενοχοποιείται και συνδέεται ότι συγκεκριμένα πρόσθετα θα μπορούσαν να ενέχουν δυνητικούς κινδύνους για την υγεία των καταναλωτών. (Mancini et al., 2015)

Τα νιτρικά « (NO₃) » και τα νιτρώδη «(NO₂)» άλατα αποτελούν μια ομάδα χημικών ενώσεων που απαρτίζονται από άζωτο καθώς και οξυγόνο. Στην Ευρωπαϊκή Ένωση τα πρόσθετα είναι υποχρεωτικό περιέχουν το χαρακτηριστικό σύμβολο «E», το οποίο προηγείται από τον Εγκεκριμένο κωδικό που αντιστοιχεί στο καθένα συγκεκριμένα. Ειδικότερα στον πίνακα που ακολουθεί παρουσιάζονται οι κωδικές ονομασίες των νιτρωδών και των νιτρικών αλάτων.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1: Εγκεκριμένοι κωδικοί νιτρωδών/νιτρικών αλάτων.

<i>Ονοματολογία</i>	<i>Εγκεκριμένος κωδικός</i>
<i>Νιτρώδες κάλιο</i>	(E 249)
<i>Νιτρώδες νάτριο</i>	(E 250)
<i>Νιτρικό νάτριο</i>	(E 251)
<i>Νιτρικό κάλιο</i>	(E 252)

1. **Νιτρώδες κάλιο (E249):** Εμφανίζεται σε μορφή λευκών ή ελαφρώς κίτρινων κόκκων ή κρυστάλλων. Ο συντακτικός του τύπος είναι KNO₂ και το μοριακό βάρος του ισούται με MR=85,11



ΕΙΚΟΝΑ 1: Μορφή νιτρώδους καλίου

Πηγή εικόνας : <https://woodfinishingenterprises.com/shop/chemicals/potassium-nitrite>

2. **Νιτρώδες νάτριο (E250)**: Ανήκει στην κατηγορία των αλατιών και δημιουργείται από την ένωση του νιτρώδους οξέος με το νάτριο. Έχει κρυσταλλική λευκή μορφή ή ανοιχτή κίτρινη. Ο συντακτικός του τύπος είναι: NaNO_2 με MR = 69,00



ΕΙΚΟΝΑ 2: Μορφή νιτρώδους νατρίου

Πηγή εικόνας: <https://gr.yingfengyuan.com/nitrite>

3. **Νιτρικό νάτριο (E251)**: Πρόκειται το άλας με τον χημικό τύπο NaNO_3 . Είναι άχρωμο και εμφανίζεται με την μορφή κόκκων με MR = 85.00.



ΕΙΚΟΝΑ 3: Μορφή νιτρικού νατρίου

Πηγή εικόνας: <https://gr.yingfengyuan.com/sodium-nitrate-granule>

4. **Νιτρικό κάλιο (E252):** Έχει στερεή μορφή, παρουσιάζει διαλυτότητα στο νερό. Πρόκειται για ένα ανόργανο άλας με συντακτικό τύπο KNO_3 και παρουσιάζει μοριακό βάρος $\text{MR} = 101,11$.



ΕΙΚΟΝΑ 4: Μορφή νιτρικού καλίου

Πηγή εικόνας: <https://myfarm.desigusxpro.com/el/ogorod/preparaty/nitrat-kaliya.html>

1.3 Νιτρικά και νιτρώδη άλατα σε προϊόντα κρέατος

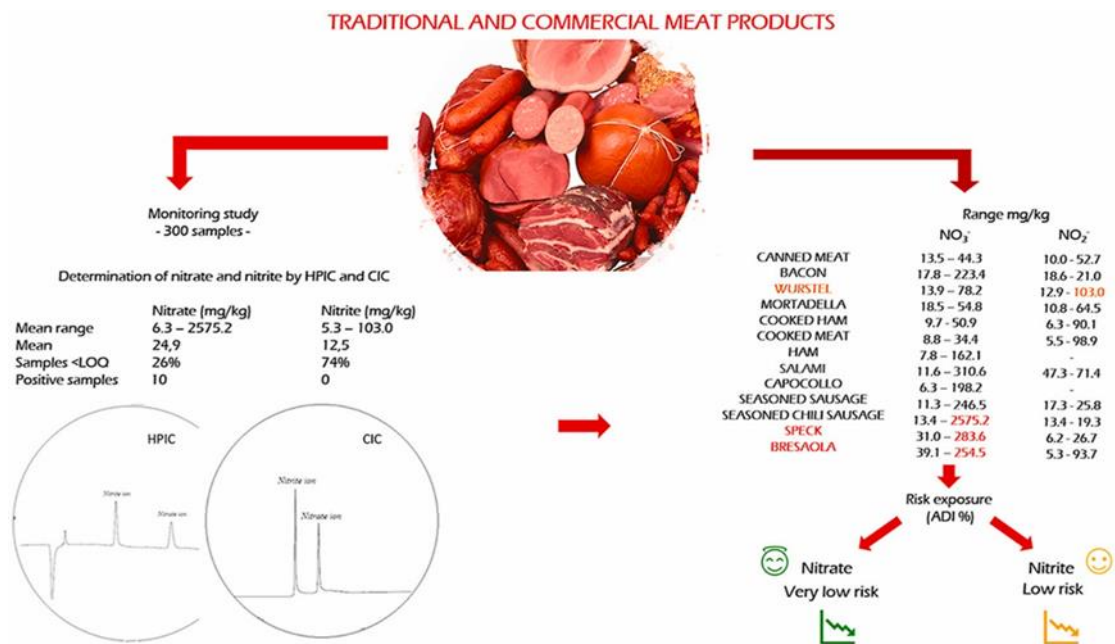
Παραγωγή προϊόντων κρεατοσκευασμάτων με νιτρικά/νιτρώδη άλατα

Τα νιτρικά και τα νιτρώδη άλατα χρησιμοποιούνται παραδοσιακά για τη συντήρηση των προϊόντων κρέατος για αρκετούς λόγους. Την βασική αιτία χορήγησής τους, αποτελεί η αποτελεσματική αντιμικροβιακή δράση των νιτρώδων έναντι των βλαστικών μορφών του *Clostridium botulinum* και των σπορίων του, όσο και άλλων παθογόνων βακτηρίων. Η αντιοξειδωτική δράση που παρέχουν στα προϊόντα κρέατος τα καθιστά πιο ανθεκτικά έναντι της ποιοτικής υποβάθμισής τους και παράλληλα με την διατήρηση του ερυθρού χρώματος τα προϊόντα κρεατοσκευασμάτων καθίστανται ελκυστικότερα για τον καταναλωτή. Τέλος η δράση τους ενισχύει ορισμένα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του κρέατος, όπως την γεύση και το άρωμα που αποτελεί ένα ακόμα σημαντικό λόγο για τη προσθήκη τους στις βιομηχανίες κρέατος. (Flores and Toldrá, 2021)



ΕΙΚΟΝΑ 5: Προϊόντα κρεατοσκευασμάτων

Πηγή εικόνας: <https://katerinantale.gr/epexergasmeno-kreas/>



ΕΙΚΟΝΑ 6: Επίπεδα συγκεντρώσεων NO₂⁻ και NO₃⁻ σε προϊόντα κρέατος (Berardi et al., 2021)

Τα νιτρικά και τα νιτρώδη προστίθενται σε αρκετά προϊόντα κρέατος παρέχοντας τόσο θετικές συντηρητικές ιδιότητες όσο και πιθανές ανεπιθύμητες δράσεις.

Χρησιμοποιούνται στα περισσότερα είδη αλλαντικών και κρεάτων με σκοπό να βελτιώσουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και να επιμηκύνουν την εμπορική διάρκεια ζωής τους. Στην παρακάτω έρευνα παρουσιάζεται μια μελέτη σε δεκατρία διαφορετικά είδη κρεατοσκευασμάτων από το εμπόριο της Ιταλίας που με ενόργανη μέθοδο ανιχνεύθηκαν νιτρικά/νιτρώδη άλατα και προσδιορίστηκε η συγκέντρωσή τους.

Η μελέτη που διεξάχθηκε από μια ομάδα ερευνητών (Berardi et al., 2021) στην Ιταλία, είχε στόχο την διερεύνηση των επιπέδων νιτρικών και νιτρωδών αλάτων που χρησιμοποιούνται σε παραδοσιακά και εμπορικά προϊόντα κρεατοσκευασμάτων όπου διατίθενται στο εμπόριο της Ιταλίας. Ο στόχος της έρευνας ήταν να συλλεχθούν πληροφορίες σχετικά με την ασφάλεια των τροφίμων και την αξιολόγηση του κινδύνου που δύναται να δημιουργηθεί. Αξιολογήθηκαν δεκατρία είδη κρέατος και με ενόργανες μεθόδους (χρωματογραφία), προσδιοριστική η συγκέντρωσή τους στα εν λόγω πρόσθετα. (Berardi et al., 2021)

ΠΙΝΑΚΑΣ 2: Επίπεδα συγκεντρώσεων NO₂- και NO₃- σε προϊόντα κρέατος (Berardi et al., 2021)

Τύπος προϊόντος	Αριθμός δειγμάτων που αναλύθηκαν	Εύρος συγκέντρωσης νιτρικών (NO ₃ -)(mg kg ⁻¹)	Εύρος συγκέντρωσης νιτρώδων (NO ₂ -)(mg kg ⁻¹)
Κονσερβοποιημένα κρέατα	30	13,5-44,3	10.0–52.7
Μπέικον	12	17,8-223,4	18.6–21.0
Λουκάνικο (Wurstel)	32	13,9-78,2	12.9–103.0
Μορταδέλα	12	18,5-54,8	10.8–64.5
Μαγειρεμένο ζαμπόν	18	9,7-50,9	6.3–90.1
Μαγειρεμένο κρέας	20	8,8-34,4	5.5–98.9
Ζαμπόν	16	7,8-162,1	
Σαλάμι	28	11,6-310,6	47.3–71.4

Χοιρινό κρέας (Capocollo)	21	6,3-198,2	
Καρυκευμένο λουκάνικο	57	11,3-246,5	17.3–25.8
Καρυκευμένο/ τσίλι λουκάνικο	17	13,4-2575,2	13.4–19.3
Επεξεργασμένο ζαμπόν	15	31,0-283,6	6.2–26.7
Σαλάμι (Bresaola)	22	39,1-254,5	5.3–93.7
Συνολικά	300	6,3-2575,2	5.3–103.0

1.4 Νομοθεσία νιτρικών και νιτρώδων αλάτων

Η προσθήκη νιτρικών και νιτρώδων αλάτων ρυθμίζεται σε μεγάλο βαθμό στα προϊόντα κρέατος ώστε να βεβαιώνεται η ασφαλής κατανάλωση των τροφίμων. Θεωρείται ότι τα νιτρώδη και οι ενώσεις τους, είναι επικίνδυνα για τον ανθρώπινο οργανισμό ενώ θεωρείται ότι είναι 10 φορές πιο τοξικά από τα νιτρικά. Σύμφωνα με τον (Schuddeboom, 1993) η θανατηφόρα δόση τους μέσω του στόματος για τον άνθρωπο κυμαίνεται σε « 80-800 mg νιτρικά/kg σωματικού βάρους και 33-250 mg νιτρώδη/kg σωματικού βάρους». (Honikel, 2008)

Η νομοθεσία σχετικά με την χρήση νιτρικών και νιτρώδων στα προϊόντα κρέατος έχει εξελιχθεί, ο κανονισμός για τα προϊόντα κρέατος (Fleischverordnung) στην Γερμανία την δεκαετία του 1950 είχε επιβάλει ανώτατο όριο νιτρώδων στα 100 mg νιτρώδων νατρίου/kg σε έτοιμα προς κατανάλωση κρέατα, ενώ σε ακατέργαστα αλλαντικά στα 150 mg NaNO₂/kg. Επίσης υπήρχαν περιορισμοί και για την χρήση των νιτρικών αλάτων (Honikel, 2008).

Το Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο (1995) μέσω της οδηγίας 95/2/EK σχετικά με τα πρόσθετα τροφίμων πλην των χρωστικών και των γλυκαντικών, όρισε ως ανώτατα όρια 150 mg νιτρώδων/kg και 300 mg νιτρικών/kg σε όλα σχεδόν τα προϊόντα κρέατος. Η Δανία δεν ακολούθησε την οδηγία 95/2/EK, αφού την 18^η Δεκεμβρίου 1995 εφαρμόστηκε ο Δανικός κανονισμός 1055/95, που όριζε πλήρη κατάργηση προσθήκης νιτρικών και νιτρώδων αλάτων σε όλα τα προϊόντα κρέατος εκτός από το μπέικον Wiltshire και ορισμένα άλλα ωμά ζαμπόν

με μέγιστη ποσότητα 300 mg νιτρικών αλάτων/kg και μέχρι 150 mg νιτρωδών/kg για τα νιτρώδη. (Honikel, 2008)

E No.	Name	Foodstuff	Indicative ingoing amount during the manufacturing (mg/kg)	Residual amounts (mg/kg)
E249	Potassium nitrite	Non-heat-treated cured and dried Meat products	150	50
E 250	Sodium nitrite	Other cured meat products <i>Cured bacon</i>	150	100 175
E 251	Sodium nitrate	Cured meat products	300	250
E 252	Potassium nitrate			

ΕΙΚΟΝΑ 7: Νιτρικά και νιτρώδη σε προϊόντα κρέατος. Απόσπασμα από την οδηγία (1995) (ισχύει έως το 2006) εκ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και Συμβούλιου (Honikel, 2008)

Το Ευρωπαϊκό Δικαστήριο του Λουξεμβούργου στις 20 Μαρτίου 2003 πρότεινε επανεξέταση του κανονισμού 95/2/ΕΚ γεγονός που πραγματοποιήθηκε από την Ευρωπαϊκή Ένωση. Πραγματοποιήθηκε με την οδηγία 2006/52/ΕΚ της 5ης Ιουλίου 2006, μέσω της οποίας περιορίστηκαν τα νιτρικά που προστίθενται σε θερμαινόμενα προϊόντα κρέατος στα 150 mg/kg και ανώτατο όριο για τα νιτρώδη αποτέλεσαν 150 mg νιτρώδη/kg στα περισσότερα προϊόντα κρέατος. (Honikel, 2008)

E No.	Name	Foodstuff	Maximum amount that may be added during manufacturing (expressed as NaNO ₂) (mg/kg)	Maximum residual level (expressed as NaNO ₂) (mg/kg)
E249 ^a	Potassium nitrite	Meat products	150	–
E 250 ^a	Sodium nitrite	Sterilized meat products (F ₀ > 3.00) ^b	100	–
		Traditional immersion cured meat products (number of products)	–	50–175
		<i>Traditional dry cured meat products (number of products)</i>	–	50–175
		<i>Other traditionally cured meat products (number of products)</i>	180	50
E 251 ^c	Potassium nitrate	Non-heat-treated meat products	150	–
E 252 ^c	Sodium nitrate	Traditional immersion cured meat products (number of products)	300	10–250 (some without added)
		<i>Traditional dry cured meat products (number of products)</i>	300	>50 (some without nitrite added)
		<i>Other traditionally cured meat products</i>	250–300 (without nitrite added)	10–250

ΕΙΚΟΝΑ 8: Απόσπασμα από την οδηγία 2006/52/ΕΚ σχετικά με τα νιτρώδη και νιτρικά άλατα για τα προϊόντα κρέατος (Honikel, 2008)

Σύμφωνα με τον Κανονισμό 1333/2008/EK της Ευρωπαϊκής Αρχής προβλέπεται:
(Ραμαντάνης, 2020, σελ. 591-592)

- Τα νιτρικά και τα νιτρώδη άλατα στα προϊόντα κρέατος να ορίζονται ως προστιθέμενες ποσότητες κατά την παρασκευή και όχι ως κατάλοιπα του τελικού προϊόντος.
- Μη χρήση νιτρικών αλάτων σε προϊόντα με βάση το κρέας που τίθενται σε θερμική επεξεργασία, δικαιολογείται μόνο φυσική μετατροπή (οξειδωση) των νιτρώδων σε νιτρικά άλατα λόγω χαμηλής οξύτητας.
- Για κάποια παραδοσιακά προϊόντα που έχουν κρέας ως βάση και παρασκευάζονται σε ορισμένα κράτη μέλη η νομοθεσία μπορεί να τροποποιηθεί, όμως δεν παρατηρούνται σε ελληνικά προϊόντα.
- Οι μονάδες έκφρασης των νιτρώδων/νιτρικών αλάτων είναι υποχρεωτικό να εκφράζονται ως άλατα του νατρίου. Στην περίπτωση που προστεθεί διάλυμα από άλας που περιέχει Κάλιο πρέπει η αρχική ποσότητά του από KNO_2 ή KNO_3 να μετατραπεί στην μορφή NaNO_2 ή NaNO_3 . (Ραμαντάνης, 2020, σελ. 591-592)

1.5 Παράγοντες διαφοροποίησης

Θερμική επεξεργασία

Στα περισσότερα προϊόντα κρέατος εφαρμόζεται θερμική επεξεργασία, με στόχο την μικροβιακή σταθερότητα και την επέκταση της εμπορικής διάρκειας ζωής τους. Όπως έχει προαναφερθεί τα νιτρικά και τα νιτρώδη αποτελούν αναπόσπαστο κομμάτι από την βιομηχανικά κρέατος ως πρόσθετα. Έχει αποδειχθεί ότι κατά τη θερμική επεξεργασία δύναται να σχηματιστούν επιβλαβείς N-νιτροζαμίνες. Τα νιτρώδη κατά τη διάρκεια της θερμικής επεξεργασίας, συμβάλουν στον σχηματισμό παραγόντων νιτροποίησης, οι οποίοι αντιδρώντας με δευτερογενείς αμίνες δύναται να δημιουργήσουν N-νιτροζαμίνες. Κατά τις θερμικές επεξεργασίες η δημιουργία N-νιτροζαμινών δεν επηρεάζεται από την ποσότητα των νιτρωδών αλάτων, αλλά από την εφαρμοζόμενη θερμοκρασία. (Niklas et al., 2023)

Όταν τα προϊόντα κρέατος θερμαίνονται, τα νιτρικά άλατα έχει παρατηρηθεί ότι με την επίδραση της θερμοκρασίας ανάγονται από ένα εύρος μικροοργανισμών σε νιτρώδη. Επιπλέον, σε προϊόντα κρέατος που τίθενται σε θερμικές επεξεργασίες, με θερμοκρασία μεγαλύτερη των 130°C , είναι πιθανότερος ο σχηματισμός νιτροζαμινών. Ο σχηματισμός νιτροζαμινών συνεπώς

επηρεάζεται άμεσα από την θερμοκρασία του προϊόντος κρέατος αλλά και σε μεγάλο βαθμό από την παρουσία αμινών και με την τιμή του pH .

pH

Το pH είναι ένας αριθμητικός δείκτης που χρησιμοποιείται για να μετρήσει την οξύτητα ή τη βασικότητα διαλυμάτων και βάση αυτού κατατάσσονται σε κατηγορίες όξινα, βασικά και ουδέτερα. Η τιμές του κυμαίνονται από 0,0-14,0.

- $\text{pH} > 7$ πρόκειται για βασικά διαλύματα, όσο πιο κοντά στο 14 τόσο βασικότερο θα είναι το διάλυμα
- $\text{pH} < 7$ έχουμε όξινα, όσο πλησιάζει οι τιμές στο 0,0 τόσο πιο όξινα είναι τα διαλύματα
- $\text{pH} = 7$ έχουμε ουδέτερα διαλύματα σε θερμοκρασία 25°C .

Η τιμή του PH εκφράζεται από τον αρνητικό λογάριθμο της συγκέντρωσης των ιόντων H^+ με βάση την παρακάτω εξίσωση (1):

$$\text{pH} = -\log(\text{H}^+) \quad (1)$$

Τα νιτρικά/νιτρώδη άλατα έχουν άμεση σχέση με το pH και ανάλογα με την τιμή είναι δυνατόν να διαφοροποιηθούν. Σε τιμές pH μικρότερες από 4,5 μονάδες ($\text{pH} < 4,5$), τα νιτρώδη παρουσιάζονται ως νιτρώδες οξύ (HNO_2) που διασπάται περαιτέρω σε νιτρώδη (NO_2^-) και ιόντα υδρογόνου (H^+). Σε τιμές pH μεγαλύτερες από 4,5 μονάδες ($\text{pH} > 4,5$), τα νιτρώδη εμφανίζονται κυρίως ως ιόντα νιτρώδων (NO_2^-). Ενώ στο ισοηλεκτρικό σημείο του κρέατος $\text{pH} = 5.5-6.1$ ενδέχεται να υπάρχει μόνο μικρή ποσότητα νιτρώδους οξέος το οποίο θεωρείται «διαρροή» μέσω της οποίας εξαντλούνται τα νιτρώδη. (Sofos, n.d.)

Τα νιτρικά άλατα αποτελούν πηγή δημιουργίας για τα νιτρώδη μέσω της αναγωγής τους από βακτήρια(νιτροαναγωγικά βακτήρια) και ένζυμα που υπάρχουν στα προϊόντα κρέατος ή με την προσθήκη αναγωγικού παράγοντα όπως πχ ασκορβικό οξύ. Τα νιτρώδη άλατα αποτελούν χημικές ουσίες με έντονη αντιδραστική δράση παρουσιάζοντας τόσο αναγωγικές όσο και οξειδωτικές ιδιότητες. Όμως, η συγκέντρωση των νιτρώδων μεταβάλλεται διαρκώς . Συγκεκριμένα τα νιτρώδη εξαντλούνται συνεχώς στα προϊόντα κρέατος, όλες οι αντιδράσεις που συντελούν στην μείωση των νιτρώδων οφείλονται κατά κύριο λόγο στο pH.

Το pH επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό τον σχηματισμό N-νιτροζαμινών, πιο συγκεκριμένα για τον σχηματισμό των συγκεκριμένων μεταλλαξιογόνων ουσιών φαίνεται πως το βέλτιστο pH κυμαίνεται από 3,5-4,2 μονάδες. Το pH στα προϊόντα κρέατος αποτελεί κρίσιμο σημείο καθώς αλληλοεπιδρά με τα νιτρώδη και με άλλα συστατικά ωρίμανσης και οι επιδράσεις τους ενδέχεται να έχουν αρνητικές επιπτώσεις.

Η συγκέντρωση των νιτρώδων μειώνεται διότι είτε τα ίδια αντιδρούν με πρωτεΐνες αίμης (μυοσφαιρίνη και αιμοσφαιρίνη) ή μη αιμικές πρωτεΐνες, είτε δεν υπάρχει επαρκής ποσότητα νιτρικών διότι έχουν μετατραπεί σε αέριο αζώτου.

Η επίδραση στην σταθεροποίηση του χρώματος και στον ερυθρό χρωματισμό αυξάνονται με την μείωση του pH. Συγκεκριμένα, σύμφωνα με τους (Fox et al. 1967), μια μείωση pH της τάξης των 0.2 μονάδων είναι ικανή να διπλασιάσει το ρυθμό αντίδρασης των νιτρώδων με την μυοσφαιρίνη συνεπώς και το ρυθμό σχηματισμού χρώματος στα προϊόντα κρέατος.

Επιπροσθέτως σύμφωνα με τους (Castellani και Niven, 1955), (Perigo και Roberts, 1968) και (Roberts and Ingram, 1966) με τη μείωση του pH επιτυγχάνεται αύξηση των αντιμικροβιακών ιδιοτήτων των νιτρώδων. Ειδικότερα, μια μείωση μιας μονάδας «από 7.0 σε 6,0» είναι επαρκής για να δεκαπλασιάσει τις ιδιότητες των νιτρώδων ενάντια στα βακτήρια. Σύμφωνα με έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί είναι αποδεδειγμένο ότι ένα χαμηλό pH οδηγεί σε μεγαλύτερες ποσότητες «ελεύθερων» νιτρώδων.

Έντονη επίδραση φαίνεται να έχει το pH και στις αντιοξειδωτικές ιδιότητες που παρέχουν τα νιτρώδη (NOB), γεγονός που έχει μελετηθεί πλήρως από τους Grunditz και Dalhammar (2001). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η NOB εξαρτάται από το pH ενώ η βέλτιστη τιμή pH για την καλύτερη δράση NOB προσεγγίζεται στις 7,9 μονάδες. Μια μείωση του pH ή αύξηση σε 6,5 ή 9,0 αντίστοιχα φαίνεται πως μειώνει τη δραστηριότητα της NOB κατά 20 %.

Στα περισσότερα είδη κρέατος οι συνήθεις τιμές pH είναι 5,5-6,6. Σε ορισμένα προϊόντα (ζυμωμένα, οξινισμένα), είναι επιθυμητό να επικρατούν χαμηλές τιμές pH, σε όλα τα άλλα είδη κρεατοσκευασμάτων απαιτείται ένα ισορροπημένο pH. Θα πρέπει να είναι ευνοϊκές οι συνθήκες ώστε να συμβάλουν τα νιτρώδη στην μικροβιακή ασφάλεια, στην ανάπτυξη χρώματος κ.α. άλλα και να αποφεύγεται η ακραία οξύτητα και ο σχηματισμός νιτροζαμινών.(Sofos, n.d.)

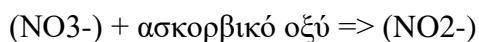
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο Ευεργετικές επιδράσεις νιτρικών και νιτρωδών αλάτων

2.1 Σχηματισμός χρώματος

Το χρώμα των προϊόντων κρέατος εξαρτάται από τις χημικές τροποποιήσεις των φυσικών χρωστικών ουσιών που περιέχει. Η κύρια χρωστική που απαντάται στο νωπό κρέας είναι η μυοσφαιρίνη (Mb), μεταξύ άλλων ιδιοτήτων - καθορίζει το χρώμα του κρέατος. Παρουσία οξυγόνου η μυοσφαιρίνη δύναται να οξυγονωθεί σε οξυμυοσφαιρίνη (MbO₂), που πρόκειται για την οξυγονωμένη μορφή της μυοσφαιρίνης και προσδίδει στο κρέας λαμπερό ερυθρό χρώμα. Παράλληλα η μυοσφαιρίνη μπορεί να οξειδωθεί σε μεταμυοσφαιρίνη (metMb) η οποία προσδίδει στο κρέας καστανό ανεπιθύμητο χρώμα. Τέλος, η οξυμυοσφαιρίνη γίνεται να αυτοοξειδωθεί σε μεταμυοσφαιρίνη, που σε κατάλληλες συνθήκες υπάρχει δυνατότητα να αναχθεί σε μυοσφαιρίνη και έπειτα σε οξυμυοσφαιρίνη.

2.2 Δράση νιτρικών στον χρωματισμό τους κρέατος

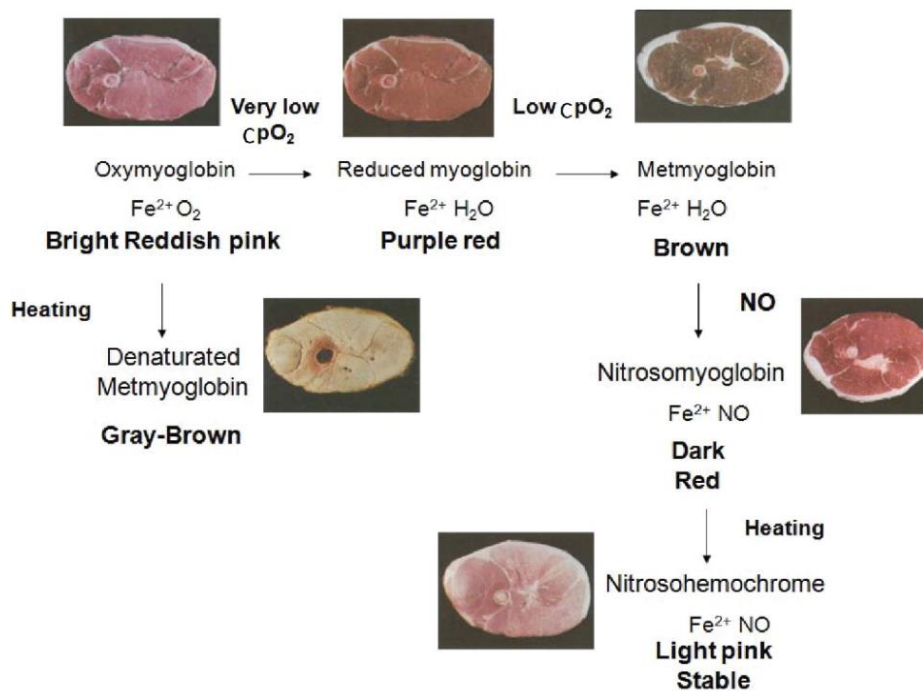
Τα νιτρικά άλατα έχουν μικρότερη συμβολή σε σχέση με νιτρώδη, στον χρωματισμό του κρέατος, είναι όμως απαραίτητα για να επιτευχθεί η δράση των νιτρωδών. Συγκεκριμένα τα νιτρικά άλατα (NO₃⁻) ανάγονται σε νιτρώδη (NO₂⁻) κατά τη διάρκεια της διαδικασίας ωρίμανσης, ώστε τα νιτρώδη να μπορέσουν να αντιδράσουν με την μυοσφαιρίνη. Η αναγωγή των νιτρικών σε νιτρώδη επιτυγχάνεται είτε φυσικά ή με τη βοήθεια νιτροαναγωγικών βακτηρίων που προϋπάρχουν στο κρέας και διαθέτουν αναγωγικές ιδιότητες. Ακόμα μετατροπή των νιτρικών σε νιτρώδη είναι δυνατόν να επιτευχθεί με την προσθήκη ασκορβικού οξέος, διότι το ασκορβικό οξύ αποτελεί αναγωγικό παράγοντα και «προσφέρει» ηλεκτρόνια στα νιτρικά άλατα μετατρέποντας τα σε νιτρώδη.



Χρειάζεται προσοχή στη τήρηση της νομοθεσίας με τη προστιθέμενη ποσότητα ασκορβικού οξέος και νιτρικών. Η υπερβολική χρήση ασκορβικού μπορεί να οδηγήσει σε αλλοίωση της ποιότητας του προϊόντος και σε δημιουργία μη επιθυμητών αρωμάτων. Ωστόσο, με τα νιτρικά άλατα είναι αυστηρότερη η νομοθεσία τροφίμων περί την δοσολογία και την χρήση τους, καθότι σύμφωνα με εκτενείς έρευνες συνδέονται με αρνητικές επιπτώσεις για την υγεία (περισσότερες πληροφορίες βλ. ενότητα νομοθεσίας). (Chasco et al., 1996)

2.3 Δράση νιτρώδων στον χρωματισμό τους κρέατος

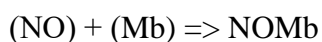
Εφόσον τα νιτρικά έχουν μετατραπεί σε νιτρώδη, τα νιτρώδη με τη σειρά τους αντιδρούν με τη μυοσφαιρίνη (Mb) για να σχηματίσουν νιτροσομυοσφαιρίνη (NOMb), τη χρωστική ουσία που είναι υπεύθυνη για το ροζ χρώμα των προϊόντων ωρίμανσης κρέατος. Η δράση των νιτρώδων στον ερυθρό χρωματισμό οφείλεται στο σχηματισμό της νιτροσομυοσφαιρίνης (NOMb), πρόκειται για μια χρωστική ουσία που σχηματίζεται όταν το μονοξείδιο του αζώτου (NO) αντιδρά με τη μυοσφαιρίνη (Mb). Η αντίδραση αυτή ονομάζεται νιτροποίηση και προσδίδει στο κρέας το χαρακτηριστικό ροζ χρώμα του, που είναι και το πιο επιθυμητό από τους περισσοτέρους καταναλωτές. Η NOMb χαρακτηρίζεται από σταθερότητα και έντονες θερμοανθεκτικές ιδιότητες. Η νιτροποίηση είναι αργή και πολύπλοκη διαδικασία ενώ εξαρτάται από πολλές παραμέτρους, όπως το pH, η συγκέντρωση χρωστικών ουσιών, το δυναμικό οξειδοαναγωγής, την θερμοκρασία κ.α. (Chasco et al., 1996)



EIKONA 9: Μετατροπή της μυοσφαιρίνης στο κρέας.(Gassara et al., 2016a)

Δημιουργία νιτροσομυοσφαιρίνης (NOMb)

Για την δημιουργία της νιτροσομοσφαιρίνης, τα νιτρώδη (NO₂-) θα πρέπει αρχικά να αναχθούν σε μονοξείδιο του αζώτου (NO). Η συγκεκριμένη αναγωγή επιτελείτε από αναγωγικούς παράγοντες π.χ ασκορβικό οξύ. Έπειτα, το μονοξείδιο του αζώτου, αντιδράει με την μυοσφαιρίνη. (Chasco et al., 1996)



Η ελάχιστη ποσότητα των νιτρώδων που απαιτείται για να σχηματιστεί επαρκής χρωματιστός, στα προϊόντα κρέατος και στα αλλαντικά υπολογίζεται στα 30-40 ppm mg/kg. Παρόλα αυτά για επιτευχθεί ικανοποιητικός χρωματισμός προαπαιτείτε ικανή ποσότητα μυοσφαιρίνης στο προϊόν που τίθεται προς επεξεργασία. Δηλαδή είδη κρέατος με υψηλό ποσοστό συνδετικού και λιπώδη ιστού (αλλαντικά) δεν αναμένεται να έχουν τα αποτελέσματα που θα έχει ένα προϊόν που έχει μεγάλο ποσοστό μυϊκού ιστού δηλαδή και μεγάλες ποσότητες σε μυοσφαιρίνη. (Ραμαντάνης, 2020, σελ. 590)

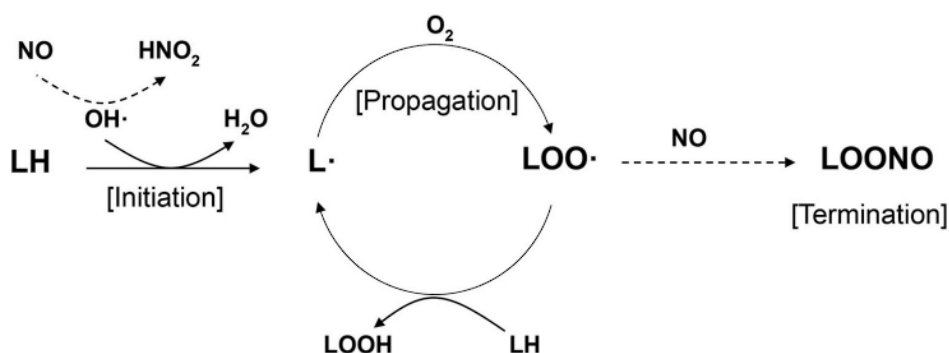
2.4 Αντιοξειδωτική δράση νιτρωδών αλάτων

Η οξείδωση είναι μια χημική αντίδραση που συμβαίνει σε κάθε ζωντανό οργανισμό-βιολογικό σύστημα όπως και τα τρόφιμα. Μεταξύ άλλων, η οξείδωση είναι ένα μη επιθυμητό φαινόμενο διότι ενδέχεται να δημιουργήσει αλλοιώσεις στα προϊόντα που εμφανίζεται. Πιθανές αλλοιώσεις της οξείδωσης αποτελούν, αλλαγές στο χρώμα την υφή την γεύση και την θρεπτική αξία των τροφίμων. Καθώς πιθανολογείτε ότι μέσω της οξείδωσης των τροφίμων δημιουργούνται και τοξικές ενώσεις. Συνεπώς, οι αντιοξειδωτικές ενώσεις αποτελούν μια από τις σημαντικότερες τεχνολογίες που χρησιμοποιούν οι βιομηχανίες τροφίμων με απώτερο σκοπό την πρόληψη της οξειδωτικής υποβάθμισης των τροφίμων, παρατείνοντας την διάρκεια της συντήρησής τους. (Faustino et al., 2019)

Μια ακόμη αξιοσημείωτη συμβολή που εμφανίζουν τα νιτρώδη άλατα είναι η αντιοξειδωτική ικανότητα τους κατά την αποθήκευση των κρεατοσκευασμάτων. Συνεπώς, αποτρέπονται φαινόμενα που επηρεάζουν τις χρωστικές, τις πρωτεΐνες και τα λιπίδια που περιέχουν τα προϊόντα. Ένας παράγοντας που ευνοεί την οξείδωση των λιπιδίων στο κρέας αποτελεί το οξυγόνο, όπου παρουσία του τα λιπίδια οξειδώνονται σε λιπιδικά υπεροξείδια. Η παρούσα μετατροπή ευνοεί τον σχηματισμό αρκετών χημικών ουσιών όπως αλδεΐδες, κετόνες, αλκοόλες που επηρεάζουν αρνητικά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των προϊόντων κρέατος. Τα νιτρώδη αποτρέπουν την οξείδωση δρώντας ως ισχυρός αντιοξειδωτικός

παράγοντας (Shakil et al.,2022). Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της εξουδετέρωσης του οξυγόνου από το μονοξείδιου του αζώτου (NO). Με αυτόν τον τρόπο διακόπτονται οι πιθανές αντιδράσεις του (NO) με μεταβατικά μέταλλα και καθίσταται δυσκολότερη η εμφάνιση του φαινομένου της οξειδωσης .(Karwowska and Kononiuk, 2020)

Στο παρακάτω σχήμα παρουσιάζεται ο μηχανισμός της οξειδωσης των λιπιδίων στα προϊόντα κρέατος. Η οξειδωση ξεκινάει μεταξύ των ελεύθερων ριζών και των δραστικών μορίων οξυγόνου. Μέσω της δέσμευσης ιόντων υδρογόνου από τα ακόρεστα λιπαρά οξέα παράγονται οι ρίζες λιπιδίων και δύναται με την περίσσεια οξυγόνου να οξειδωθούν περαιτέρω. (Jo et al., 2020). Τα νιτρώδη αντιδρούν με δραστικά μόρια οξυγόνου και αναστέλλουν την οξειδωση των λιπιδίων διακόπτοντας τις αλυσιδωτές αντιδράσεις της οξειδωσης. Η οξειδωση των λιπιδίων μπορεί να ξεκινήσει με διάφορους τρόπους, και αφότου πραγματοποιηθεί η έναρξη παρατηρείται εκθετική αύξηση, λόγω της συνεχούς οξειδωσης των ριζών. (Shakil et al., 2022)



EIKONA 10: Ο μηχανισμός της αντιοξειδωτικής δράσης των νιτρωδών μέσω της σταθεροποίησης της ρίζας των λιπιδίων.(Jo et al., 2020)

Επίσης, τα νιτρώδη έχουν μεγάλη συνεισφορά στην προστασία των αλλαντικών από φαινόμενα οξειδωσης. Χρησιμοποιούνται ως χηλικοί παράγοντες, δηλαδή ουσίες που δύναται να δεσμεύουν άτομα μετάλλων που αποτελούν τα κύρια προοξειδωτικά στο συγκεκριμένο είδος και αποτρέπεται η οξειδωση του σιδήρου της αίμης. (Shakil et al., 2022)

Όμως κατά την επεξεργασία του κρέατος εκτός από τα λιπίδια, μπορούν να οξειδωθούν ακόμα και μόρια πρωτεΐνης. Δεν υπάρχει ακόμα, κάποια σαφής έρευνα ότι τα νιτρώδη άλατα προσφέρουν αντιοξειδωτική δράση ενάντια στην οξειδωση των πρωτεϊνών. Όμως, θεωρείται ότι θα μπορούσε να είναι παρόμοια η δράση τους – με αυτή στην οξειδωση των λιπιδίων. Το συγκεκριμένο συμπέρασμα εξάγεται από το γεγονός ότι ο μηχανισμός της πρωτεϊνικής

οξειδωσης ακολουθεί, παρόμοια διαδικασία με αυτή της αλυσιδωτής αντίδρασης ελεύθερων ριζών των λιπιδίων. (Jo et al., 2020)

Είναι επιβεβαιωμένο ότι τα νιτρώδες νάτριο εμφανίζει αντιοξειδωτικές ιδιότητες σε δοσολογία 40 mg/kg, ενώ θεωρείται ότι μια αύξηση κατά 10 mg/kg (50mg/kg νιτρώδους νατρίου) είναι ικανή για την μείωση της οξειδωση των λιπιδίων κατά 65 %. (Shakil et al., 2022)

2.5 Αντιμικροβιακή δράση

Νιτρικά άλατα

Τα νιτρικά άλατα δεν έχουν άμεση αντιμικροβιακή δράση κατά των παθογόνων βακτηρίων. Ο κύριος λόγος που χρησιμοποιούνται είναι για να παρέχουν «δεξαμενή» νιτρώδων αλάτων. Ανάγονται δηλαδή, σταδιακά, σε νιτρώδη άλατα που έχουν ουσιαστική δράση και έντονες αντιμικροβιακές ιδιότητες. (Govari and Pexara, 2018)

Νιτρώδη άλατα

Αντιθέτως, ιδιαίτερα ισχυρή αντιμικροβιακή δράση παρουσιάζουν τα νιτρώδη άλατα. Οι περισσότερες έρευνες έχουν υλοποιηθεί σχετικά με τις ιδιότητες που φέρουν τα νιτρώδη ενάντια στο *C. botulinum*. Παρουσιάζουν «αντιβοτουλινικές» δράσεις τόσο στις βλαστικές μορφές αλλά και στα σπόρια εκβλάστησης του συγκεκριμένου παθογόνου μικροοργανισμού. Ωστόσο αν και είναι ιδιαίτερα σημαντική η δράση ενάντια σε Gram (-), θεωρείται ότι τα νιτρώδη έχουν αποτελεσματικότερη ισχύ ως προς τα Gram (+) παθογόνα βακτήρια κατηγορία που μεταξύ άλλων περιλαμβάνει και το *Clostridium botulinum*. Η αντιμικροβιακή λειτουργία τους ευνοείται με την παράλληλη δράση άλλων αντιμικροβιακών εμποδίων όπως οι θερμικές επεξεργασίες, το pH, η ενεργότητα ύδατος και άλλα συστατικά. Έχει παρατηρηθεί ότι τα νιτρώδη έχουν μεγαλύτερη αντιμικροβιακή δράση έναντι των παθογόνων μικροοργανισμών, σε χαμηλές τιμές pH. Επίσης, έχει διαπιστωθεί ότι η δράση τους σε συνδυασμό με το ασκορβικό άλας είναι ιδανική για την καταπολέμηση της παραγωγής τοξίνης του *C.botulinum* τύπου A που μειώνεται σε επιθυμητά επίπεδα. Σύμφωνα με τις οδηγίες της Ευρωπαϊκής Αρχής για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA), 50-100 mg νιτρώδων/ανά κιλό κρέατος είναι επαρκής αντιμικροβιακή ποσότητα για τα περισσότερα είδη κρέατος. (Govari M. and Pexara, 2018)

Η δράση των νιτρώδων έναντι του παθογόνου *C.botulinum* αποτελείται από δύο στάδια. Στο πρώτο τα νιτρώδη αναστέλλουν την επιβίωση των βλαστικών μορφών του *C.botulinum* και έπειτα είναι ικανά να αποτρέψουν την διαίρεση των βλαστικών κυττάρων. Ο μηχανισμός των νιτρώδων διαφέρει ανάλογα με το βακτηριακό είδος. Σε γενικές γραμμές τα νιτρώδη «μπλοκάρουν» τα μεταβολικά ένζυμα των βακτηρίων και «περιορίζουν» την απορρόφηση του οξυγόνου τους με αποτέλεσμα να περιορίζουν σε επιθυμητά πλαίσια τα παθογόνα βακτήρια. Τα νιτρώδη χρησιμοποιούνται κυρίως σε προϊόντα αλλαντικών για την καταπολέμηση του *C.botulinum*, όμως έρευνες έχουν δείξει ότι άλλα παθογόνα βακτήρια όπως *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* και *Escherichia.coli* αναπτύσσονται βραδύτερα με την προσθήκη νιτρώδων σε προϊόντα αλλαντικών και πουλερικών. (Shakil et al., 2022)

2.6 Επίδραση νιτρικών και νιτρωδών αλάτων στο άρωμα-γεύση

Η προσθήκη των νιτρικών και των νιτρωδών αλάτων συνδέεται με την μεταβολή της γεύσης και του αρώματος σε προϊόντα κρεατοσκευασμάτων. Το άρωμα στα τρόφιμα θεωρείται πως οφείλεται σε πτητικές ενώσεις. Οι σημαντικότερες πτητικές ενώσεις που επηρεάζουν το άρωμα στα προϊόντα κρέατος είναι τα αλκάνια, αλδεΐδες, κετόνες, αρωματικοί υδρογονάνθρακες, καρβοξυλικά οξέα και οι εστέρες. Ο τρόπος επίδρασης που παρέχουν οι πτητικές ουσίες στο άρωμα και τη γεύση εξαρτώνται από την εκάστοτε επεξεργασία και την αναλυτική μεθοδολογία που συμβαίνει. Ωστόσο δεν είναι πλήρως κατανοητός ο ακριβής τρόπος δράσης τους. (Toldrá et al., 2009)

Από τους (Toldrá et al., 2009) συγκρίθηκαν διαφορετικά αποτελέσματα από μεμονωμένα είδη ζαμπόν προσπαθώντας να συσχετιστούν με την δράση των νιτρικών/νιτρωδών αλάτων στην επίδραση που ενδέχεται να παρέχουν στο άρωμα και την γεύση προϊόντων κρέατος. Συνοψίζοντας προτάθηκε ότι η αντιοξειδωτική δράση που παρέχουν τα νιτρικά/νιτρώδη άλατα είναι πιθανό να σχετίζεται με την χαμηλότερη συγκέντρωση εστέρων στο Ισπανικό ζαμπόν -(Toldrá et al., 2009). Οι (Careri et al. 1993) μελέτησαν τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών με χημικά δεδομένα σε Ιταλικό ζαμπόν ξηρής ωρίμανσης παρατηρώντας μεγάλη αφθονία εστέρων και ο (Parolari, 1996) απέδωσε την συγκεκριμένη περίσσεια στην έλλειψη προσθήκης νιτρικών και νιτρωδών αλάτων κατά την επεξεργασία του. Αντιθέτως δεν παρουσιάστηκε χαμηλότερη συγκέντρωση εστέρων σε μελέτες των (Flores et al, 2006) για Ισπανικά ζαμπόν ξηρής

ωρίμανσης οπού παρασκευάζονται με νιτρικά/νιτρώδη άλατα. Οι εστέρες, προέρχονται από λιπαρά οξέα μακράς αλυσίδας και θεωρείται ότι γίνεται να επηρεάσουν την γεύση καθιστώντας την λιπαρή.

Παρόλα αυτά δεν έχει εξακριβωθεί ποια αρωματική-πτητική ένωση είναι υπεύθυνη για την χαρακτηριστική γεύση του παστεριωμένου κρέατος που αποδίδουν τα νιτρώδη. Σε μια οργανοληπτική δοκιμή που είχε διεξαχθεί σε δείγματα από λουκάνικα Φρανκφούρτης παρασκευάστηκαν με 0,78 και 156 ppm νιτρώδων, ομόφωνα οι εξειδικευμένοι κριτές, αναφέρθηκαν ότι όσο αυξήθηκε η συγκέντρωση των νιτρώδων τόσο πιο αποδεκτό έγινε το δείγμα ως προς τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά(άρωμα/γεύση). (Pierson et al., 1983)

Έχει εξακριβωθεί, ότι τα νιτρικά/νιτρώδη επηρεάζουν τις συγκεντρώσεις των ουσιών που προκαλούν οργανοληπτικές αλλαγές (άρωμα-γεύση). Ωστόσο παραμένουν άγνωστοι οι ακριβείς τρόποι και μηχανισμοί δράσης των νιτρικών και των νιτρώδων ως προς την επίδραση του αρώματος και της γεύσης που παρέχουν στα επεξεργασμένα προϊόντα και απαιτείται περεταίρω έρευνα .(Toldrá et al., 2009)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο Νιτροζαμίνες

3.1 Νιτροζαμίνες γενικά

Οι νιτροζαμίνες είναι μια κατηγορία χημικών ενώσεων που σχηματίζονται από αντιδράσεις μεταξύ νιτρικών/νιτρώδων αλάτων με δευτερογενείς αμίνες. Βρίσκονται σε επεξεργασμένα τρόφιμα ως ακούσια υποπροϊόντα της επεξεργασίας λόγω της προσθήκης νιτρικών και νιτρώδων αλάτων, ενώ ακόμα έχουν παρατηρηθεί σε καπνό τσιγάρου σε αλκοολούχα ποτά και σε καλλυντικά. Γίνεται να σχηματιστούν στο στομάχι ή στο στόμα, εφόσον βρεθούν και αντιδράσουν οι δύο παράγοντες που προαναφέρθηκαν λόγω της επικράτησης όξινων συνθηκών που ευνοούν τον σχηματισμό τους. Οι νιτροζαμίνες αποτελούν ισχυρές καρκινογόνες ουσίες και ονομάζονται N-νιτροζαμίνες. (Magee, 1971)

Το γεγονός αυτό προκαλεί μεγάλες επιπτώσεις στον κλάδο της τεχνολογίας κρέατος και προϊόντων τους. Οι N-νιτροζαμίνες κατατάσσονται στις -πτητικές και στις μη πτητικές-N-νιτροζαμίνες. Οι πτητικές N-νιτροζαμίνες αποτελούν μια ομάδα ιδιαιτέρως επικίνδυνων χημικών ουσιών που σχετίζονται άμεσα με την δημιουργία καρκινογένεσης. Ο Διεθνής Οργανισμός Έρευνας για τον Καρκίνο (IARC) το 2015, ανέφερε ότι τα επεξεργασμένα προϊόντα αποτελούν φλέγον ζήτημα σύμφωνα με τις αρκετές αποδείξεις συσχέτισής τους με την εμφάνιση καρκίνου του παχέος εντέρου. Επιπροσθέτως οι νιτροζαμίνες ανήκουν στις τρεις ισχυρότερες καρκινογόνες ουσίες που έχουν γονιδιατοξικές ικανότητες και προκαλούν βλάβες και μεταλλάξεις στο DNA. (Xie et al., 2023)

Στην υποενότητα (Απεικόνιση του μηχανισμού δημιουργίας νιτροζαμίνης) γίνεται πλήρης ανάλυση του μηχανισμού δημιουργίας των νιτροζαμινών. Σύμφωνα με τον (Mirvish, 1995) τα νιτρώδη άλατα σε όξινο περιβάλλον μετατρέπονται σε νιτρώδες οξύ που δύναται να αντιδράσει περετέρο με αμίνες και να δημιουργηθούν οι N-νιτροζαμίνες. Έχει παρατηρηθεί ότι οι N-νιτροζαμίνες, σχηματίζονται *in vivo* στο στομάχι λόγω των ευνοϊκών όξινων συνθηκών που επικρατούν. Η N-νιτροσοπρόλίνη (NPRO) είναι ένας τύπος N-νιτροζαμίνης που δεν αποτελεί καρκινογόνο ουσία ενώ εκκρίνεται μέσω των ούρων από τον ανθρώπινο οργανισμό. Μέσω της NPRO οι (Ohshima και Bartsch το 1981) απέδειξαν ότι σχηματίζονται *in vivo* N-νιτροζαμίνες στον ανθρώπινο οργανισμό. Συγκεκριμένα, χρησιμοποίησαν την L-πρόλίνη που είναι το αμινοξύ που αποτελεί πρόδρομη ουσία για τον σχηματισμό της NPRO. Ειδικότερα οι (Ohshima και Bartsch το 1981) πραγματοποίησαν μια μελέτη, όπου χορήγησαν σε έναν νηστικό ασθενή 325 mg νιτρικού αλάτος και 500 mg L-πρόλινης. Σε διάστημα

24ωρών μέσω μέτρησης στα ούρα του προέκυψαν 24μg NPRO. Το γεγονός αυτό επαλήθευσε τον in-vivo σχηματισμό N-Νιτροζαμινών στον ανθρώπινο οργανισμό. (Mirvish, 1995)

3.2 Δευτερογενείς αμίνες - πρόδρομες ουσίες

Είναι αποδεδειγμένο ότι οι πρόδρομες ουσίες σχετίζονται άμεσα με την δημιουργία νιτροζαμινών. Ως πρόδρομη μπορεί να χαρακτηριστεί μια ένωση η οποία δύναται να μετατρέψει μέσω μια χημικής αντίδρασης σε μια άλλη. Στην συγκεκριμένη περίπτωση η παρουσία προδρόμων ουσιών οδηγεί στην δημιουργία δευτεροταγών αμινών συνεπώς και στην εμφάνιση νιτροζαμινών. Δευτερογενείς αμίνες μπορούν να εμφανιστούν είτε λόγω αποικοδόμησης πρωτεϊνών και λιπιδίων είτε μπορεί να προϋπάρχουν σε προϊόντα κρέατος και να δρουν ως πρόδρομες ουσίες. Παραδείγματα τέτοιων ουσιών αποτελούν τα αμινοξέα και βιογενείς αμίνες.

3.3 Κατηγορίες N-νιτροζαμινών

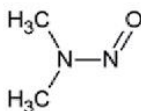
Όπως προαναφέρθηκε, οι N-νιτροζαμίνες χωρίζονται σε δύο ομάδες: στις μη-πτητικές και στις πτητικές. Οι πρώτες θεωρείται ότι δεν σχετίζονται με την δημιουργία τοξικών προϊόντων με επικίνδυνες συνέπειες. Έως τώρα έχουν ανακαλυφθεί περίπου 300 διαφορετικές N-νιτροζαμίνες, όπου επι το πλείστον περιέχουν στην δομή τους δύο άτομα αζώτου και ένα μόριο οξυγόνου (N-N=O). Συνήθως, εμφανίζουν κίτρινο χρώμα με διαλυτότητα στο νερό και σε οργανικούς διαλύτες, ενώ παρουσιάζουν σταθερότητα σε pH>7. Η αλληλεπίδραση τους με την χρήση υπεριώδους ακτινοβολίας (UV) συμβάλει στην αποσυνθεσή τους. (Fidel and Milagro, 2012)

Τις πιο «δημοφιλείς» πτητικές N-νιτροζαμίνες που υπάρχουν στα επεξεργασμένα προϊόντα κρεατοσκευασμάτων αποτελούν οι: «α) N-νιτροζοδιμεθυλαμίνης (NDMA), β)N-νιτροζοδιαιθυλαμίνη (NDEA), γ) N-νιτροσοπιπεριδίνη (NPIP), δ)N-νιτροσοπυρρολιδίνη (NPYR),ε) N-νιτροσομορφολίνη (NMOR), ζ)N-νιτροσομεθυλαιθυλαμίνη (NMEA), η) N-νιτροσο-δι-ν-προπυλαμίνη (NDPA) και θ)N-νιτροζοδιβουτυλαμίνη (NDBA)». (Xie et al., 2023)

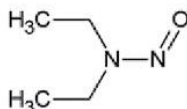
Με βάση επιδημιολογικές μελέτες που έχουν διεξαχθεί από τον Διεθνή Οργανισμό Έρευνας για τον Καρκίνο (IARC) και αποτελέσματα από πειράματα σε ζώα, οι πτητικές N-

νιτροζαμίνες που είναι πλέον επικίνδυνες για τον άνθρωπο είναι η N-νιτροζοδιμεθυλαμίνη (NDMA) και η N-νιτροζοδιαιθυλαμίνη (NDEA). (De Mey et al., 2017)

Οι χημικές δομές των ουσιών N-νιτροζοδιμεθυλαμίνη (NDMA) και N-νιτροζοδιαιθυλαμίνη (NDEA) φαίνονται παρακάτω:



N-nitrosodimethylamine (NDMA)



N-nitrosodiethylamine (NDEA)

EIKONA 11: Χημικές δομές των ουσιών N-νιτροζοδιμεθυλαμίνη (NDMA) και N-νιτροζοδιαιθυλαμίνη (NDEA)

Πηγή εικόνας (De Mey et al., 2017)

3.4 Ανίχνευση Νιτροζαμινών

Οι μέθοδοι ανάλυσης και ανίχνευσης των νιτροζαμινών έχουν εξελιχθεί τα τελευταία χρόνια. Για την ανίχνευσή τους σε δείγματα τροφίμων απαιτούνται τρία αναλυτικά στάδια α) εκχύλιση, β) διαχωρισμός γ) ανίχνευση. Διατίθενται πολλές μέθοδοι για τον εντοπισμό τους, όπως η δοκιμή Griess, φασματοφωτομετρία UV, φασματομετρία αερίου-μάζας και υγρή χρωματογραφία κ.α. Οι νιτροζαμίνες παρουσιάζουν απορρόφηση στα 230 nm και μπορούν να ανιχνευθούν άμεσα σε δείγματα με την χρήση φασματοφωτομετρίας UV-VIS που παρουσιάζει εύρος ανίχνευσης απορροφήσεως μεταξύ 190-400 nm. Για των προσδιορισμό των πτητικών N-νιτροζαμινών εφαρμόζεται ο συνδυασμός αέριας χρωματογραφίας με την φασματογραφία μάζας. Η αέρια χρωματογραφία χαρακτηρίζεται από υψηλή ευαισθησία και εκλεκτικότητα και παρέχει ποικιλία στην επιλογή ανιχνευτών. Με την φασματογραφία μάζας γίνεται ποσοτικός προσδιορισμός με μεγάλη ακρίβεια σε όλα τα ίχνη των ενώσεων. Με την συνδυαστική εφαρμογή αυτών των δύο μεθόδων προσδιορίζονται με μεγάλη ακρίβεια οι

περισσότερες πτητικές N-νιτροζαμίνες στα δείγματα που τίθενται υπό ανάλυση. (Xie et al., 2023)

ΠΙΝΑΚΑΣ 3: Περιεκτικότητα νιτροζαμίνης σε επεξεργασμένα κρέατα(μg/kg). (Park et al., 2015)

Είδος κρέατος	Αριθμός δειγμάτων n	NDM A	NDE A	NDB A	NPY R	NPI P	NMO R	NME A
Χοιρινό συκώτι	1	0,51- 0,64	-	-	-	-	0,21- 0,29	-
Χοιρινό έντερο και χοιρινά προϊόντα	5	-	-	-	-	-	-	-
Χοιρινή σάρκα	3	-	-	-	-	-	-	-
Χοιρινή κοιλιά	1	0,13- 0,21	-	-	-	-	-	-
Μοσχαρίσιο έντερο	4	0,54	-	-	-	-	0,31	-
Μοσχάρι και προϊόντα μοσχαριού	9	0,48	-	0,31	0,24	-	-	-
Κοτόπουλο	7	0,52	-	0,3	-	-	-	-
Χοιρινό κρέας με αλάτι	2	0,08- 0,28	0,06- 0,07	-	-	-	-	-
λίπος συκωτιού πάπιας	1	0,47	0,81	-	0,2	2,6	0,79	-
πάπια	1	0,13	-	-	-	-	-	-
Χοιρινό ψαρονέφρι καπνιστό	19	0,04- 4,0	0,06- 9,5	0,11- 2,7	0,16- 11	0,09- 37	0,19- 2,1	-

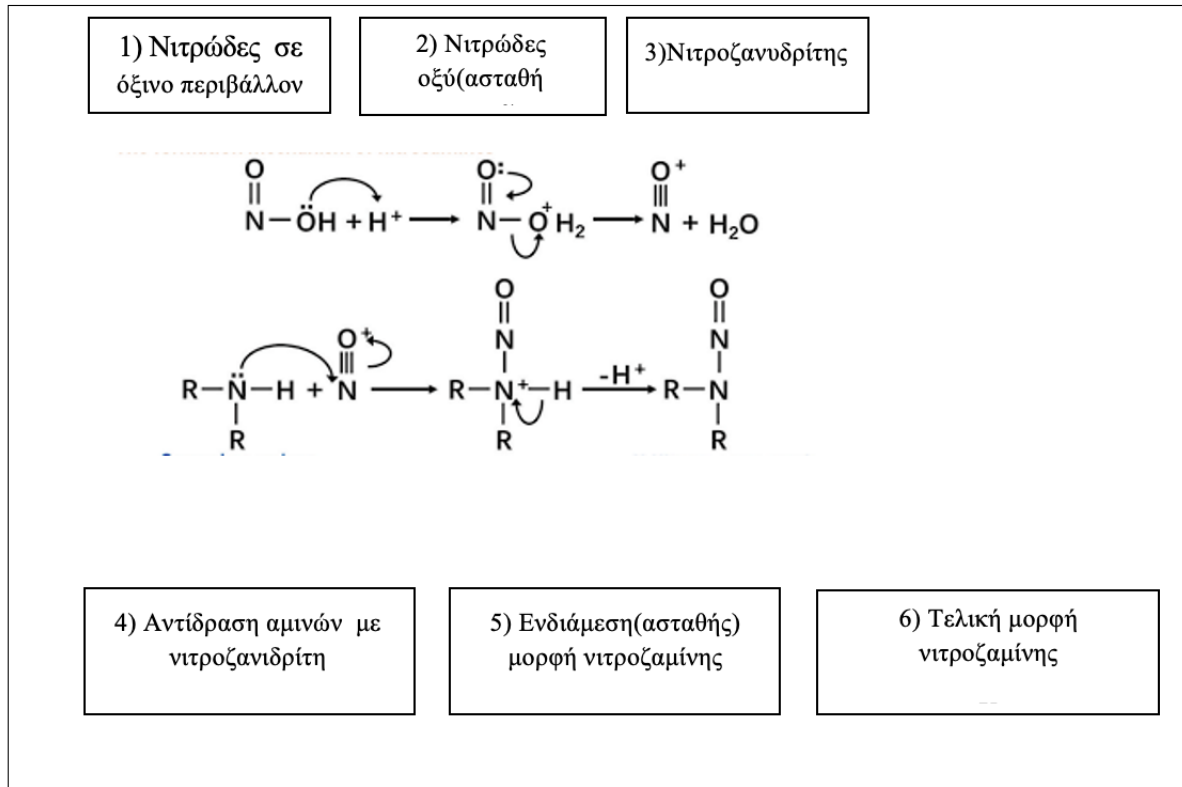
Σύμφωνα με την μελέτη που διεξήχθη στην Κορέα από τους (Park et al., 2015) με σκοπό τον εντοπισμό της ύπαρξης N-Νιτροζαμινών σε προϊόντα κρέατος, χρησιμοποιήθηκαν οι ενόργανες μέθοδοι «φασματογράφου μάζας αερίου χρωματογραφίας-θετικού χημικού ιονισμού (GC-PCI-MS/MS)» ή οποία τεχνική είχε προταθεί από την έκθεση του (Myeong, S.W. 2011). Τα αποτελέσματα της μελέτης έχουν παρατεθεί στον πίνακα 3 της παρούσας εργασίας. Μπορεί να διακριθεί ότι η NDMA παρουσίασε το μεγαλύτερο ποσοστό ανιχνευμένης νιτροζαμίνης. Ωστόσο εμφανίστηκαν και άλλα είδη νιτροζαμινών σε μικρότερες ποσότητες. Η συγκεκριμένη έρευνα αποτελεί πειστήριο της ύπαρξης και δημιουργίας διαφόρων ειδών νιτροζαμινών σε ένα μεγάλο εύρος προϊόντων κρέατος.

3.5 Σχηματισμός νιτροζαμινών

Οι νιτροζαμίνες προέρχονται από αντιδράσεις νιτρώδων ή νιτροποιητικών παραγόντων με δευτερογενείς αμίνες. Οι δευτερογενείς αμίνες πρόκειται για οργανικές ενώσεις που περιέχουν μεταξύ άλλων ένα άτομο αζώτου όπου συνδέεται με δύο αλκυλικές ομάδες. Δρουν ως νιτροποιήσιμα υποστρώματα, η αντίδραση τους με τα νιτρώδη και με τα οξειδία νιτρώδων προτρέπει να σχηματισμό νιτροζαμινών. (Xie et al., 2023)

Οι όξινες συνθήκες ευνοούν την μετατροπή των νιτρώδων σε νιτρώδες οξύ (HNO_2), όμως λόγω ασταθούς δομής το συγκεκριμένο οξύ διασπάται περαιτέρω σε νιτροζανυδρίτη (N_2O_3), που αποτελεί ένωση που παράγεται μέσω της ενεργού νιτροποίησης. Τέλος η αντίδραση μεταξύ νιτροζανυδρίτη και αμινών οδηγεί στο τελικό σχηματισμό των νιτροζαμινών.

Απεικόνιση του μηχανισμού δημιουργίας νιτροζαμίνης



ΕΙΚΟΝΑ 12: Δημιουργία νιτροζαμίνης (Xie et al., 2023)

3.6 Παράγοντες που ευνοούν την δημιουργία νιτροζαμινών

A) Ποιότητα κρέατος

Οι πρώτες ύλες κρέατος είναι δυνατόν να προ-περιέχουν N-νιτροζαμίνες. Έχει θεωρηθεί ότι η παραγωγή νιτροζαμινών μπορεί να οφείλεται σε ενδογενή σχηματισμό προδρόμων γεγονός που δεν αρκεί συνήθισμένο. Συγκεκριμένα αρκετά ζώα, λόγω κατανάλωσης επιβαρυσμένου νερού ή ζωοτροφών με νιτρικά ή αμίνες θα ήταν δυνατό να αποφέρει σχηματισμό N-νιτροζαμινών. (De Mey et al., 2017)

B) Νιτρώδη άλατα

Η προσθήκη νιτρώδων αλάτων είναι ο πιο άμεσος κίνδυνος που σχετίζεται με την παραγωγή N-νιτροζαμινών. Τα νιτρώδη άλατα όντας ισχυροί νιτροποιητικοί παράγοντες προσδίνουν περρίσεια αντιδρώντος στις δευτερογενείς αμίνες για τον σχηματισμό N-νιτροζαμινών. (De Mey et al., 2017)

Γ) Θερμική επεξεργασία

Η θερμοκρασία είναι καθοριστικός παράγοντας για τον σχηματισμό νιτροζαμινών. Παρόλο που χαμηλές τιμές θερμοκρασίας είναι ικανές να ευνοήσουν τον ενδογενή σχηματισμό N-νιτροζαμινών, η αύξηση της θερμοκρασίας λειτουργεί ως τροφοδοσία ενέργειας ενεργοποίησης για την ολοκλήρωση αντιδράσεων σχηματισμού N-Νιτροζαμινών. Κατά το μαγείρεμα, έχει αποδειχθεί ότι όσο μεγαλύτερη είναι θερμοκρασία θέρμανσης τόσο περισσότερες νιτροζαμίνες είναι δυνατόν να παραχθούν. Όμως, με βάση τους (Li et al., 2012) η περιεκτικότητα σε νιτροζαμίνες είναι μεγαλύτερη σε προϊόντα κρέατος που έχουν τηγανιστεί ή έχουν ψηθεί στα κάρβουνα σε μεγάλες θερμοκρασίες. Συγκεκριμένα σε αυτές τις δυο περιπτώσεις παρατηρούνται υψηλότερα επίπεδα NDMA, NDEA και NPYR. Αντίθετα, σε προϊόντα κρέατος που έχουν υποστεί θέρμανση στα μικροκύμματα ή βρασμό παρατηρείται μικρή έως αμελητέα δημιουργία N-νιτροζαμινών. (De Mey et al., 2017) (Li et al., 2012)

Δ) pH

Το pH επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό τον μηχανισμό αντίδρασης που δημιουργεί τις νιτροζαμίνες. Το νιτρώδες οξύ (νιτροποιητικός παράγοντας) σε όξινες συνθήκες οδηγεί σε αυξημένο σχηματισμό N-νιτροζαμινών. Ακόμα, το pH επηρεάζει την δραστηριότητα των

πρόδρομων αμίνων κατά την αντίδρασή τους με νιτροποιητικούς παράγοντες. Ειδικότερα οι πρωτογενείς αμίνες είναι δραστικότερες σε χαμηλές τιμές pH ενώ στις δευτεροταγείς αμίνες η δραστικότητα αυξάνεται ανάλογα με την τιμή του pH. (De Mey et al., 2017) Βέλτιστη τιμή για τον σχηματισμό N-νιτροζαμινών θεωρείται μια τιμή μεταξύ 3,0-4,0 μονάδες. (Li et al., 2012)

3.7 Επιδράσεις νιτροζαμινών στην ανθρώπινη υγεία

1) Γονοτοξικότητα

Με τον όρο γονοτοξικότητα αναφερόμαστε στην ικανότητα μια ουσίας να καταστρέφει το DNA. Οι νιτροζαμίνες έχουν αυτήν την δυνατότητα και είναι δυνατόν να προκαλέσουν την προ αναφέρουσα μετάλλαξη. Συγκεκριμένα, οι μεταβολίτες των νιτροζαμινών δύναται να αλληλοεπιδράσουν με μόρια DNA και να επηρεάσουν την φυσιολογική αντιγραφή του γενετικού υλικού. Ειδικότερα, μελέτες έχουν δείξει ότι οι N-νιτροζαμίνες NDMA και NDEA τροποποιούν την γουανίνη ($C_5H_5N_5O$) με αλκυλικές ομάδες. Ακόμα, θεωρείται ότι κάποιοι μεταβολίτες των N-Νιτροζαμινών αλληλοεπιδρούν με το άζωτο και το οξυγόνο της γουανίνης, της κυτοσίνης και της θυμίνης και προκαλούν αναντιστοιχίες και μεταλλάξεις στο γενετικό υλικό. Μια ακόμα επίδραση σχετίζεται με καρβονυλικές ενώσεις, οι οποίες παράγονται από τον μεταβολισμό των νιτροζαμινών, και είναι πιθανό να προσδένονται στο DNA σχηματίζοντας μια δυσλειτουργία η οποία επεκτείνεται με την συνεχή αντιγραφή του. Η γονοτοξικότητα πρόκειται για μια πολύ σοβαρή παρενέργεια που προκαλούν μεταξύ άλλων οι N-νιτροζαμίνες και ενδέχεται να αποφέρει σοβαρές επιπτώσεις όπως όγκους και περιπτώσεις καρκινογένεσης, που αποτελούν πολύ επικίνδυνες παθήσεις - έως και θανατηφόρες για την ανθρώπινη υγεία. (Xie et al., 2023)

2) Καρκινογένεση

Οι νιτροζαμίνες αναγνωρίζονται ως ένας από τους κύριους παράγοντες κινδύνου πρόκλησης καρκίνου. Με βάση αρκετές έρευνες και πειράματα που έχουν πραγματοποιηθεί, έχει διαγνωστεί ότι οι νιτροζαμίνες πρόκειται για εξαιρετικά επικίνδυνες και καρκινογόνες ουσίες, ενώ από τις περίπου 300 γνωστές N-νιτροζαμίνες το 90% αυτών ανήκει στην κατηγορία των «τοξικών» για την ανθρώπινη υγεία. Με βάση την μέθοδο « Bayesian model» που αναπτύχθηκε από τους (Thomas, Tennant και Oliveira το 2022) με σκοπό να

διευκρινιστεί ποιες ενώσεις των νιτροζαμινών, οφείλονται για τις καρκινικές δράσεις διαπιστώθηκε ότι η «NDEA, NMEA και η NDMA» έχουν πολύ μεγάλη δραστηριότητα. Επίσης, αποτελέσματα επιδημιολογικών ερευνών κατηγορούν τις N-νιτροζαμίνες για αρκετές μορφές καρκίνου όπως καρκίνο του στομάχου, του εντέρου του οισοφάγου του ήπατος κ.α. (Xie et al., 2023)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο Αναγκαιότητα εναλλακτικών πηγών νιτρικών/νιτρόδων αλάτων.

4.1 Κύριες αιτίες αντικατάστασης νιτρικών/νιτρωδών αλάτων.

Αδιαμφισβήτητα τα νιτρικά και τα νιτρώδη άλατα παρέχουν ποικίλες λειτουργίες ως πρόσθετα τροφίμων κυρίως στην τεχνολογία κρέατος. Ο βασικότερος λόγος χρησιμοποίησής τους είναι η οικονομική και αποδοτική απόδοση που διαθέτουν κατά την παραγωγή προϊόντων κρέατος. Έχουν την δυνατότητα ερυθρού χρωματισμού του κρέατος γεγονός που προάγει το ενδιαφέρον των καταναλωτών και αποτελεί σημαντικό στοιχείο μάρκετινγκ. Το κλειδί για την αγορά ενός προϊόντος αποτελεί «η πρώτη επαφή» και δεν είναι άλλη από την εξωτερική εμφάνιση οποιουδήποτε προϊόντος. Εκτός από την οργανοληπτική συνεισφορά, έχουν σπουδαία δράση ως συντηρητικά και πρόσθετα καθώς φέρουν την ικανότητα επιμήκυνσης της εμπορικής διάρκειας ζωής των τροφίμων όπου έχουν προστεθεί. Δρουν ενάντια στους πιο ανθεκτικούς παθογόνους μικροοργανισμούς και παρέχουν υψηλή αντιμικροβιακή δράση. Ακόμα καθυστερούν την οξείδωση των λιπιδίων, δρώντας ως δέκτες οξυγόνου με αποτέλεσμα να αποτρέπεται η οξειδωτική τάγγιση και να παρατείνεται η διάρκεια ζωής των προϊόντων κρέατος. Όμως, παρά την σωρεία επιθυμητών δράσεων στα τρόφιμα συνδέονται με ανεπιθύμητες καταστάσεις και ενέργειες, όπως τον σχηματισμό καρκιγόνων ουσιών τις N-νιτροζαμίνες. Μέχρι τώρα, ένας μεγάλος αριθμός ερευνών είναι διαθέσιμος και έχει εκτιμηθεί πως όταν λαμβάνονται τα νιτρικά/νιτρώδη άλατα σε υψηλές δόσεις, είναι δυνατόν μακροπρόθεσμα να προκαλέσουν ανεπιθύμητες και απειλητικές επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία. Σε αντίθεση με τα ισχυρά νομοθετικά όρια που έχουν καθιερωθεί από τις αρμόδιες υπηρεσίες περί επιτρεπόμενων ποσοτήτων προσθήκης τους, η σύνδεση τους με τον σχηματισμό N-νιτροζαμινών προκαλεί επιπλέον προβλήματα και «αναγκάζει» τις βιομηχανίες τροφίμων να στραφούν σε εναλλακτικές λύσεις και αποδέσμευση των νιτρικών και των νιτρόδων αλάτων ως συντηρητικά τροφίμων. (Gassara et al., 2016a)

Με βάση την υποχρέωση για την ύπαρξη ασφάλειας στην κατανάλωση των τροφίμων και την αναγκαιότητα των βιομηχανιών τροφίμων για την συνεχή βελτίωση της ποιότητας των προϊόντων τους, αναζητούνται συνεχώς εναλλακτικές λύσεις για την αποδέσμευση της προσθήκης νιτρικών/νιτρόδων αλάτων. Τα βασικά κριτήρια είναι να βρεθούν ύλες οι οποίες θα μπορούν να εξασφαλίζουν την μικροβιακή ασφάλεια των προϊόντων και να εξουδετερώνουν τους παθογόνους μικροοργανισμούς, να στέκονται ενάντια στην ποιοτική

υποβάθμιση των τροφίμων και να αποτρέπουν φαινόμενα οξείδωσης. Τέλος να δρουν ως ενισχυτικά οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, δηλαδή να ενισχύουν το χρώμα την γεύση και το άρωμα έτσι ώστε να γίνονται ελκυστικά από τους καταναλωτές.

Είναι δεδομένο ότι δεν είναι εφικτό να υπάρξει μια ένωση η οποία θα μπορούσε να αντικαταστήσει σε όλες τις πτυχές της λειτουργίας των νιτρικών/νιτρώδων αλάτων, για αυτό οι έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί επικεντρώνονται σε μεμονωμένες ιδιότητες, με στόχο να χρησιμοποιηθούν συνεργατικά με απώτερο σκοπό την μείωση ή ακόμα και την εξάλειψη της προσθήκης νιτρικών και νιτρώδων αλάτων στις βιομηχανίες κρέατος. (Shahidi and Pegg, 1992)

4.2 Εναλλακτικές λύσεις στον σχηματισμό χρώματος

Όπως γνωρίζουμε η πρωτεΐνη που είναι κυρίως υπεύθυνη για τον ερυθρό χρωματισμό του κρέατος είναι η μυοσφαιρίνη η οποία με την προσθήκη νιτρώδων και σε συνδυασμό με θερμική επεξεργασία παράγει μια σταθερή χρωστική ουσία που είναι υπεύθυνη για το τελικό χρώμα του επεξεργασμένου προϊόντος. Μια εναλλακτική λύση που θα μπορούσε να αξιοποιηθεί αποτελεί η προσχηματισμένη χρωστική ψημένου κρέατος (CCMP) η οποία παράγεται από την αντίδραση του μονοξειδίου του αζώτου με την αιμοσφαιρίνη. Δεν είναι ξεκάθαρος ο ακριβής τρόπος δράσης της συγκεκριμένης χρωστικής, όμως έχει παρατηρηθεί ότι τεμάχια κρέατος με υψηλές ποσότητες σε αρχική μυοσφαιρίνη (mg/g) θα χρειαστούν μεγαλύτερες ποσότητες CCMP για να ληφθούν τα επιθυμητά αποτελέσματα του ερυθρού χρωματισμού. (Shahidi and Pegg, 1992)

Οι Shahidi & Pegg (1990) πραγματοποίησαν μια συγκριτική μελέτη σε δείγματα από λουκάνικο με σκοπό να διακρίνουν τις ιδιότητες που θα φέρουν 12 ppm της CCMP σε σχέση με 156 ppm από νιτρώδη στον ερυθρό χρωματισμό. (Shahidi and Pegg, 1992)

Myoglobin (mg/g)	Nitrite-cured (156 ppm)			Pigment-treated (12 ppm)		
	<i>L</i>	<i>a</i>	Hue	<i>L</i>	<i>a</i>	Hue
0.76 ± 0.02	64.2 ± 0.3	10.8 ± 0.2	43.0 ± 0.6	63.3 ± 0.4	11.8 ± 0.2	39.4 ± 0.6
1.21 ± 0.03	57.9 ± 0.2	13.4 ± 0.2	34.6 ± 0.2	57.4 ± 0.2	13.2 ± 0.2	34.8 ± 0.4
2.33 ± 0.06	53.5 ± 0.8	15.4 ± 0.2	31.5 ± 0.6	52.1 ± 0.2	15.3 ± 0.2	31.4 ± 0.4

ΕΙΚΟΝΑ 13: Σύγκριση δειγμάτων με 12 ppm CCMP σε σχέση με 156 ppm νιτρώδη .

Μεταξύ άλλων εξετάστηκε η ένταση του χρώματος, και διαπιστώθηκε ότι τα αποτελέσματα ήταν αρκετά ικανοποιητικά με τις δύο ουσίες να παρέχουν παρόμοιες δράσεις (Εικόνα 13) Ελαφρώς μεγαλύτερη L^* τιμή παρατηρήθηκε με την προσθήκη νιτρώδων (156ppm) και φάνηκε να υπάρχει αντιστρόφως ανάλογη σχέση μεταξύ της έντασης του χρώματος(L^*) έπειτα από την προσθήκη νιτρώδων-CCMP σε σχέση με την αρχική ποσότητα σε μυοσφαιρίνη του δείγματος. (Shahidi and Pegg, 1992)

Τα οφέλη της συγκεκριμένης έρευνας καταδεικνύουν, ότι η χρήση της CCMP είναι μια αποτελεσματική εναλλακτική λύση για τον χρωματισμό κρεατοσκευασμάτων καθώς οι φυσικές χρωστικές παρέχουν παρόμοιο χρωματισμό με τα νιτρώδη (Shahidi and Pegg, 1992). Παράλληλα έχει ανακαλυφθεί ότι τα CCMP δεν είναι μεταλλαξιογόνα και δεν προκαλούν γονιδιατοξικές επιπλοκές, αντιθέτως η προσθήκη CCMP έχει δείξει μείωση στα υπολειμματικά νιτρώδη σε προϊόντα κρέατος. Αυτό συνεπάγεται με μείωση της πιθανότητας σχηματισμού N-νιτροζαμινών. Συμπερασματικά, η αντικατάσταση των νιτρώδων με τη συγκεκριμένη προσχηματισμένη χρωστική ψημένου κρέατος διαφαίνεται να έχει επιθυμητά αποτελέσματα (Stevanović et al., 2000)

4.3 Εναλλακτικές λύσεις στην αντιμικροβιακή δράση

Γεγονός μείζων σημασίας αποτελεί η μικροβιακή σταθερότητα των τροφίμων τόσο από τους καταναλωτές όσο και από τις βιομηχανίες τροφίμων. Τα προϊόντα κρεατοσκευασμάτων είναι ευάλωτα και συχνά δύναται να είναι μολυσμένα με παθογόνα βακτήρια. Η προσθήκη νιτρικών και νιτρώδων αλάτων παρουσιάζει ικανοποιητική δράση ως προς την ασφάλεια των τροφίμων αφού τα νιτρώδη καταπολεμούν τόσο τον παθογόνο μικροοργανισμό *C.botulinum* που πρόκειται για ένα από τα πιο ανθεκτικά παθογόνα βακτήρια όσο και τα σπόρια του. Συμπερασματικά για την αντικατάσταση των νιτρικών και των νιτρώδων θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν υποκατάστατα που να παρέχουν παρόμοιες αντιβακτηριακές δράσεις.

Σε μια μελέτη που διεξήχθη με σκοπό την αξιολόγηση διαφόρων ειδών επεξεργασίας και διαφορετικούς ή μεμονωμένους συνδυασμούς πρόσθετων ουσιών με στόχο τον εντοπισμό κατάλληλων αντιβακτηριακών μεθόδων ενάντια στην επιβίωση του *C.botulinum* και των επικίνδυνων προϊόντων παραγωγής του σε δείγμα χοιρινού κιμά, χρησιμοποιήθηκε ένα εύρος από ξεχωριστούς συσχετισμούς. Μελετήθηκε η δράση των παρακάτω ουσιών: του

ασκορβικού οξέος (ASC), τριφωσφορικού νατρίου (STPP), υποφωσφορικού νατρίου (SHP), τριτοταγής βουτυλ-υδροκινόνη (TBHQ), φουμαρικού μονομεθυλεστερά (MMF), προσχηματισμένη χρωστική κρέατος CCMP ή (MMF), αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ (EDTA) συγκριτικά με την δράση του μάρτυρα που ήταν 150 ppm από νιτρώδες άλας μαζί με ασκορβικό οξύ (ASC και NO₂). Τα νιτρώδη εξετάστηκαν μαζί με την προσθήκη ασκορβικού οξέος διότι όταν χρησιμοποιούνται συ παραγοντικά έχει αποδειχθεί ότι ενισχύεται η δράση έναντι στο *C.botulinum*. (Wood et al., 1986) Στην εικόνα 13 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της επίδρασης της επιβίωσης спорίων στην παραγωγή αερίων και τοξινών σε συσκευασίες κρέατος.

(Wood et al., 1986)

			Ημέρες επώασης στους 27 °C						
Treatment No.	Additives present	No. of spores/g	1	2	3	7	14	27	
2	ASC ^a	10 ²	10/10 ^b + ^c						
		10 ⁴	10/10 +						
3	ASC, STPP ^a	10 ²	10/10 +						
		10 ⁴	10/10 +						
4	ASC, STPP ^a , TBHQ	10 ²	10/10 +						
		10 ⁴	10/10 +						
5	ASC, STPP ^a , TBHQ, SOR	10 ²	0/10 - ^d	0/10 -	0/10 -	10/10 +			
		10 ⁴	0/10 -	10/10 +					
6	ASC, STPP ^a , TBHQ, MMF	10 ²	0/10 -	0/10 -	0/10 -	1/10 -	1/8 +	0/6 -	
		10 ⁴	0/10 -	0/10 -	0/10 -	0/10 -	2/8 -	0/6 -	
7	ASC, EDTA ^a	10 ²	0/10 -	8/10 +	2/2 +				
		10 ⁴	0/10 -	4/5 +	1/1 +				
8	ASC, TBHQ ^a , EDTA	10 ²	0/10 -	7/10 +	3/3 +				
		10 ⁴	0/10 -	8/10 +	2/2 -				
11	ASC, STPP ^a , TBHQ, SHP	10 ²	0/10 -	0/10 -	0/10 -	0/10 -	0/8 +	0/7 -	
		10 ⁴	0/10 -	0/6 -	0/6 -	0/6 -	0/6 -	0/6 -	
14	ASC NO ₂ (150 ppm)	10 ²	0/10 -	0/10 -	0/10 -	0/10 -	0/10 -	0/8 -	
		10 ⁴	0/10 -	0/6 -	0/6 -	0/6 -	0/6 -	0/6 -	
17	None	10 ²	10/10 +						
		10 ⁴	10/10 +						

- Εμφάνιση τοξίνης +
- Απουσία τοξίνης -

ΕΙΚΟΝΑ 14: Αποτελέσματα της επιβίωσης спорίων στην παραγωγή αερίων και τοξινών σε συσκευασίες κρέατος (Wood et al., 1986)

Σύμφωνα με την Εικόνα 14 φαίνεται ότι ο συνδυασμός 11 (ASC, STPP, TBHQ και SHP) παρουσίασε τις πιο αποτελεσματικές αντιμικροβιακές ιδιότητες έναντι της τοξίνης του *C.Botulinum*, ισάξιες με τις δράσεις του συνδυασμού 14 (ASC και NO₂). Με βάση τα παραπάνω θα μπορούσε να καταστεί μια πολύ ικανοποιητική εναλλακτική λύση του

συνδυασμού 11 για την αντικατάσταση των νιτρώδων ως πρόσθετα με σκοπό την ασφάλεια των τροφίμων. (Wood et al., 1986)

Αντιμικροβιακή δράση οργανικών οξέων

Τα οργανικά οξέα παρέχουν σημαντική βακτηριογόνο δράση, λόγω της ικανότητά τους να διασχίζουν την κυτταρική μεμβράνη, δύναται να τροποποιούν τις συγκεντρώσεις των ιόντων και των πρωτονίων στο κυτταρόπλασμα, με αποτέλεσμα να δημιουργούνται αναδιατάξεις στις δομές και τις λειτουργίες των βακτηρίων. Η αποτελεσματικότητα των οργανικών οξέων ποικίλει ανάλογα με το μήκος και το είδος της ανθρακικής αλυσίδας, ενώ παρατηρείται ότι το μικρότερο οργανικό οξύ που είναι το μυρμηκικό (HCOOH Mr: 46 g/mol), φέρει την υψηλότερη αντιβακτηριακή δράση έναντι των *E.coli* και *Salmonella spp*. Αντίθετα, φαίνεται ότι οργανικά οξέα μεσαίας ανθρακικής αλυσίδας είναι αποτελεσματικά έναντι του *Clostridium perfringens*. (Manuel and Cinta, 2019)

4.4 Εναλλακτικές λύσεις για την αντιοξειδωτική δράση

Η χρήση των αντιοξειδωτικών σε προϊόντα κρέατος αποσκοπεί στην προστασία τους από την οξειδωτική τάγγιση. Ο βαθμός στο οποίο είναι εφικτό να οξειδωθεί έναν προϊόν εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, τα νιτρικά και τα νιτρώδη άλατα έχουν ικανοποιητικές παρεμβολές, και επιβραδύνουν την ποιοτική υποβάθμιση των κρεατοσκευασμάτων από την οξείδωση. Υπάρχουν διάφορα αντιοξειδωτικά και ανάλογα με τον τρόπο δράσης τους κατατάσσονται σε ισχυρά και ασθενή. Τα ισχυρά αλληλοεπιδρούν άμεσα με τις ελεύθερες ρίζες δεσμευοντάς και καθιστώντας τες ανενεργές, ενώ τα ασθενή εμποδίζουν τον σχηματισμό ελευθέρων ριζών και επιβραδύνουν τον ρυθμό οξείδωσης. Υπάρχουν και συνεργατικές ουσίες που εμφανίζουν λειτουργίες ενάντια στην οξειδωτική τάγγιση, όμως δεν έχουν άμεση δράση, δεσμεύοντας βαρέα μέταλλα και αναστέλλοντας την προ οξειδωτική τους δράση. (Nikolay, 2022)

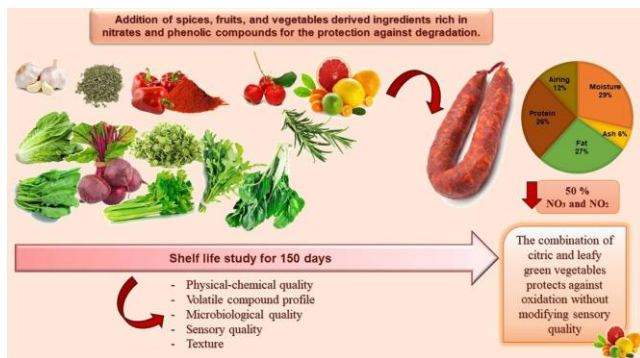
Οι περισσότερες βιβλιογραφικές ανασκοπήσεις των τελευταίων ετών υπερασπίζονται την προσθήκη φυσικών ουσιών με αντιοξειδωτικές ικανότητες με στόχο την αντικατάσταση των νιτρώδων από την βιομηχανία κρέατος. Έχουν πραγματοποιηθεί εκατοντάδες μελέτες και έρευνες και στις περισσότερες είτε προτείνεται η προσθήκη φυσικών ουσιών συνδυαστικά με

μειωμένες δόσεις νιτρόδων είτε θα μπορούσαν εξ ολοκλήρου να καταργηθούν τα νιτρώδη λόγω υψηλής απόδοσης των φυσικών ουσιών. Στην συνέχεια παρουσιάζονται μερικές από τις πιθανές φυσικές ουσίες που έχουν δοκιμαστεί για την αντικατάσταση των νιτρόδων. (Ferysiuk and Wójciak, 2020)

Φαινόλες-πολυφαινόλες

Οι φαινόλες και οι πολυφαινόλες είναι γνωστές για τις αντιοξειδωτικές ικανότητες που έχουν και συγκεκριμένα την εξουδετέρωση των ελευθέρων ριζών. Ειδικότερα αλληλοεπιδρούν με τις ελεύθερες ρίζες καθιστώντας τις ανενεργές. Ακόμα αποτρέπουν την εξάντληση άλλων αντιοξειδωτικών ουσιών που υπάρχουν στα κύτταρα όπως η βιταμίνη C και το β-καροτένιο. Λόγω αυτών των δυνατοτήτων τα φυσικά αντιοξειδωτικά ανταπεξέρχονται στις απαιτήσεις για την αναστολή της οξείδωσης και συμβάλουν στην προστασία των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των κρεατοσκευασμάτων που προστίθενται. (Nikolay, 2022)

Το εκχύλισμα από φλούδα ροδιού (PPE) χρησιμοποιείται έναντι της οξείδωσης στην επεξεργασία κρέατος. Αποτελεί φυσική αντιοξειδωτική ουσία και περιέχει μεγάλες ποσότητες πολυφαινόλων (φλαβοειδή) όσο και φαινολικά οξέα. Ακόμα χρησιμοποιείται από τις βιομηχανίες ως φυσική αντιοξειδωτική ουσία, εκχύλισμα πράσινου φιστικιού (PGHE) που αποτελεί καλή πηγή φαινολικού περιεχομένου. Έχει αποδειχθεί ότι σε συνδυασμό με τα PPE μειώνουν την MDA αλδεΐδη που αποτελεί δείκτη οξείδωσης στα προϊόντα κρέατος. Τα PGHE και PPE αποτελούν οικονομικές πηγές και υπάρχουν σε άφθονη ποσότητα, παράλληλα με τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες που παρέχουν, οι οποίες είναι παρόμοιες με των νιτρόδων καθίστανται ψηλά «υποψήφιες εναλλακτικές πηγές» (Shakil et al., 2022)



ΕΙΚΟΝΑ 15 : Εναλλακτικές ουσίες με στόχο την αποτροπή της ποιοτικής υποβάθμισης των κρεατοσκευασμάτων. (Martínez-Zamora et al., 2021)

4.5 Εναλλακτικές λύσεις για το άρωμα-γεύση

Οι δράσεις των νιτρικών και των νιτρώδων σχετίζονται με την παραγωγή χαρακτηριστικής γεύσης του παστεριωμένου κρέατος και με αρκετές αρωματικές επιδράσεις. Οι συγκεκριμένες επιδράσεις αποτελούν την λιγότερη κατανοητή πτυχή της χημείας των νιτρώδων (Pegg and Shahidi, 2000). Για την αντικατάστασή τους όσο αφορά, εναλλακτικές μεθόδους στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, τα μπαχαρικά φαίνεται ότι έχουν υποσχόμενες επιδράσεις. Η χρησιμοποίησή τους φημολογείται ότι ξεκίνησε από την αρχαιότητα. Η δράση τους παρέχει πολλές ευεργετικές λειτουργίες, όπως αντιμικροβιακές ιδιότητες και παρεμβολή στην επικράτηση «ανεπιθύμητης» οσμής σε προϊόντα κρέατος. Δεν είναι τυχαίο πως είναι πολύ δημοφιλή σε θερμά μέρη, που οι υψηλές θερμοκρασίες συντελούν στην ευκολότερη αλλοίωση τροφίμων ή ανάπτυξη των παθογόνων μικροοργανισμών. Σε αρκετές χώρες της Ασίας, τα μπαχαρικά αποτελούν τις κύριες φυσικές αρωματικές ουσίες στα τρόφιμα, αφού μεταξύ άλλων οι επιδράσεις τους καθυστερούν την αλλοίωση των τροφίμων και συμβάλουν στην υγεία των ανθρώπων παρέχοντας ευεργετικές δράσεις όπως προστασία από καρδιαγγειακές ασθένειες και άλλες παθήσεις. (Gassara et al., 2016b)

Σύμφωνα με τους (Gassara et al., 2016b) αρωματικά βότανα και μπαχαρικά όπως το γαρύφαλλο, το τζίντζερ, το πιπέρι, και το σκόρδο, ενισχύουν σημαντικά την ποιότητα, το άρωμα και την γεύση των κρεατοσκευασμάτων ενώ αποτελούν μια αποτελεσματική εναλλακτική λύση της προσθήκης νιτρικών/νιτρώδων στα προϊόντα κρέατος.

4.6 Μικροοργανισμοί ως αντικαταστάτες νιτρωδών

Υπάρχει μεγάλη ποικιλία εναλλακτικών πρόσθετων, που θα μπορούσαν να αντικαταστήσουν την χρήση νιτρικών/νιτρωδών αλάτων στην Επιστήμη Κρέατος. Παρόλα αυτά, δεν υπάρχει ο ιδανικός αντικαταστάτης που να μπορεί να εκτελέσει όλες τις λειτουργίες που παρέχουν τα νιτρωδή. Προτείνεται η προσθήκη ουσιών συνεργατικά, με απώτερο σκοπό να παρέχονται σε μεγάλο βαθμό οι λειτουργίες των νιτρικών και των νιτρωδών αλάτων με ταυτόχρονη ασφάλεια του ανθρώπου από την κατανάλωση προϊόντων κρέατος. Επίσης, μια πιθανή λύση θα ήταν η μείωση της συγκέντρωσης των νιτρικών, και η προσθήκη εναλλακτικών πρόσθετων σε μεγάλες συγκεντρώσεις. (Zhang et al., 2023)

Σύμφωνα με τους (Zhang et al., 2023) η μείωση των νιτρωδών στα κρεατοσκευάσματα επιτυγχάνεται με την προσθήκη μικροβιακών ενζύμων ή φυτικών συστατικών που έχουν την δυνατότητα μείωσης ή μετατροπής των νιτρωδών. Συγκεκριμένα, έχει αποδειχτεί ότι ορισμένα μικροβιακά ένζυμα μειώνουν την συγκέντρωση των νιτρωδών και στην συνέχεια ανάγονται σε μονοξείδιο του αζώτου (NO) ή ενώνονται με την μυοσφαιρίνη και συνθέτουν την NO-Mb συμβάλλοντας στο ερυθρό χρωματισμό του κρέατος. Οι (Huang et al. 2019) παρασκεύασαν αλλαντικά με προσθήκη δύο ειδών *Lactobacillus* (*Lactobacillus fermentum* RC4 και *Lactobacillus plantarum* B6), χωρίς την χρήση νιτρωδών και διέκριναν λαμπερό χρώμα και χαμηλή συγκέντρωση νιτρωδών στο τελικό προϊόν. Οι (Luo et al., 2020) παρασκευάζοντας, χοιρινά λουκάνικα πρόσθεσαν *Lactobacillus fermentum* AS1.1880 και διαπίστωσαν ότι το συγκεκριμένο είδος αύξησε επίσης την ερυθρότητα του κρέατος και μείωσε την περιεκτικότητα σε νιτρωδή. Στο πίνακα 4 παρουσιάζονται στελέχη ή είδη μικροοργανισμών που έχουν μελετηθεί και μπορούν να προκαλέσουν μείωση νιτρωδών με θετικές επιδράσεις στον χρωματισμό του παστώματος. (Zhang et al., 2023)

ΠΙΝΑΚΑΣ 4: Κύρια βακτηριακά είδη που επιδεικνύουν δράση στο χρωματισμό για τη μείωση των χρήσης νιτροδών αλάτων. (Zhang et al., 2023)

Μικροοργανισμοί	Πηγές των μικροοργανισμών
Lactobacillus plantarum CMRC6	Λουκάνικο χοιρινό που έχει υποστεί ζύμωση
Lactobacillus plantarum CMRC3	Guizhou ζυμωμένο Κρέας
Lactobacillus plantarum CMRC19	Guizhou ζυμωμένο κρέας
Lactobacillus fermentum RC4	Παστό κρέας
Lactobacillus fermentum AS1.1880	Χοιρινό κρέας που έχει υποστεί ζύμωση
Staphylococcus xylosus	Ωμό χοιρινό κρέας, λουκάνικα
Staphylococcus carnosus	Λουκάνικα
Staphylococcus saprophyticus	Λουκάνικα
Staphylococcus simulans	Λουκάνικα

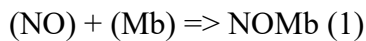
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- **Δράσεις νιτρωδών αλάτων**

Αναφέροντας τα νιτρικά/νιτρώδη άλατα, απευθυνόμαστε σε υψίστης σημασίας πρόσθετα για την Επιστήμη κρέατος. Με την προσθήκη τους, αυξάνουν την διάρκεια ζωής των προϊόντων κρέατος μέσω της α) αντιοξειδωτικής ικανότητάς που παρέχουν, ενώ σε συνδυασμό με τις ισχυρές β) αντιμικροβιακές ιδιότητες καθίστανται χρήσιμα «εργαλεία» για την βιομηχανία κρέατος. Η χρησιμοποίησή τους έχει ακόμα εμπορική σημασία, καθώς γ) ο ερυθρός χρωματισμός που παρατηρείται σε κρεατοσκευάσματα που έχουν υποστεί επεξεργασία με νιτρικά/νιτρώδη άλατα, αυξάνει σε μεγάλο βαθμό την έλξη του καταναλωτή ως προς το προϊόν. Επιπροσθέτως, τα νιτρώδη είναι υπεύθυνα και για την δ) παραγωγή της χαρακτηριστικής γεύσης του παστεριωμένου κρέατος, αλλά και για τη ε) βελτίωση του αρώματος της πρώτης ύλης αν και αυτή είναι ίσως η λιγότερο κατανοητή πτυχή της χημείας των νιτρωδών. Έχουν προταθεί αρκετές ερμηνείες για την επεξήγηση των συγκεκριμένων δράσεων, μεταξύ των οποίων αλληλεπιδράσεις τους με λίπη και πρωτεΐνες των κρεάτων φαίνεται να δικαιολογεί σε μεγαλύτερο βαθμό τα συγκεκριμένα αποτελέσματα, παρόλα αυτά απαιτούνται περαιτέρω έρευνες για την πλήρη κατανόηση του μηχανισμού λειτουργίας τους.

1. Τα νιτρώδη θεωρούνται ισχυρά αντιοξειδωτικά. Έχουν την δυνατότητα να αντιδρούν με δραστικά μόρια οξυγόνου με αποτέλεσμα να αναστέλλεται η οξείδωση των λιπιδίων διακόπτοντας τις αλυσιδωτές αντιδράσεις που παρατηρούνται κατά την οξείδωση.
2. Χρησιμοποιούνται ως χηλικοί παράγοντες, δηλαδή ουσίες που δύναται να δεσμεύουν άτομα μετάλλων με αποτέλεσμα να αποτρέπεται η οξείδωση του σιδήρου της αίμης. (Shakil et al., 2022)
3. Η αντιμικροβιακή τους δράση, αποδίδεται στο ότι τα νιτρώδη «μπλοκάρουν» τα μεταβολικά ένζυμα των βακτηρίων και «περιορίζουν» την απορρόφηση του οξυγόνου πρόσληψής τους. Με αποτέλεσμα να περιορίζουν την ανάπτυξη και την επιβίωσή τους. Τα νιτρώδη χρησιμοποιούνται κυρίως σε προϊόντα αλλαντικών για την καταπολέμηση του *C.botulinum*.
4. Ο ερυθρός χρωματισμός αποδίδεται στον σχηματισμό της νιτροσομυοσφαιρίνη (NOMb), τη χρωστική ουσία που είναι υπεύθυνη για το ροζ χρώμα των προϊόντων κρέατος. Η συγκεκριμένη χρωστική δημιουργείται από την αντίδραση της νιτροποίησης που αφού τα

νιτρώδη έχουν αναχθεί σε μονοξείδιο του αζώτου (NO) πραγματοποιείται η αντίδραση τους με την μυοσφαιρίνη.(1)



- **Νιτρικά άλατα**

Τα νιτρικά άλατα έχουν μικρή συνεισφορά στις παραπάνω δράσεις. Αποτελούν πηγή δημιουργίας για τα νιτρώδη μέσω της αναγωγής τους από βακτήρια (νιτροαναγωγικά βακτήρια) και ένζυμα που υπάρχουν στα προϊόντα κρέατος. Το γεγονός ότι η συγκέντρωση των νιτρώδων μειώνεται συνεχώς στα προϊόντα κρέατος διότι είτε τα ίδια αντιδρούν με πρωτεΐνες αίμης (μυοσφαιρίνη και αιμοσφαιρίνη) ή μη αιμικές πρωτεΐνες (λιπίδια υδατάνθρακες) αποτελεί έναν από τους λόγους χρησιμοποίησής τους.

- **Νιτροζαμίνες**

Οι (Ohshima και Bartsch το 1981) απέδειξαν ότι σχηματίζονται in vivo N-νιτροζαμίνες στον ανθρώπινο οργανισμό και συγκεκριμένα στο στομάχι λόγω των ευνοϊκών όξινων συνθηκών που επικρατούν.

Οι νιτροζαμίνες είναι μια κατηγορία χημικών ενώσεων που σχηματίζονται από αντιδράσεις μεταξύ νιτρικών/νιτρώδων αλάτων με δευτερογενείς αμίνες και πρόκειται για εξαιρετικά επικίνδυνες(πτητικές N-νιτροζαμίνες) και καρκινογόνες ουσίες που δύναται να βλάψουν τον ανθρώπινο οργανισμό. Λαμβάνοντας υπόψιν την υποχρέωση για την ύπαρξη ασφάλειας στην κατανάλωση των τροφίμων και την αναγκαιότητα των βιομηχανιών τροφίμων για την συνεχή βελτίωση της ποιότητας των προϊόντων τους, αναζητούνται συνεχώς εναλλακτικές λύσεις για την αποδέσμευση της προσθήκης νιτρικών/νιτρώδων αλάτων.

- **Μεμονωμένα πιθανά υποκατάστατα**

Είναι δεδομένο ότι δεν είναι εφικτό να υπάρξει μια ένωση η οποία θα μπορούσε να αντικαταστήσει σε όλες τις πτυχές της λειτουργίας των νιτρικών/νιτρώδων αλάτων, για αυτό οι έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί επικεντρώνονται σε μεμονωμένες ιδιότητες. Με στόχο να χρησιμοποιηθούν συνεργατικά με απώτερο σκοπό την μείωση ή ακόμα και την εξάλειψη της προσθήκης νιτρικών και νιτρώδων αλάτων στις βιομηχανίες κρέατος.

Αρκετές έρευνες έχουν εστιάσει στην σύγκριση της απόδοσης που επιφέρουν τα νιτρώδη/νιτρικά σε προϊόντα κρέατος σε σχέση με τις εναλλακτικές ουσίες που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν.

Συγκεκριμένα

Αντιοξειδωτική δράση

Οι περισσότερες βιβλιογραφικές ανασκοπήσεις των τελευταίων ετών υπερασπίζονται την προσθήκη φυσικών ουσιών (φαινόλες-πολυφαινόλες) με αντιοξειδωτικές ικανότητες με στόχο την αντικατάσταση των νιτρώδων από την βιομηχανία κρέατος. Σύμφωνα με τον (Shakil et al., 2022) η χρήση από εκχύλισμα φλούδας ροδιού (PPE) που περιέχει ποσότητες πολυφαινόλων (φλαβοειδή) όσο και φαινολικά οξέα, αλλά και εκχυλίσματος πράσινου φιστικιού (PGHE) που αποτελεί καλή πηγή φαινολικού περιεχομένου δρουν συνεργατικά και έχει αποδειχθεί ότι σε συνδυασμό με τα PPE μειώνουν την MDA αλδεϋδη που αποτελεί δείκτη οξείδωσης στα προϊόντα κρέατος.

Αντιμικροβιακή δράση

Σε μια μελέτη που διεξήχθη με σκοπό την αξιολόγηση διαφόρων ειδών επεξεργασίας και διαφορετικούς ή μεμονωμένους συνδυασμούς πρόσθετων ουσιών με στόχο τον εντοπισμό κατάλληλων αντιβακτηριακών μεθόδων ενάντια στην επιβίωση του *C.botulinum* και των επικίνδυνων προϊόντων παραγωγής του από τους (Wood et al.,1986). Εξάχθηκε το συμπέρασμα ότι συνεργατικά τα ASC, STPP, TBHQ και SHP παρουσιάζουν ισάξιες αντιμικροβιακές δράσεις συγκριτικά με την προσθήκη ASC και 150 mg νιτρωδών έναντι της παραγωγής τοξίνης από τον παθογόνο *C.Botulinum*.

Σχηματισμός χρώματος

Οι Shahidi & Pegg (1990) ανακάλυψαν ότι η προσχηματισμένη χρωστική ψημένου κρέατος (CCMP) είναι μια αποτελεσματική εναλλακτική λύση για τον χρωματισμό κρεατοσκευασμάτων χρησιμοποιώντας φυσικές χρωστικές παρέχουν παρόμοιο χρωματισμό με τα νιτρώδη με την διαφορά ότι τεμάχια κρέατος με υψηλές ποσότητες σε αρχική μυοσφαιρίνη (mg/g) θα χρειαστούν μεγαλύτερες ποσότητες CCMP για τα επιθυμητά αποτελέσματα του χρωματισμού.

Άρωμα-γεύση

Εναλλακτικές ουσίες με άμεση δράση στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά αποτελούν αρκετά μπαχαρικά και αρωματικά βότανα. Αναλυτικότερα το γαρύφαλλο, το τζίντζερ, το πιπέρι και το σκόρδο ενισχύουν σημαντικά την ποιότητα, το άρωμα και την γεύση των προϊόντων κρεατοσκευασμάτων. Τέλος, όντας φυσικά και αβλαβή αποτελούν μια αποτελεσματική εναλλακτική λύση της προσθήκης νιτρικών/νιτρώδων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Alahakoon, A. U., Jayasena, D. D., Ramachandra, S., & Jo, C. (2015). Alternatives to nitrite in processed meat: Up to date. *Trends in Food Science & Technology*, 45(1), 37–49. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.05.008>
2. Berardi, G., Albenzio, M., Marino, R., D'Amore, T., Di Taranto, A., Vita, V., & Iammarino, M. (2021). Different use of nitrite and nitrate in meats: A survey on typical and commercial Italian products as a contribution to risk assessment. *LWT*, 150, 112004. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112004>
3. Chasco, J., Lizaso, G., & Beriain, M. J. (1996). Cured color development during sausage processing. *Meat Science*, 44(3), 203–211. [https://doi.org/10.1016/s0309-1740\(96\)00092-7](https://doi.org/10.1016/s0309-1740(96)00092-7)
4. Eveline De Mey, Hannelore De Maere, Paelinck, H., & Fraeye, I. (2017). Volatile N-nitrosamines in meat products: Potential precursors, influence of processing, and mitigation strategies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(13), 2909–2923. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1078769>
5. Faustino, M., Veiga, M., Sousa, P., Costa, E., Silva, S., & Pintado, M. (2019). Agro-Food Byproducts as a New Source of Natural Food Additives. *Molecules*, 24(6), 1056. <https://doi.org/10.3390/molecules24061056>
6. Ferysiuk, K., & Wójciak, K. M. (2020). Reduction of Nitrite in Meat Products through the Application of Various Plant-Based Ingredients. *Antioxidants*, 9(8), 711. <https://doi.org/10.3390/antiox9080711>
7. Flores, M., & Toldrá, F. (2021). Chemistry, safety, and regulatory considerations in the use of nitrite and nitrate from natural origin in meat products - Invited review. *Meat Science*, 171, 108272. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108272>
8. Gassara, F., Kouassi, A. P., Brar, S. K., & Belkacemi, K. (2015). Green Alternatives to Nitrates and Nitrites in Meat-based Products—A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(13), 2133–2148. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.812610>
9. Gómez-García, M., Sol, C., de Nova, P. J. G., Puyalto, M., Mesas, L., Puente, H., Mencía-Ares, Ó., Miranda, R., Argüello, H., Rubio, P., & Carvajal, A. (2019). Antimicrobial activity of a selection of organic acids, their salts, and essential oils against swine enteropathogenic bacteria. *Porcine Health Management*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/s40813-019-0139-4>
10. GOVARI (Μ. ΓΚΟΒΑΡΗ), Μ., & PEXARA (Α. ΠΕΞΑΡΑ), Α. (2018). Nitrates and Nitrites in meat products. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 66(3), 127. <https://doi.org/10.12681/jhvms.15856>
11. Honikel, K.-O. (2008). The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Science*, 78(1-2), 68–76. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.05.030>

12. Huang, H., Weng, H., & Chen, J. (2020). m6A Modification in Coding and Non-coding RNAs: Roles and Therapeutic Implications in Cancer. *Cancer Cell*, 37(3), 270–288. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2020.02.004>
13. Jiménez, E., Giménez, J. B., Ruano, M. V., Ferrer, J., & Serralta, J. (2011). Effect of pH and nitrite concentration on nitrite oxidation rate. *Bioresource Technology*, 102(19), 8741–8747. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.07.092>
14. Jo, K., Lee, S., Yong, H. I., Choi, Y.-S., & Jung, S. (2020). Nitrite sources for cured meat products. *LWT*, 129, 109583. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109583>
15. Karwowska, M., & Kononiuk, A. (2020). Nitrates/Nitrites in Food—Risk for Nitrosative Stress and Benefits. *Antioxidants*, 9(3), 241. <https://doi.org/10.3390/antiox9030241>
16. Kolev, N. D. (2022). Natural antioxidants – an alternative for the reduction of nitrites in cooked meat products. *Food Science and Applied Biotechnology*, 5(1), 64. <https://doi.org/10.30721/fsab2022.v5.i1.167>
17. Li, L., Wang, P., Xu, X., & Zhou, G. (2012). Influence of Various Cooking Methods on the Concentrations of Volatile N-Nitrosamines and Biogenic Amines in Dry-Cured Sausages. *Journal of Food Science*, 77(5), C560–C565. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02667.x>
18. Luo, H., Li, P., Zhang, H., Diao, X., & Kong, B. (2020). Nitrosylmyoglobin formation in meat by *Lactobacillus fermentum* AS1.1880 is due to its nitric oxide synthase activity. *Meat Science*, 166, 108122–108122. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108122>
19. Magee, P. N. (1971). Toxicity of nitrosamines: Their possible human health hazards. *Food and Cosmetics Toxicology*, 9(2), 207–218. [https://doi.org/10.1016/0015-6264\(71\)90306-3](https://doi.org/10.1016/0015-6264(71)90306-3)
20. Mancini, F. R., Paul, D., Gauvreau, J., Volatier, J. L., Vin, K., & Hulin, M. (2015). Dietary exposure to benzoates (E210–E213), parabens (E214–E219), nitrites (E249–E250), nitrates (E251–E252), BHA (E320), BHT (E321), and aspartame (E951) in children less than 3 years old in France. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 1–14. <https://doi.org/10.1080/19440049.2015.1007535>
21. Martínez-Zamora, L., Peñalver, R., Ros, G., & Nieto, G. (2020). Substitution of synthetic nitrates and antioxidants by spices, fruits, and vegetables in labeled Spanish chorizo. *Food Research International*, 109835. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109835>
22. Miloš Stevanović, Cadez, P., B. Žlender, & Metka Filipič. (2000). Genotoxicity Testing of Cooked Cured Meat Pigment (CCMP) and Meat Emulsion Coagulates Prepared with CCMP. *Journal of Food Protection*, 63(7), 945–952. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-63.7.945>
23. Mirvish, S. S. (1995). Role of N-nitroso compounds (NOC) and N-nitrosation in etiology of gastric, esophageal, nasopharyngeal, and bladder cancer and contribution to cancer of known exposures to NOC. *Cancer Letters*, 93(1), 17–48. [https://doi.org/10.1016/0304-3835\(95\)03786-v](https://doi.org/10.1016/0304-3835(95)03786-v)

24. Niklas, A. A., Borge, G. I. A., Rødbotten, R., Berget, I., Müller, M. H. B., Herrmann, S. S., Granby, K., & Kirkhus, B. (2023). Levels of nitrate, nitrite and nitrosamines in model sausages during heat treatment and in vitro digestion – The impact of adding nitrite and spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Food Research International*, *166*, 112595. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112595>
25. Park, J., Seo, J., Lee, J., & Kwon, H. (2015). Distribution of Seven N-Nitrosamines in Food. *Toxicological Research*, *31*(3), 279–288. <https://doi.org/10.5487/tr.2015.31.3.279>
26. Pegg, R., & Shahidi, F. (2000). *Nitrite Curing of Meat. The N-Nitrosamine Problem and Nitrite alternatives*. Food and Nutrition Press, Trumbull, CT.
27. Pierson, M. D., & Smoot, L. A. (1982). Nitrite, nitrite alternatives, and the control of *Clostridium botulinum* in cured meats. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *17*(2), 141–187. <https://doi.org/10.1080/10408398209527346>
28. Ραμαντάνης, Σ. (n.d.). *Τεχνολογία κρέατος και προϊόντων του* (Γ'ΕΚΔΟΣΗ, Vol. 13). Εκδόσεις Σύγχρονη Παιδεία.
29. Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, *20*(7), 933–956. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02227-9](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02227-9)
30. Seo, K.-W., Sohn, S.-Y., Bhang, D.-H., Nam, M.-J., Lee, H.-W., & Youn, H.-Y. (2013). Therapeutic effects of hepatocyte growth factor-overexpressing human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells on liver fibrosis in rats. *Cell Biology International*, *38*(1), 106–116. <https://doi.org/10.1002/cbin.10186>
31. Shahidi, F., & Pegg, R. B. (1992). Nitrite-free meat curing systems: Update and review. *Food Chemistry*, *43*(3), 185–191. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(92\)90171-w](https://doi.org/10.1016/0308-8146(92)90171-w)
32. Shakil, M. H., Trisha, A. T., Rahman, M., Talukdar, S., Kobun, R., Huda, N., & Zzaman, W. (2022). Nitrites in Cured Meats, Health Risk Issues, Alternatives to Nitrites: A Review. *Foods*, *11*(21), 3355. <https://doi.org/10.3390/foods11213355>
33. SOFOS, J. N., & BUSTA, F. F. (1981). Antimicrobial Activity of Sorbate. *Journal of Food Protection*, *44*(8), 614–622. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-44.8.614>
34. Toldrá, F., Aristoy, M-Concepción., & Flores, M. (2009). Relevance of nitrate and nitrite in dry-cured ham and their effects on aroma development. *Grasas Y Aceites*, *60*(3), 291–296. <https://doi.org/10.3989/gya.130708>
35. WOOD, D. S., COLLINS-THOMPSON, D. L., USBORNE, W. R., & PICARD, B. (1986). An Evaluation of Antibotulinal Activity in Nitrite-Free Curing Systems Containing Dinitrosyl Ferrohemochrome. *Journal of Food Protection*, *49*(9), 691–695. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-49.9.691>

36. Xie, Y., Geng, Y., Yao, J., Ji, J., Chen, F., Xiao, J., Hu, X., & Ma, L. (2023). *N-nitrosamines in processed meats: Exposure, formation and mitigation strategies*. *13*, 100645–100645.
<https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100645>
37. Zhang, Y., Zhang, Y., Jia, J., Peng, H., Qian, Q., Pan, Z., & Liu, D. (2023). Nitrite and nitrate in meat processing: Functions and alternatives. *Current Research in Food Science*, *6*, 100470.
<https://doi.org/10.1016/j.crfs.2023.100470>