

Νιτρώδη και Νιτρικά στα Τρόφιμα



Πανεπιστήμιο Κύπρου
Τμήμα Χημείας

Εργαστήριο Βιοφυσικής & Βιοαναλυτικής Χημείας

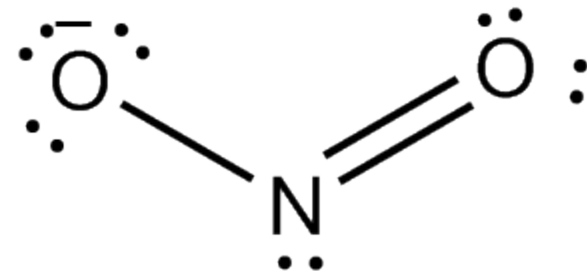
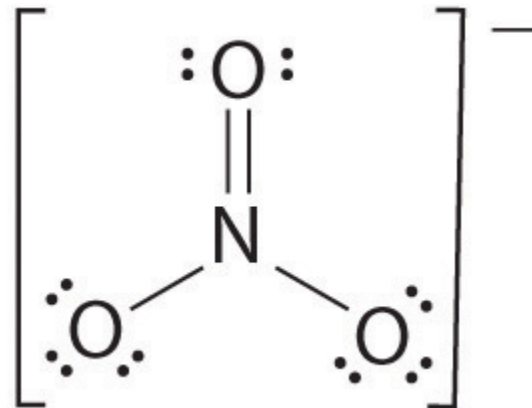
Ευτυχία Πινακουλάκη

Μάϊος 2016

Νιτρώδη (NO_2^-) και Νιτρικά (NO_3^-)

- Αποτελούν μέρος της ανθρώπινης διατροφής
 - Περιέχονται ως συστατικά σε λαχανικά και φρούτα
 - Χρησιμοποιούνται ως συντηρητικά σε προϊόντα κρέατος

E 249	Νιτρώδες κάλιο
E 250	Νιτρώδες νάτριο
E 251	Νιτρικό νάτριο
E 252	Νιτρικό κάλιο



Χρήση NO_3^- και NO_2^- σε προϊόντα κρέατος

- αναστολή της ανάπτυξης μικροοργανισμών (*Clostridium botulinum*, αλλαντίαση)
- παρεμπόδιση της οξείδωσης των λιπαρών οξέων
- επιθυμητό ροζ χρώμα
- βελτίωση της γεύσης



Σαλάμι χωρίς (αριστερά) και με (δεξιά) προσθήκη νιτρωδών.

Παραδείγματα περιεκτικότητας NO_3^- και NO_2^- (ppm) σε φρέσκα τρόφιμα

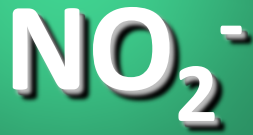
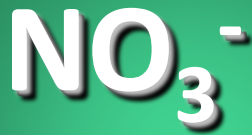
Προϊόν	Μέση Συγκέντρωση NO_3^- (ppm)	Εύρος NO_3^- (ppm)	Μέση Συγκέντρωση NO_2^- (ppm)	Εύρος NO_2^- (ppm)
Σπανάκι	2333	535-3660	7.0	0.0-12.9
Φράουλες	173	105-293	2.0	0.0-7.1
Μπανάνες	137	88-214	2.1	0.0-9.5
Μανιτάρια	59	19-85	8.0	0.0-38.0
Σέλινο	1544	316-3320	1.6	0.0-5.2
Λάχανο	573	193-976	2.4	0.0-12.6
Παντζάρια	2756	1680-3590	10.0	2.1-29.8

Παραδείγματα περιεκτικότητας NO_3^- και NO_2^- (ppm) σε επεξεργασμένα τρόφιμα

Κρέας (εμβ. σε άλμη)	14	3-32	6.8	0.2-36.5
Κρέας (εμβ. σε άλμη, μαγειρ.)	16	0.2-108	7.5	0.1-27.6
Κρέας παστό αποξηραμένο	106	0.4-1366	1.5	0.1-16.2

Αναδρομή στη χρήση NO_3^- και NO_2^- ως πρόσθετα

1900: Από το 1900 άλατα νιτρικών και νιτρωδών χρησιμοποιούνται σε μεγάλο βαθμό στη βιομηχανία κρεατοσκευασμάτων



1970: Μελέτες που αφορούσαν αντιδράσεις οργανικών και ανόργανων ουσιών αποκάλυψαν τον πιθανό σχηματισμό καρκινογόνων νιτροζαμινών στα τρόφιμα. Οι ενώσεις αυτές σχηματίζονται από την αντίδραση των νιτρωδών με δευτεροταγείς αμίνες (σε υψηλές θερμοκρασίες).

2006: Διεθνής οργανισμός έρευνας για τον καρκίνο (IARC) “Ingested nitrate or nitrite under conditions that result in endogenous nitrosation is probably carcinogenic to humans (Group 2A)”

Χρήση NO_3^- και NO_2^- ως πρόσθετα

SCIENTIFIC OPINION

Statement on nitrites in meat products¹

EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS)²

European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy

The Panel concludes that the data provided by the Danish authorities do not provide a basis to revise the ADI of 0.07 mg/kg bw/day for nitrite.

The Panel notes that in several European countries the mean exposure at Tier 2 is above the ADI. At Tier 3, the exposure of adult high consumers is just above the ADI while for high consumer children the exposure is 2.5 times above the ADI, and the higher range of the mean exposure of children is close to the ADI.

The Panel concludes, in line with what has been concluded by the SCF in 1995 that exposure to preformed nitrosamines in food should be minimized by appropriate technological practices such as lowering the levels of nitrate and nitrite added to foods to the minimum required to achieve the necessary preservative effect and to ensure microbiological safety.

Acceptable daily intake (ADI) = The amount of a food additive, expressed as mg/kg body weight, that can be ingested daily over a lifetime without incurring any appreciable health risk.

Χρήση NO_3^- και NO_2^- ως πρόσθετα

ΟΔΗΓΙΑ 2006/52/ΕΚ ΤΟΥ ΕΥΡΩΠΑΪΚΟΥ ΚΟΙΝΟΒΟΥΛΙΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΥ

της 5ης Ιουλίου 2006

ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΕ) αριθ. 1129/2011 ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

της 11ης Νοεμβρίου 2011

Με βάση γνωμοδότηση της Ευρωπαϊκής Αρχής για την ασφάλεια των τροφίμων (EFSA) της 26ης Νοεμβρίου 2003, γίνονται τροποποιήσεις στις ισχύουσες εγκρίσεις, προκειμένου να διατηρηθούν οι νιτροζαμίνες σε όσο το δυνατόν χαμηλότερα επίπεδα, με τη μείωση των νιτρωδών και νιτρικών αλάτων που προστίθενται στα τρόφιμα, διατηρώντας συγχρόνως τη μικροβιολογική ασφάλεια των προϊόντων διατροφής. Η EFSA συνιστά τα επίπεδα των νιτρωδών και νιτρικών αλάτων να καθορίζονται στη νομοθεσία ως «προστιθέμενη ποσότητα». Η EFSA θεωρεί ότι στην ανασταλτική δράση κατά του *C. botulinum* συμβάλλει η προστιθέμενη ποσότητα νιτρωδών αλάτων και όχι η ποσότητα καταλοίπων. Οι ισχύουσες διατάξεις θα πρέπει να τροποποιηθούν κατά τρόπον ώστε τα μέγιστα επιτρεπόμενα επίπεδα, όπως αναφέρονται από την EFSA, στα μη θερμικώς επεξεργασμένα ή στα θερμικώς επεξεργασμένα προϊόντα κρέατος, στο τυρί και στα ψάρια να ορίζονται ως προστιθέμενες ποσότητες. Κατ' εξαίρεση ωστόσο, για ορισμένα προϊόντα κρέατος που παρασκευάζονται με παραδοσιακό τρόπο θα πρέπει να ορίζονται μέγιστα επίπεδα καταλοίπων, υπό τον όρο ότι τα προϊόντα προσδιορίζονται και επισημαίνονται δεόντως. Με τα οριζόμενα επίπεδα θα πρέπει

Τα νιτρώδη (E 249 – 250) χρειάζονται ως συντηρητικό στα προϊόντα κρέατος για να καταπολεμηθεί η πιθανή ανάπτυξη επιβλαβών βακτηρίων, και ιδίως του *Clostridium botulinum*. Ωστόσο, η χρήση νιτρωδών στο κρέας μπορεί να οδηγήσει στον σχηματισμό νιτροζαμινών, που είναι καρκινογόνες ουσίες. Η ισχύουσα έγκριση της χρήσης των νιτρωδών ως προσθέτων σε τρόφιμα σταθμίζει τα στοιχεία αυτά, λαμβάνοντας υπόψη την επιστημονική γνώμη της Αρχής και την ανάγκη να διατηρηθούν ορισμένα παραδοσιακά τρόφιμα παρασκευής έχουν καθοριστεί ανώτατα όρια καταλοίπων στο παράρτημα ΙΙΙ της οδηγίας 95/2/ΕΚ. Αυτά τα όρια θα πρέπει να διατηρηθούν για κάποια καταλλήλως καθορισμένα και προσδιορισμένα προϊόντα· ωστόσο, θα πρέπει να αποσαφηνιστεί ότι τα εν λόγω όρια ισχύουν στο τέλος της διαδικασίας παραγωγής. Επιπλέον, η Επιτροπή θα ζητήσει τη γνώμη των κρατών μελών, των εμπλεκόμενων παραγόντων και της Αρχής για το ενδεχόμενο να μειωθούν τα ισχύοντα ανώτατα όρια για όλα τα προϊόντα κρέατος και να απλουστευθούν ακόμη περισσότερο οι κανόνες για τα προϊόντα παραδοσιακής παρασκευής. Ανάλογα με το αποτέλεσμα των διαβουλεύσεων αυτών, η Επιτροπή θα εξετάσει αν ενδείκνυται να προτείνει την προσαρμογή των ανώτατων επιπέδων νιτρωδών τα οποία επιτρέπεται να προστίθενται σε ορισμένα προϊόντα κρέατος.

Αριθ. Ε	Όνομασία	Τρόφιμα	Ανώτατη προστιθέμενη ποσότητα κατά την παρασκευή (εκφραζόμενη ως NaNO ₂)	Ανώτατη ποσότητα ως κατάλοιπο στο τελικό τρόφιμο (εκφραζόμενη ως NaNO ₂)	Αριθ. Ε	Όνομασία	Τρόφιμα	Ανώτατη προστιθέμενη ποσότητα κατά την παρασκευή (εκφραζόμενη ως NaNO ₂)	Ανώτατη ποσότητα ως κατάλοιπο στο τελικό τρόφιμο (εκφραζόμενη ως NaNO ₂)				
E 249	Νιτρώδες κάλιο (8)	Προϊόντα κρέατος	150 mg/kg		E 251	Νιτρικό νάτριο (9)	Προϊόντα κρέατος μη θερμικώς επεξεργασμένα	150 mg/kg					
E 250	Νιτρώδες νάτριο (8)	Αποστειρωμένα προϊόντα κρέατος (Fo > 3.00) (9)	100 mg/kg		E 252	Νιτρικό κάλιο (9)	Παραδοσιακά προϊόντα κρέατος διατηρημένα με εμφάτιση (1): <i>Kylmäsavustettu poronliha/ Kallrökt renkött</i> (1.4) <i>Wiltshire bacon</i> και <i>Wiltshire ham</i> (1.1) <i>Entrecosta, entrecosto, chispe, orelheira e cabeça (salgados), toucinho fumado</i> (1.2) και παρόμοια προϊόντα <i>Wiltshire ham</i> (1.1) και παρόμοια προϊόντα <i>Rohschinken nassgepökelt</i> (1.6) και παρόμοια προϊόντα <i>Cured tongue</i> (1.3) Παραδοσιακά προϊόντα κρέατος διατηρημένα με ξηρές μεθόδους (2): <i>Dry cured bacon</i> (2.1) και παρόμοια προϊόντα <i>Dry cured ham</i> (2.1) <i>Jamón curado, paleta curada, lomo embuchado y cecina</i> (2.2) <i>Presunto, presunto da pá και paio do lombo</i> (2.3) και παρόμοια προϊόντα <i>Rohschinken trocken-gepökelt</i> (2.5) και παρόμοια προϊόντα	175 mg/kg	300 mg/kg	250 mg/kg	250 mg/kg χωρίς προσθήκη E 249 ή E 250	10 mg/kg	250 mg/kg
		Άλλα προϊόντα κρέατος διατηρημένα με παραδοσιακές μεθόδους (3): <i>Vysočina Selský salám</i> <i>Turistický trvanlivý salám</i> <i>Poličan</i> <i>Herkaules</i> <i>Lovecký salám</i> <i>Dunajská klobása</i> <i>Paprikás</i> (3.5) και παρόμοια προϊόντα <i>Rohschinken, trocken-/nassgepökelt</i> (3.1) και παρόμοια προϊόντα <i>Jellied veal and brisket</i> (3.2)	180 mg/kg	50 mg/kg			Άλλα προϊόντα κρέατος διατηρημένα με παραδοσιακές μεθόδους (3): <i>Rohwürste (Salami και Kantwurst)</i> (3.3) <i>Rohschinken, trocken-/nassgepökelt</i> (3.1) και παρόμοια προϊόντα <i>Salchichón y chorizo tradicionales de larga curación</i> (3.4) <i>Sauissons secs</i> (3.6) και παρόμοια προϊόντα <i>Jellied veal and brisket</i> (3.2)	300 mg/kg (χωρίς προσθήκη E 249 ή E 250)	250 mg/kg	250 mg/kg (χωρίς προσθήκη E 249 ή E 250)	10 mg/kg		



Ο ρόλος $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ στον ανθρώπινο οργανισμό

C.G. Kevil et al. / *Free Radical Biology & Medicine* 51 (2011) 576–593

579

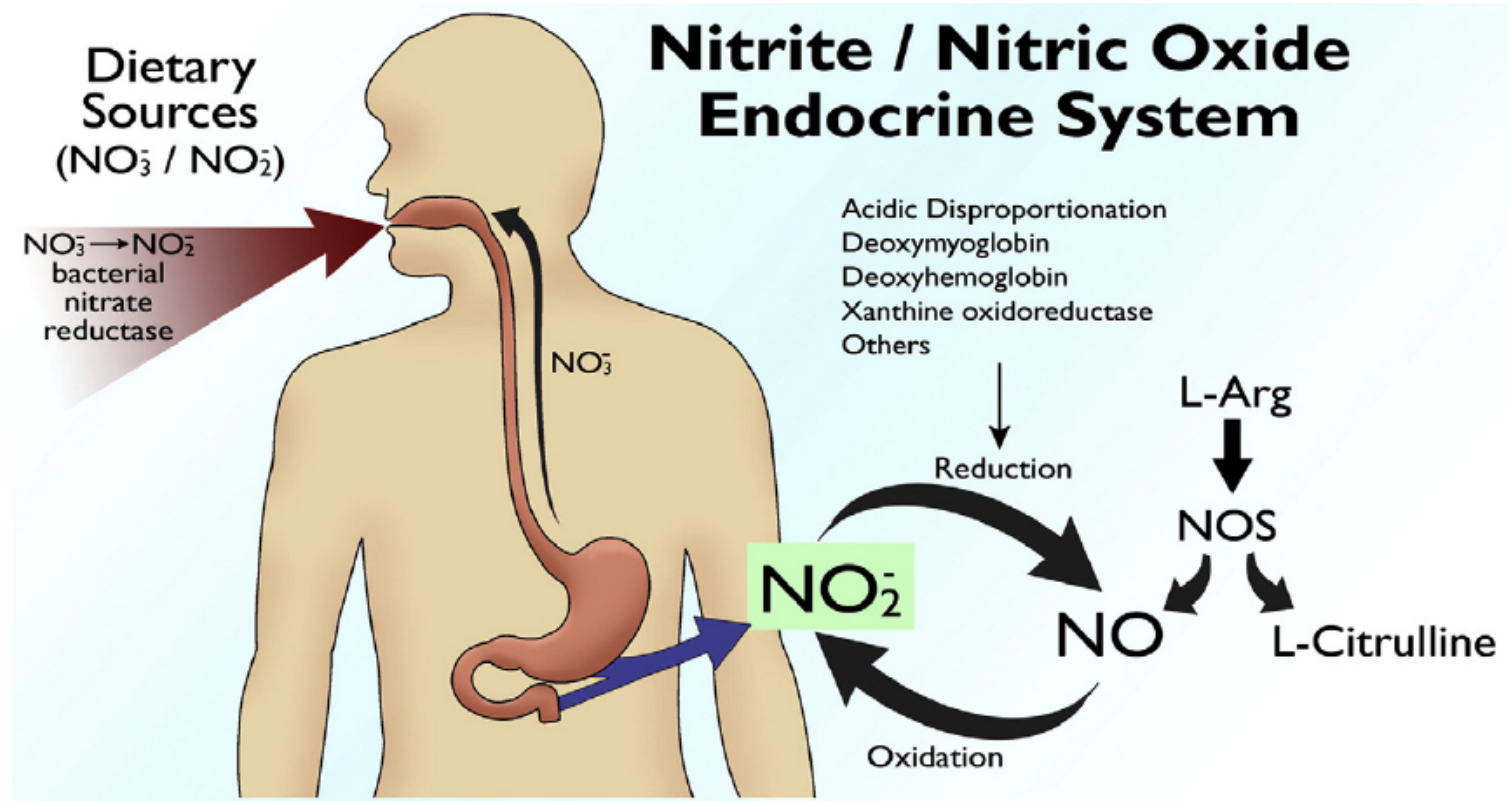


Fig. 2. The nitrite/NO endocrine system. NO bioavailability can be augmented through dietary consumption of nitrate/nitrite leading to salivary nitrate secretion and reduction to nitrite by commensal bacteria. Nitrite can also be reduced to NO by various cellular mechanisms associated with decreased oxygen tension or tissue stress.

Θεραπευτικός ρόλος NO_2^-

582

C.G. Kevil et al. / Free Radical Biology & Medicine 51 (2011) 576–593

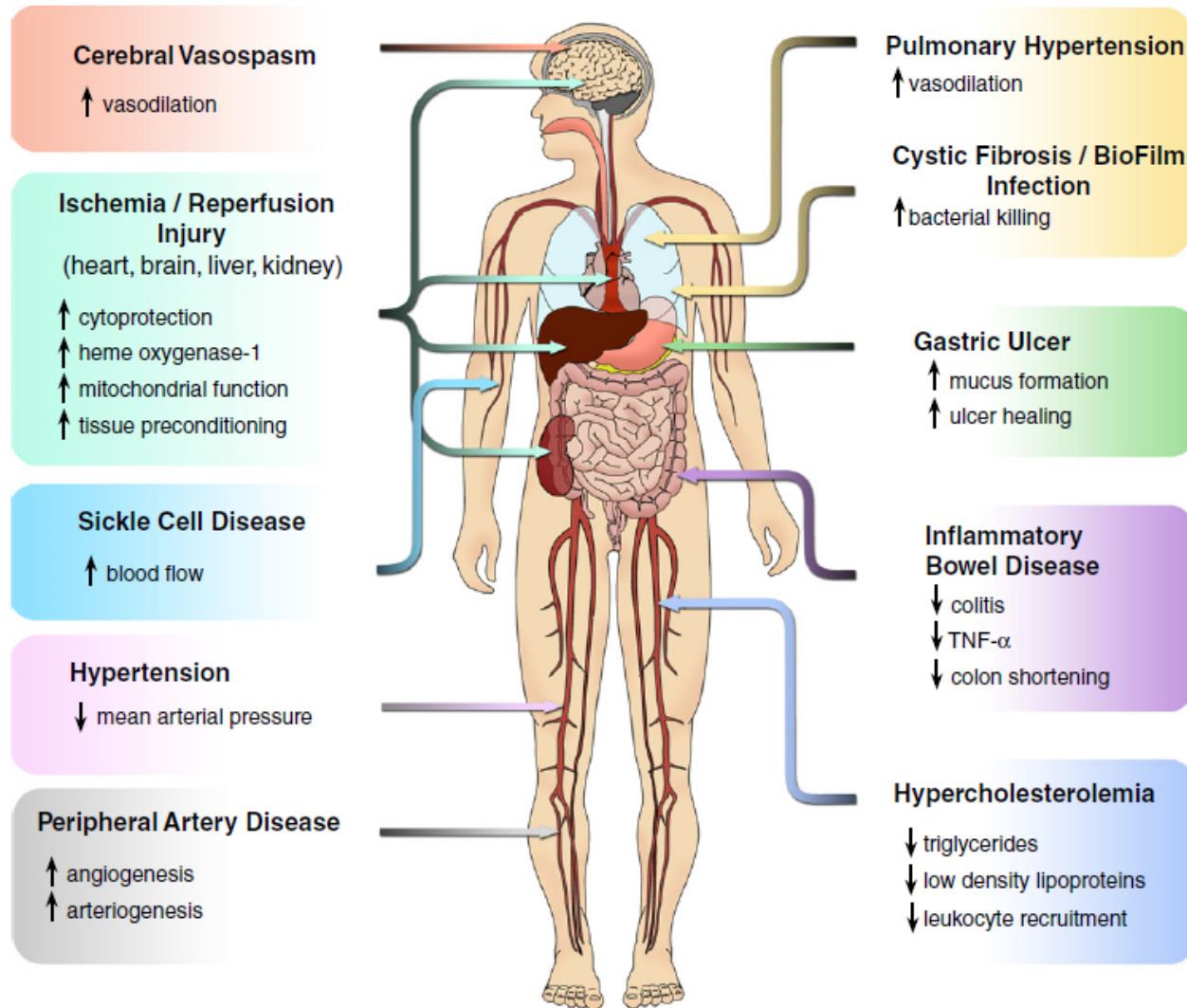
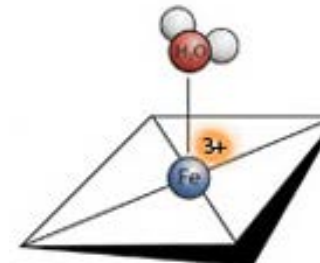
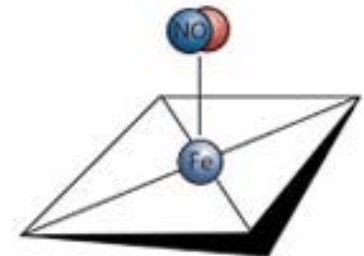
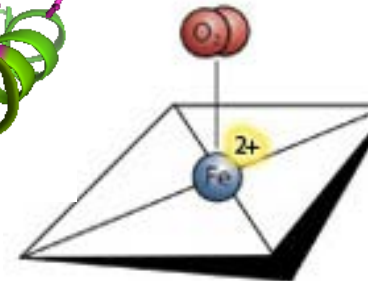
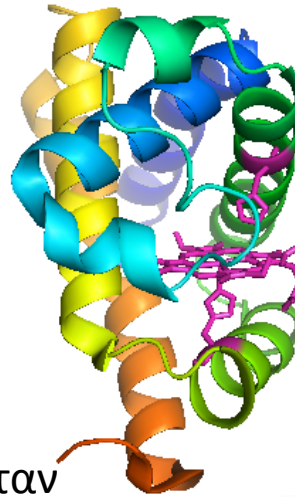


Fig. 3. Therapeutic potential of inorganic nitrite. The various pathophysiological conditions for which nitrite therapy has been reported to be beneficial under either experimental or clinical conditions are illustrated. Major effects of nitrite therapy are indicated for each condition.

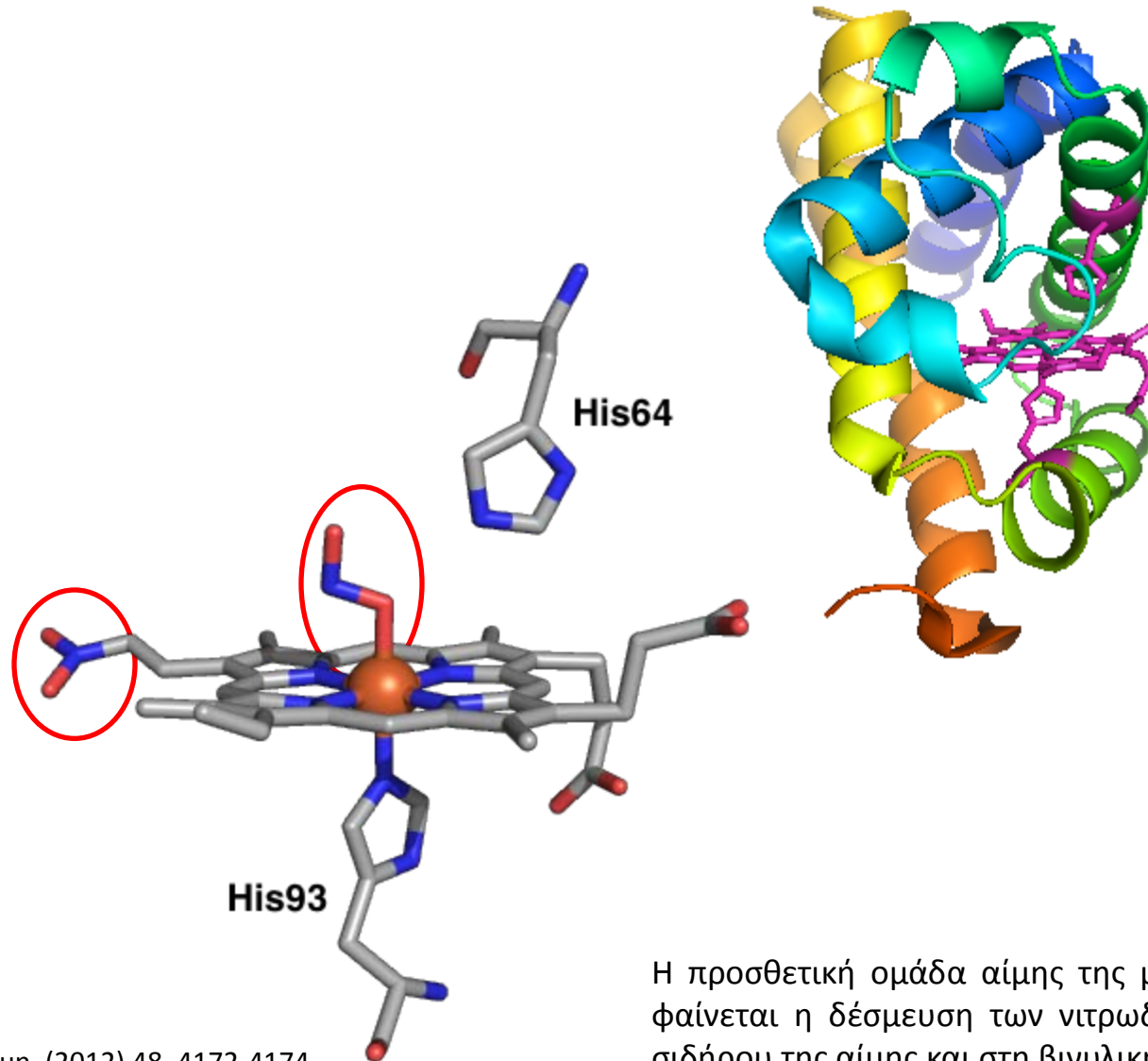
Γιατί πολλά επεξεργασμένα προϊόντα κρέατος έχουν ροζ χρώμα;

- Πρωτεΐνες που περιέχονται στο κρέας συνεισφέρουν σημαντικά στο χρώμα-μυοσφαιρίνη.
- Η μυοσφαιρίνη είναι η αποθήκη οξυγόνου στους μύς.
- Το κρέας έχει έντονο κόκκινο χρώμα όταν η μυοσφαιρίνη δεσμεύει O_2 .
- Σταδιακή οξείδωση ($Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$) οδηγεί στην εμφάνιση καστανοκόκκινου χρώματος.
- Στα προϊόντα που έχει γίνει προσθήκη NO_2^- και NO_3^- , αυτά ανάγονται προς NO , το οποίο δεσμεύεται στην αίμη της μυοσφαιρίνης (Fe^{2+}/Fe^{3+}) με το σύμπλοκο να έχει χαρακτηριστικό ροζ χρώμα.



Τι είναι η πράσινη χρωστική στο παστό κρέας;

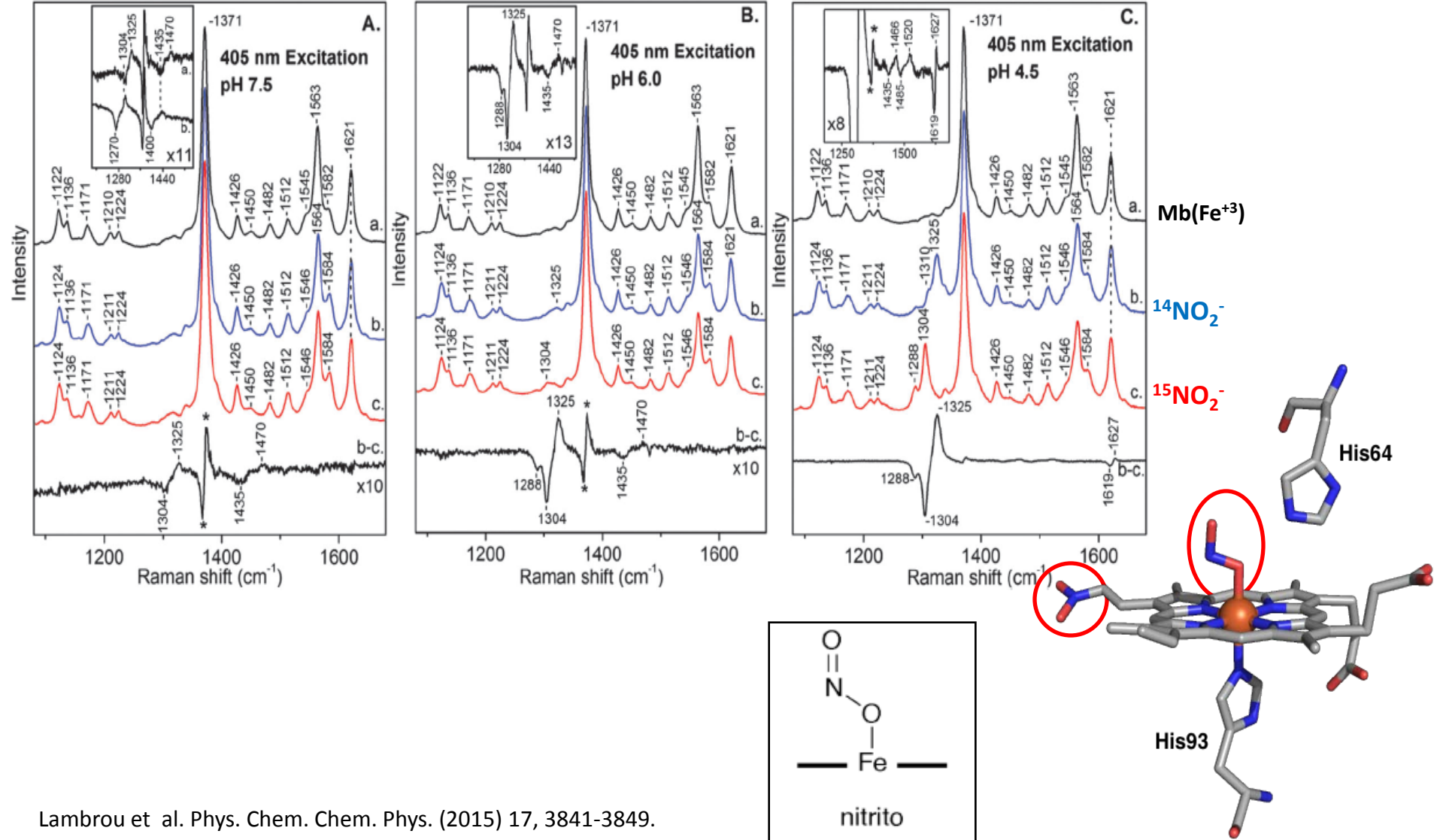
Η τρισδιάστατη δομή της μυοσφαιρίνης



Η προσθετική ομάδα αίμης της μυοσφαιρίνης - φαίνεται η δέσμευση των νιτρικών στο άτομο σιδήρου της αίμης και στη βινυλική ομάδα.

Σε ποιες συνθήκες ευνοείται ο σχηματισμός της πράσινης χρωστικής στη μυοσφαιρίνη

Μελέτη της αντίδρασης μεταμυοσφαιρίνης (Fe^{3+})– NO_2^- με φασματοσκοπία συντονισμού Raman



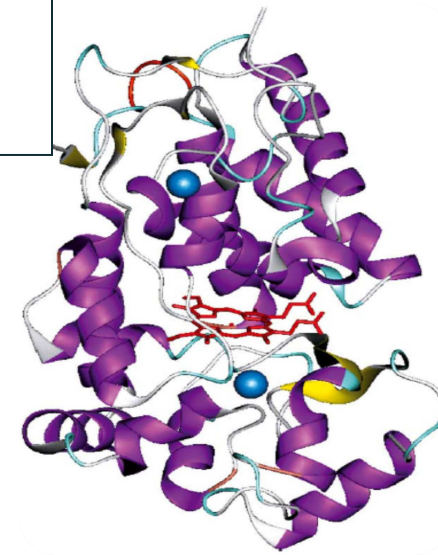
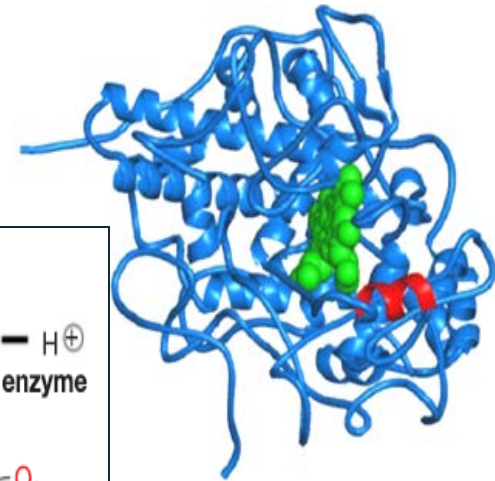
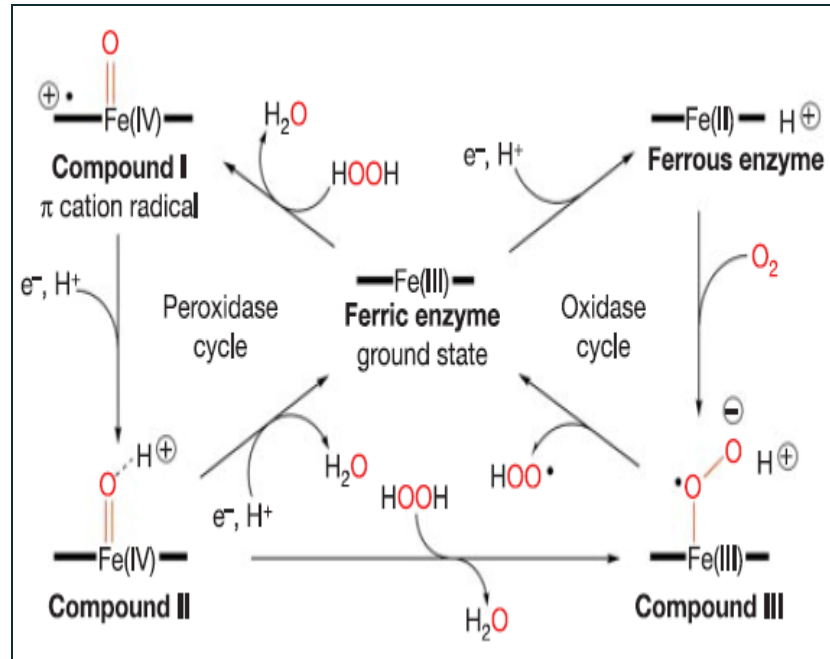
Υπεροξειδάσες LPO και HRP- Αντιδράσεις με NO_2^-

Η LPO είναι ένζυμο των θηλαστικών, βρίσκεται σε εξωκρινή υγρά όπως είναι το σάλιο και το γάλα.

Η βιολογική της λειτουργία έγκειται στην εμπλοκή της στο φυσικό σύστημα άμυνας των οργανισμών κατά των μικροοργανισμών.

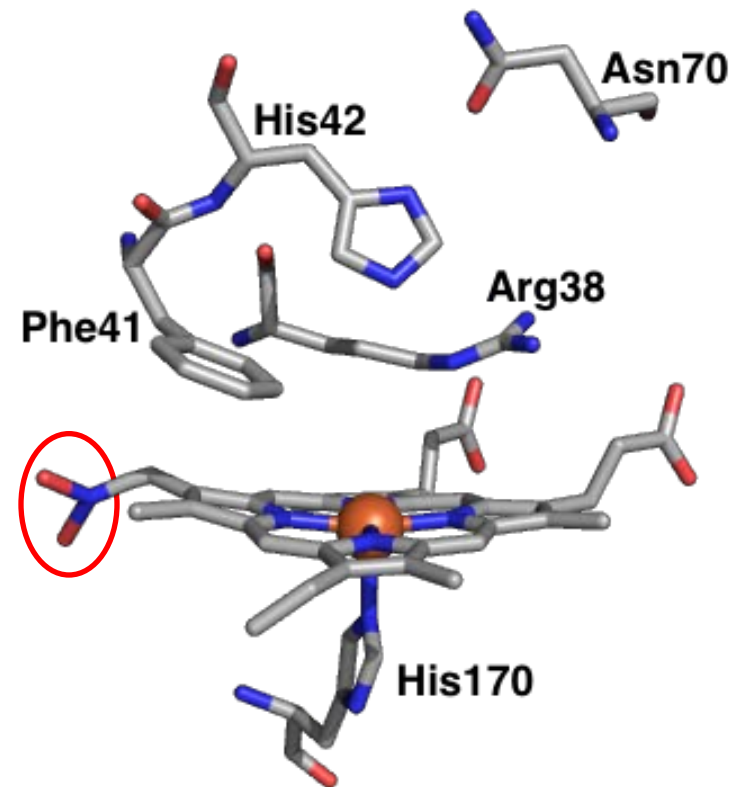
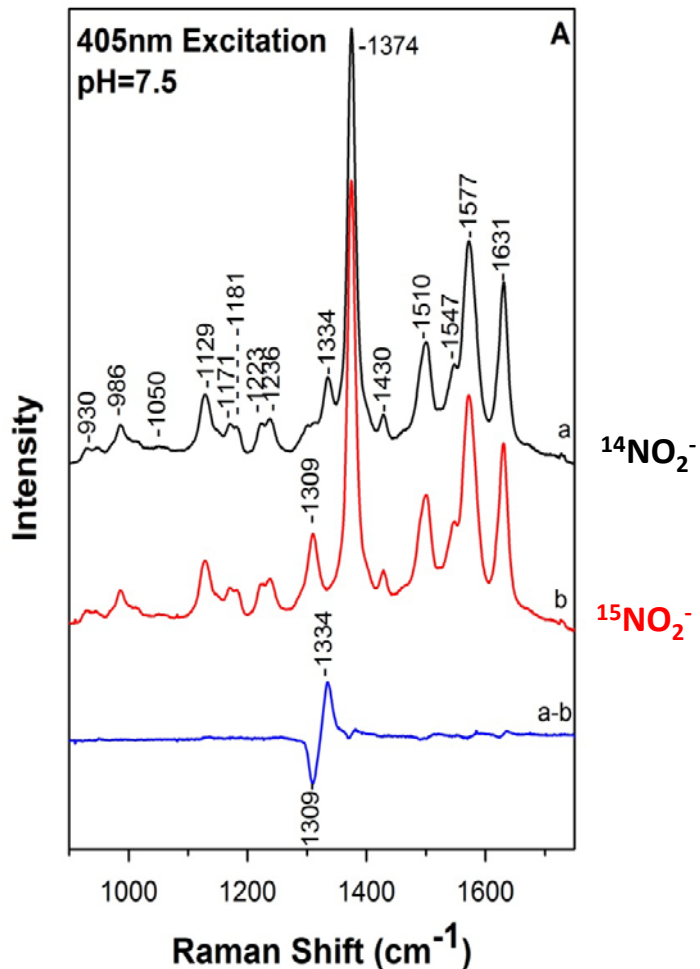
Στο γάλα αποτελεί ένα από τους ενδογενείς αντιμικροβιακούς παράγοντες.

Η horseradish υπεροξειδάση αποτελεί μία από τις χαρακτηριστικότερες εκπροσώπους των υπεροξειδασών των φυτών.



HRP- Αντιδράσεις με NO_2^-

Μελέτη της αντίδρασης HRP – NO_2^- με φασματοσκοπία συντονισμού Raman



Ερευνητική Ομάδα Βιοφυσικής & Βιοαναλυτικής Χημείας

- Άντρη Ιωάννου (PhD φοιτήτρια)
- Δρ Ανδρέας Λουλλής (PhD 2015)
- Αλεξάνδρα Λάμπρου (MSc 2015)

ACKNOWLEDGEMENT

❖ **European Regional Development Fund and the Republic of Cyprus through the Cyprus Research Promotion Foundation**

