

Količina nitrita i nitrata u mesnim proizvodima s hrvatskog tržišta

Kovačević, D.¹, K. Mastanjević^{1*}, K. Ćosić¹, J. Pleadin²

Originalni znanstveni rad

SAŽETAK

Aditivi (konzervansi) nitriti i nitrati imaju široku primjenu u mesnoj industriji jer poboljšavaju kvalitetu, trajnost i sigurnost proizvoda, posebice zbog inhibicije rasta i razmnožavanja bakterija *Staphylococcus aureus* i *Clostridium botulinum*. Zbog štetnog djelovanja nitrita na zdravlje ljudi te dokazanog kancerogenog djelovanja nitrozamina, upotreba nitrita u mesnoj industriji nastoji se smanjiti. U ovom istraživanju su, pomoću enzimске spektrofotometrijske metode, tijekom razdoblja od 4 godine (2011. – 2014.), u mesnih proizvodima prikupljenim na hrvatskom tržištu, određene razine nitrata i nitrita te su dobivene vrijednosti uspoređene s najvećim dopuštenim količinama (NDK) definiranim Pravilnikom o izmjenama i dopunama pravilnika o prehranbenim aditivima (N.N. br. 79/2012), odnosno Uredbom Komisije EU br. 1129/2011. Ukupno je analizirano 448 uzoraka trajnih i termički obrađenih kobasica ($n = 410$) te polutrajnih i trajnih mesnih proizvoda ($n = 38$) koji su proizvedeni u hrvatskim mesnim industrijama. Prosječna količina natrijevog nitrata u trajnim kobasicama i trajnim mesnim proizvodima iznosila je 130 ± 72 mg kg⁻¹ i 64 ± 43 mg kg⁻¹. Količina natrijevog nitrita u mesnim proizvodima iznosila je 7 ± 4 mg kg⁻¹ (trajne kobasice), 24 ± 16 mg kg⁻¹ (toplinski obrađene kobasice), 37 ± 23 mg kg⁻¹ (trajni suhomesnati proizvodi) te 42 ± 21 mg kg⁻¹ (polutrajni suhomesnati proizvodi). Pojedini mesni proizvodi unutar svake skupine pokazali su statistički značajne razlike ($p < 0,05$) po proizvodnoj grupi. U usporedbi s najvećim dopuštenim količinama, količine nitrata i nitrita bile su veće kod dvije termički obrađene kobasice (109 mg kg⁻¹ i 115 mg kg⁻¹) i jedne trajne kobasice (315 mg kg⁻¹). Rezultati istraživanja pokazuju potrebu za kontinuiranim praćenjem količina nitrata i nitrita u gotovim proizvodima na tržištu, istraživanjem uvjeta koji pogoduju formiranju nitrozamina te primjeni tehnoloških procesa koji bi smanjili upotrebu ovih aditiva u mesnoj industriji.

Ključne riječi: nitriti, nitrati, najviša dopuštena količina, mesni proizvodi, hrvatsko tržište

UVOD

Prema Zakonu o prehranbenim aditivima, aromama i prehranbenim enzimima (N.N. br. 39/13), a sukladno prilogu I. Uredbe 1333/2008 Europskog parlamenta i Vijeća od 16. prosinca 2008. godine o prehranbenim aditivima (SL L 354, 31. 12. 2008.), od 26 kategorija aditiva, nitrati i nitriti pripadaju skupini konzervansa, odnosno aditiva koji sprječavaju infekcije, intoksikacije i kvarenje mesnih proizvoda te povećavaju njihovu trajnost (Cammack i sur., 1999.) Također, nitrati i nitriti utječu na promjenu boje, mirisa, okusa i teksture mesnih proizvoda te zahvaljujući antioksidativnom djelovanju doprinose sprječavanju užeglosti (Marco i sur., 2006.; Sebranek i sur., 2007.).

U mesnoj industriji, kao sastavni dio salamure, najčešće se koriste natrijev nitrit (E250) i kalijev nitrit (E249), odnosno natrijev nitrat (E251) i kalijev nitrat (E252) (Tolđrá, 2010.). Nitrati, za razliku od nitrita, nemaju antimikrobno djelovanje, ali se djelovanjem denitrificirajućih bakterija, osobito iz roda *Micrococcus* reduciraju pomoću enzima nitrat-reduktaze u nitrite te na taj način služe kao izvor nitrita, čija se koncentracija, a time i antimikrobni učinak, tijekom procesiranja znatno smanjuje, čemu dodatno doprinose viša pH vrijednosti, redukcijsko djelovanje askorbinske kiseline, termička obrada te dugotrajno zrenje ili skladištenje (Tompkin, 2005.). Nitrati, ukoliko nisu dodani ili potječu iz vode i začina, mogu se detektirati samo u onim mesnim proizvodima

¹ Dr. sc. Dragan Kovačević, redoviti profesor, Dr. sc. Krešimir Mastanjević, docent, Katarina Ćosić, student, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Zavod za prehrambene tehnologije, Kuhačeva 20, 31 000 Osijek;

² Dr. sc. Jelka Pleadin, znanstveni savjetnik, Hrvatski veterinarski institut, Laboratorij za analitičku kemiju, Savska cesta 143, 10 000 Zagreb

Autor za korespondenciju: pleadin@veinst.hr

u kojima su prethodno dodani nitriti. Naime, do 20% dodanih nitrita oksidira u nitrate dva sata nakon procesiranja, a oksidacija se nastavlja tijekom zrenja (kod trajnih fermentiranih mesnih proizvoda) ili skladištenja. Istraživanja su pokazala da pri ubrzanom fermentacijama u industrijskoj proizvodnji (bakterijske starter kulture, šećeri i povišene temperature fermentacije) ukupno oko 50% dodanih nitrita prelazi u nitrate (Pavlinić Prokurica i sur., 2010.). Nitriti i nitriti se u mesne proizvode unose putem soli za salamurenje ($\text{NaCl} + 3\% \text{NaNO}_3$ ili KNO_3), nitritne soli za salamurenje ($\text{NaCl} + 0,5 - 0,6\%$ nitrita izraženih kao NaNO_2) ili nitritne soli za salamurenje s 1% salitre ($\text{NaCl} + 0,5 - 0,6\%$ nitrita izraženih kao $\text{NaNO}_2 + 0,9 - 1,2\%$ salitre izražene kao NaNO_3) (Kovačević, 2001.; Kovačević 2014.).

Iako je nitrit jedini poznati konzervans koji inhibira rast spora patogene bakterije *Clostridium botulinum* te stvaranje neurotoksina botulinuma, zbog štetnog djelovanja nitrita na ljudsko zdravlje, posebice kancerogenog djelovanja N-nitrozamina, najveće dopuštene količine u mesnim proizvodima propisima su ograničene, a već 1995. godine EFSA-in Odbor za prehrambene aditive i nutritivne dodane hrani (engl.: Food Additives and Nutrient Sources added to Food) dao je preporuku za primjenu odgovarajuće tehnološke prakse kako bi se razina nitrita i nitrita smanjila na najmanju moguću razinu, ujedno rezultirajući djelotvornim konzerviranjem i mikrobiološkom sigurnošću hrane (SCF, 1995). Znanstveni odbor za hranu (engl.: Scientific Committee of Food (SCF)) utvrdio je 1990. godine prihvatljiv dnevni unos (ADI) za nitrate do 3,7 mg kg^{-1} tjelesne mase čovjeka (izraženo kao nitratni ion), a ADI za nitrite do 0,07 mg kg^{-1} (izraženo kao nitritni ion). Službenim mišljenjem Znanstvenog odbora Hrvatske agencije za hranu (HAH, 2014.) donesenim na temelju rezultata istraživačkog projekta: „Analiza i procjena sigurnosti prehrambenih aditiva (2010. – 2012.)“, aditivi natrijev i kalijev nitrit (E250 i E249) svrstani su u najrizičniju 3. sigurnosnu skupinu te je utvrđeno da njihov procijenjeni dnevni unos (engl.: Estimated Daily Intake; EDI) teorijski višestruko prelazi prihvatljiv dnevni unos (ADI), što upućuje na potrebu kontinuiranog praćenja unosa nitrita u ljudski organizam.

U ovom radu, u uzorcima mesnih proizvoda prikupljenih na hrvatskom tržištu, određene su količine nitrata i nitrita te su dobivene vrijednosti uspoređene s najvećim dopuštenim količinama (NDK) definiranim Pravilnikom o izmjenama i dopunama pravilnika o prehrambenim aditivima (N.N. br. 79/2012), odnosno Uredbom Komisije EU br. 1129/2011.

MATERIJALI I METODE

Od 2011. do 2014. godine na hrvatskom tržištu prikupljeno je ukupno 448 uzoraka gotovih mesnih proizvoda

podrijetlom iz više hrvatskih mesnih industrija. Uzorci, prema sistematizaciji propisanoj Pravilnikom o mesnim proizvodima (N.N. br. 131/12), pripadaju u 5 kategorija: kobasice (trajne kobasice ($n = 120$) i toplinski obrađene kobasice ($n = 300$)), suhomesnati proizvodi (trajni suhomesnati proizvodi ($n = 10$) i polutrajni suhomesnati proizvodi ($n = 18$)). Uzorci su pripremljeni za analizu u skladu s normom ISO 3100-1:1991. Homogenizirani su pri brzini od 5000-6000 rpm tijekom 15-20 s, pomoću homogenizatora Grindomix GM 200 (Retch, Njemačka), pohranjeni u plastične posudice na 4 °C te analizirani na količinu nitrita i nitrata u roku od 24 sata..

Određivanje nitrita

Određivanje nitrita provedeno je po standardnoj metodi HRN EN 12014-3:2007. Odvagano je 5 g uzorka, dodano 50 mL vruće vode i ostavljeno 15 min na tresilici. Podešena je pH vrijednost na 8,0 – 8,5 sa 1M natrijevim hidroksidom. Sadržaj tikvice je zagrijavan u vodenoj kupelji na 100 °C tijekom 15 min uz protresanje. Potom, sadržaj je ohlađen na sobnu temperaturu i kvantitativno prebačen u odmjernu tikvicu od 100 mL. Dodano je po 2 mL otopina Carrez br. 1 i Carrez br. 2 uz miješanje nakon svakog dodavanja. Sadržaj tikvice je dopunjen vodom do oznake, izmućkan i filtriran preko nabranog filter papira (crna vrpca). Bistri filtrat korišten je za određivanje nitrita. Princip metode temelji se na tome da se nitriti u vodenom ekstraktu analiziranog uzorka tretiraju sa sulfanilamidom i N-(1-naftil)-etilendiaminom dihidrokloridom. Nakon izrade baždarnog krivulje i provedbe svih analitičkih koraka opisanih u normi, apsorbancija crvenog obojanog spoja izmjerena je spektrofotometrijski na 540 nm (DR/4000U, Hach, Njemačka). Sadržaja nitrita preračunat je na sadržaj natrijevog nitrita.

Određivanje nitrata

Određivanje natrijevog nitrata provedeno je pomoću validirane metode uz korištenje enzimatskog kita (Nitrate, Enzymatic BioAnalysis, UV-Test, R-Biopharm-Rochel). U 5 g uzorka dodano je 50 mL kipuće vode te kuhano 15 min u vodenoj kupelji. Sadržaj tikvice je ohlađen te je dodano po 3 mL otopina Carrez 1 i Carrez 2, uz podešavanje pH vrijednosti na 8,0 sa 1 M natrijevim hidroksidom. Sadržaj je kvantitativno prebačen u odmjernu tikvicu od 100 mL, dopunjen redestiliranom vodom do oznake te ostavljen u hladnjaku zbog odjeljivanja masti tijekom 20 min. Nakon filtracije bistri filtrat se koristi za određivanje nitrata. Priprema slijepe probe i otopine uzoraka te razvijanje boje provedeno je potpuno u skladu s uputama proizvođača kita. Apsorbancije su očitane pri valnoj duljini od 340 nm (DR/4000U, Hach, Njemačka), a sadržaja nitrata preračunat je na sadržaj natrijevog nitrata.

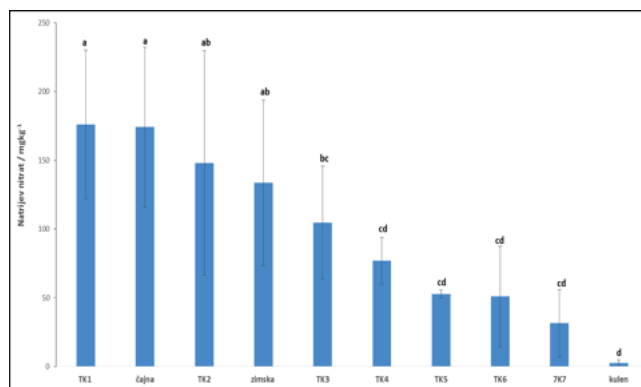
Statistička obrada podataka

Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost ponavljanja ± standardna devijacija. Analiza varijance (one-way ANOVA) i potom Fischer-ov LSD test najmanje značajne razlike (engl. least significant difference) provedeni su upotrebom programa Statistica 12.7 (StatSoft Inc. Tulsa, 2015., OK, SAD), a statistički značajne razlike izražene su na razini vjerojatnosti od 95% ($p < 0,05$).

REZULTATI I RASPRAVA

U Tablici 1. prikazane su koncentracije Na-nitrata i Na-nitrita određene u 448 mesnih proizvoda s hrvatskog tržišta, raspoređene po skupinama prema Pravilniku o mesnim proizvodima (N.N. 131/12). Naviše koncentracije Na-nitrata određene su u uzorcima trajnih kobasica (srednja vrijednost = 130 mg kg⁻¹), dok su nešto niže vrijednosti koncentracija Na-nitrata utvrđene u trajnim suhomesnatim proizvodima (srednja vrijednost = 64 mg kg⁻¹). Svi su uzroci trajnih suhomesnatih proizvoda imali manju količinu Na-nitrata od zakonski propisane (NDK = 250 mg kg⁻¹). U skupini trajnih kobasica samo je jedan uzorak imao veću količinu od NDK (Tablica 1). Količine Na-nitrata dobivene u ovom istraživanju puno su veće u odnosu na podatke za suhe šunke (17 mg kg⁻¹) i trajne kobasice (59 mg kg⁻¹) s njemačkog tržišta (Honikel, 2010.). Visoke količine Na-nitrata u trajnim kobasicama i trajnim suhomesnatim proizvodima posljedica su dodatka nitrata u obliku soli za salamurenje i oksidacije dodanih nitrita u nitrate tijekom fermentacije i sušenja (Honikel, 2010.).

Na Slici 1. prikazane su količine Na-nitrata u vrstama trajnih kobasica s hrvatskog tržišta. Najveće vrijednosti utvrđene su u uzorcima trajne kobasice 5 i čajne (176 i 174 mg kg⁻¹), dok su najniže količine sadržavali uzorci kulena (2,4 mg kg⁻¹). Analiza varijance pokazala je statistički značajne razlike u količinama Na-nitrata ($p < 0,05$)



Slika 1. Količine Na-nitrata u trajnim kobasicama s hrvatskog tržišta (TK1 – trajna kobasica 1, TK2 – trajna kobasica 2, TK3 – trajna kobasica 3, TK4 – trajna kobasica 4, TK5 – trajna kobasica 5, TK6 – trajna kobasica 6, TK7 – trajna kobasica 7; vrijednosti označene s različitim slovima (a – d) su statistički značajne ($p < 0,05$), trake pogrešaka predstavljaju standardnu devijaciju).

Figure 1 Content of sodium nitrates in dry-fermented sausages from the Croatian market (TK1 - dry-fermented sausage 1, TK2 - dry-fermented sausage 2, TK3 - dry-fermented sausage 3, TK4 - dry-fermented sausage 4, TK5 - dry-fermented sausage 5, TK6 - dry-fermented sausage 6, TK7 - dry-fermented sausage 7; values marked using different letters (a - d) are statistically significant ($p < 0.05$); strips of errors represent standard deviation).

između različitih skupina trajnih kobasica. Također, rezultati Na-nitrata za svaku vrstu trajnih kobasica, osim za uzorke trajne kobasice 7 i kulena, pokazale su visoke vrijednosti standardne devijacije (Slika 1) što upućuje na velike razlike u recepturama proizvođača (maseni udio dodanog Na-nitrata i Na-nitrita, dodatak šećera i starter kultura) i tehnološkim parametrima proizvodnje. Zbog toga se u mesnoj industriji za proizvodnju sporofermentiranih kobasica koriste nitrat (prvo se prevode u nitrite),

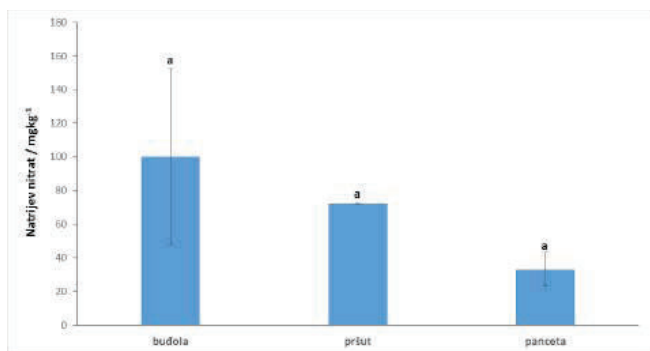
Tablica 1.: Količine natrijevog nitrata i nitrita u mesnim proizvodima s hrvatskog tržišta

Table 1: Amount of nitrites and nitrates in meat products from the Croatian market

	Broj uzoraka / Number of samples	Srednja vrijednost / Mean value	Standardna devijacija / Standard deviation	Najviša dopuštena količina (NDK) / Maximum permitted level (MPL)	Najviša vrijednost / Highest value	Najniža vrijednost / Lowest value
Natrijev nitrat (mg kg⁻¹) / Sodium nitrate (mg kg⁻¹)						
Trajne kobasice / Dry-fermented sausages	72	130	72	250	315	4
Trajni suhomesnati proizvodi / Dry-cured meat products	8	64	43	250	111	25
Natrijev nitrit (mg kg⁻¹) / Sodium nitrite (mg kg⁻¹)						
Trajne kobasice / Dry-fermented sausages	48	7	4	50	21	4
Toplinski obrađene kobasice / Heat-treated sausages	300	42	21	100	115	8
Trajni suhomesnati proizvodi / Dry-cured meat products	2	37	23	50	53	21
Polutrajni suhomesnati proizvodi / Semi-dry-cured meat products	18	24	16	100	59	5

a za proizvodnju brzofermentiranih nitriti (djelovanje počinje odmah) (Vuković, 2012).

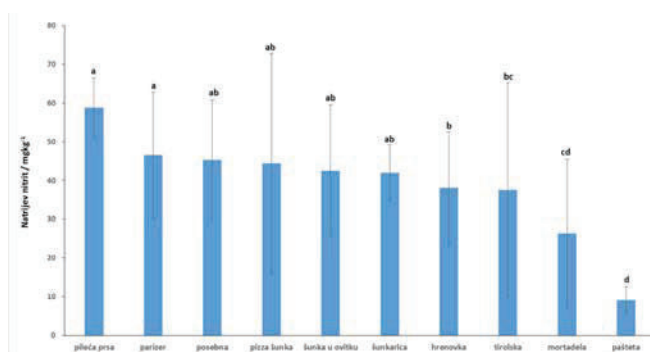
Količine Na-nitrata u vrstama trajnih suhomesnatih proizvoda (buđole, pršuta i panceta) prikazane su na Slici 2. Unutar vrsta trajnih suhomesnatih proizvoda nisu utvrđene statistički značajne razlike ($p > 0,05$). Najveće količine Na-nitrata utvrđene su uzorcima buđole, a najmanje u uzorcima pancete.



Slika 2. Količine Na-nitrata u trajnim suhomesnatim proizvodima s hrvatskog tržišta (vrijednosti označene istim slovom (a) nisu statistički značajne ($p > 0,05$)).

Figure 2 Content of sodium nitrates in dry-cured meat products from the Croatian market (values marked using the same letter (a) are not statistically significant ($p > 0.05$)).

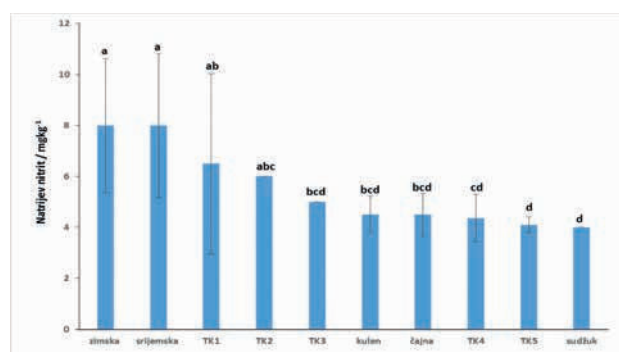
Na Slikama 3 - 6 prikazane su količine Na-nitrita po pojedinim vrstama trajnih i toplinski obrađenih kobasica te pojedinim vrstama polutrajnih suhomesnatih mesnih proizvoda.



Slika 3. Količine Na-nitrita u uzorcima toplinski obrađenih kobasica s hrvatskog tržišta (vrijednosti označene s različitim slovima (a – d) su statistički značajne ($p < 0,05$), trake pogrešaka predstavljaju standardnu devijaciju).

Figure 3 Content of sodium nitrites in samples of heat-treated sausages from the Croatian market (values marked using different letters (a - d) are statistically significant ($p < 0.05$); strips of errors represent standard deviation).

Količine Na-nitrita u trajnim kobasicama bile su male (srednja vrijednost = 7 mg kg⁻¹), u polutrajnim i trajnim suhomesnatim proizvodima nešto veće (srednja vrijednost = 24 i 37 mg kg⁻¹), a najveće količine Na-nitrita imale su toplinski obrađene kobasice (srednja vrijednost = 42 mg kg⁻¹) (Tablica 1). U skupini toplinski obrađenih kobasica najveće količine Na-nitrita imali su uzorci pilećih prsa (58,75 mg kg⁻¹), a najmanje razine su određene u uzorcima pašteta (9,2 mg kg⁻¹). Najveće razine Na-nitrita u skupini trajnih kobasica imali su uzorci zimске i srijemske (8 mg kg⁻¹). Usporedimo li dobivene rezultate s literaturnim podacima (Honikel, 2010.), možemo primijetiti da su količine Na-nitrita u trajnim kobasicama bile manje, a u polutrajnim i trajnim suhomesnatim proizvodima i toplinskim obrađenim kobasicama veće u odnosu na mesne proizvode s njemačkog tržišta. Pleadin i sur. 2009, objavili su slične vrijednosti Na-nitrita (44,83 mg kg⁻¹) u termički obrađenim kobasicama te nešto niže vrijednosti količine Na-nitrita (9,8 mg kg⁻¹) u trajnim suhomesnatim proizvodima s hrvatskog tržišta. Također, razina Na-nitrita u trajnim kobasicama bila je manja od utvrđenih vrijednosti u španjolskoj trajnoj kobasici „salchichon“ (Fernandez-Lopez i sur., 2008.). Samo su dva uzorka (od 300) toplinski obrađenih kobasica imala veću količinu Na-nitrita od zakonski dopuštene (100 mg kg⁻¹). Od ispitivanih trajnih suhomesnatih proizvoda jedan uzorak je imao veću količinu Na-nitrata od zakonski propisane (Tablica 1.). Manje vrijednosti Na-nitrita u toplinskim obrađenim kobasicama i polutrajnim mesnim proizvodima posljedica su termičke obrade. Istraživanja su pokazala da se količina dodanog nitrita smanjuje na 30% od dodane vrijednosti nakon termičke obrade na 80 oC (Honikel, 2010.).

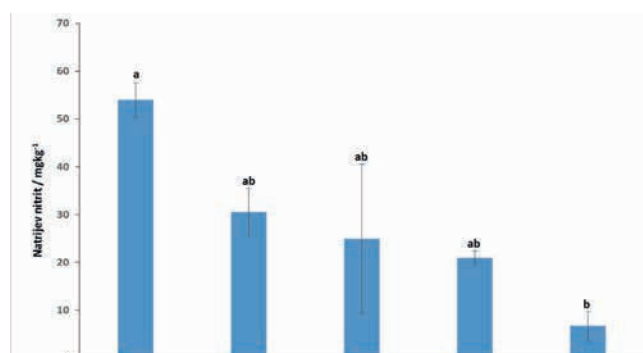


Slika 4. Količine Na-nitrita u uzorcima trajnih kobasica s hrvatskog tržišta (TK1 – trajna kobasica 1, TK2 – trajna kobasica 2, TK3 – trajna kobasica 3, TK4 – trajna kobasica 4, TK5 – trajna kobasica 5; vrijednosti označene različitim slovima (a - d) su statistički značajne ($p < 0,05$), trake pogrešaka predstavljaju standardnu devijaciju).

Figure 4 Content of sodium nitrites in samples of dry-fermented sausages from the Croatian market (TK1 - dry-fermented sausage 1, TK2 - dry-fermented sausage 2, TK3 - dry-fermented sausage 3, TK4 - dry-fermented

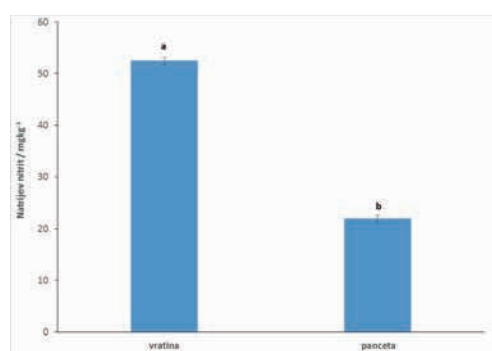
sausage 4, TK5 - dry-fermented sausage 5; values marked using different letters (a - d) are statistically significant ($p < 0.05$); strips of errors represent standard deviation).

Nadalje, količina nitrita u mesnim proizvodima u izravnoj je vezi s pH vrijednošću tako da će veće količine imati mesni proizvodi s nižom pH vrijednošću (Đorđević i sur., 1980.). Navedena tvrdnja može se povezati s dodatkom šećera i starter kultura u proizvodnji trajnih kobasica koji može rezultirati relativno visokim vrijednostima razine nitrita, a posljedično i nitrata u navedenim proizvodima.



Slika 5. Količine Na-nitrita u uzorcima polutrajnih mesnih proizvoda s hrvatskog tržišta (vrijednosti označene s različitim slovima (a – b) su statistički značajne ($p < 0,05$), trake pogrešaka predstavljaju standardnu devijaciju).

Figure 5 Content of sodium nitrites in samples of semi-dry cured meat products from the Croatian market (values marked using different letters (a - b) are statistically significant ($p < 0.05$); strips of errors represent standard deviation)).



Slika 6. Količine Na-nitrita u uzorcima trajnih mesnih proizvoda s hrvatskog tržišta (vrijednosti označene s različitim slovima (a - b) su statistički značajne ($p < 0,05$), trake pogrešaka predstavljaju standardnu devijaciju).

Figure 6 Content of sodium nitrites in samples of dry-cured meat products from the Croatian market (values marked using different letters (a - b) are statistically significant ($p < 0.05$); strips of errors represent standard deviation)).

ZAKLJUČAK

U velikoj većini analiziranih mesnih proizvoda s hrvatskog tržišta utvrđene su količine natrijevog nitrita i nitrata manje od NDK definiranim zakonodavstvom. U pojedinim uzorcima trajnih kobasica određene su količine natrijevog nitrata gotovo podjednake propisanim NDK te možemo konstatirati da se u proizvodnji pojedinih trajnih kobasica koriste značajne (granične) količine natrijevog nitrata i nitrita. Količine natrijevog nitrata određene u pojedinim toplinski obrađenim proizvodima, ukoliko je tijekom proizvodnje dodan samo natrijev nitrit, rezultat su oksidacije nitrita.

Zahvala:

Istraživanja prezentirana u ovom radu dijelom su financirana sredstvima Hrvatske agencije za hranu (HAH), u sklopu projekta: „Praćenje količine nitrata, nitrita i nitrozamina u mesnim proizvodima s hrvatskog tržišta te ispitivanje utjecaja natrijevog izoaskorbata (E316) na količinu rezidua nitrita u tradicionalnim fermentiranim (trajnim) kobasicama“.

LITERATURA

- Anonimno (2012):** Pravilnik o mesnim proizvodima NN 131/2012.
- Anonimno (2013):** Zakon o prehranbenim aditivima, aromama i prehranbenim enzimima (N.N. br. 39/13).
- Anonimno (2014):** Znanstveno mišljenje o prehranbenim aditivima, Hrvatska agencija za hranu, 2. travnja 2014. Osijek
- Bruce Tompkin, R. (2005.):** Nitrite. In: Antimicrobials in Food. P. Michael Davidson, John n. Sofos, A. L. Branen. Taylor and Francis group. 169-236.
- Cammack, R., C.L. Joannou, Xiao-Yuan Cui, Claudia Torres Martinez, Shaun R. Maraj, Martin N. Hughes (1999):** Nitrite and nitrosyl compounds in food preservation. Biochim. Biophys. Acta 1411, 475-488.
- Đorđević, V., B. Vuksan, P. Radetić, H. Đurđić, M. Mitković (1980):** Prilog ispitivanju uticaja pojedinih faktora na promene sadržaja nitrita u mesu. Tehnologija mesa 21(10) 287 – 290.
- EFSA (2003):** The effects of Nitrites/Nitrates on the Microbiological Safety of Meat Products. The EFSA Journal, Parma.
- EFSA (2010):** Statement on nitrites in meat product. EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food. EFSA Journal 2010; 8(5):1538.
- Fernandez-Lopez, J., E. Sendra, E. Sayas-Barbera, C. Navarro, J.A. Perez-Alvarez (2008):** Physico-chemical and microbiological profiles of “salchicho ‘n” (Spanish dry-fermented sausage) enriched with orange fiber. Meat Sci. 80, 410-417.
- Herrmann, S.S., Duedahl-Olesen, L., Granby, K. (2015):** Occurrence of volatile and non-volatile N-nitrosamines in processed meat products and the role of heat treatment National Food. Food Cont. 48, 163-169.
- Honikel, K. O. (2010):** Curing. In: F. Toldrá (Ed.), Handbook of Meat Processing Iowa, USA: Blackwell Publishing, 125-141
- Honikel, K. O. (2008):** The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. Meat Sci. 78, 68-76.
- IARC. (1998).** IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Some N-Nitroso compounds. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 17.
- Kovačević, D. (2001):** Kemija i tehnologija mesa i ribe. Sveučilišni udžbenik. Prehram-

beno-tehnološki fakultet Osijek. Osijek.

Kovačević, D. (2014): Tehnologija kulena i drugih fermentiranih kobasica. Sveučilišni udžbenik. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek. Osijek.

Kovačević D. (2014): Aditivi koji se koriste u industrijskoj proizvodnji fermentiranih kobasica. Meso. XVI (3) 208-210.

Marco, A., Navarro, J.L., Flores, M. (2006): The influence of nitrite and nitrate on microbial, chemical and sensory parameters of slow dry fermented sausage. Meat Sci. 73, 660-673.

Pavlinić Prokurica, I., Bevardi, M., Marušić, N., Vidaček, S., Kolarić Kravar, S., Medić, H. (2010.): Nitriti i nitriti kao prekursori N-nitrozamina u paštetama u konzervi. Meso. XII (6) 322-332.

Pleadin, J., Perši, N., Đugum, J. (2009.): Razine nitrita i polifosfata u proizvodima od mesa. Veterinarska stanica 40(6), 373-380.

Sebranek, G. J., N. J. Bacus (2007): Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite, what are the issues?. Meat Sci. 77, 136-147.

Toldrá F. (2010): Handbook of Meat Processing. Wiley-Blackwell. 2121 State Avenue, Ames, Iowa 50014-8300, USA.

Tompkin, R.B. (2005.): Nitrite. In: Antimicrobials in Food. P. Michael Davidson, John n. Sofos, A. L. Branan. Taylor and Francis group. 169-236.

Vossen, Doolaage, E.H. A., Demewez Moges, H., De Meulenaer, B., Szczepaniak, S., Raes, K., De Smet, S. (2012): Effect of sodium ascorbate dose on the shelf life stability of reduced nitrite liver pâtés. Meat Sci. 91, 629-35.

Vuković, K. I. (2012): Osnove tehnologije mesa. IV. izdanje. Veterinarska komora Srbije. Beograd.

Dostavljeno: 28.1.2016.

Prihvaćeno: 9.2.2016.

Amount of nitrites and nitrates in meat products from the Croatian market

SUMMARY

Nitrites and nitrates are food additives (preservatives) with wide application in the meat industry. They improve the quality, durability and safety of products, and, above all, inhibit the growth and reproduction of bacteria *Staphylococcus aureus* and *Clostridium botulinum*. There have been numerous attempts to reduce the use of nitrites in the meat industry due to their adverse effects on human health and proven carcinogenic effects of nitrosamines. The aim of this study was to determine varying levels of nitrates and nitrites in meat products sold on the Croatian market over a period of 4 years (2011 - 2014) by applying enzymatic colorimetric methods and comparing obtained results with maximum residue levels (MRLs) prescribed by the Ordinance on the Amendments to the Ordinance on Food Additives (Official Gazette No. 79/2012) and the Commission Regulation (EU) No. 1129/2011. A total of 448 samples of dry-cured and heat-treated sausages ($n = 410$), as well as semi-durable and durable meat products ($n = 38$) produced by Croatian meat industries, were analysed. The average amount of sodium nitrate in dry-cured sausages and durable meat products amounted to 130 ± 72 mg kg⁻¹ and 64 ± 43 mg kg⁻¹, respectively. The amount of sodium nitrite in different meat products amounted to 7 ± 4 mg kg⁻¹ (dry-cured sausages), 24 ± 16 mg kg⁻¹ (heat-treated sausages), 37 ± 23 mg kg⁻¹ (durable dry-cured meat products) and 42 ± 21 mg kg⁻¹ (semi-durable dry-cured meat products). Certain meat products within each group showed a statistically significant difference ($p < 0.05$) from their respective group of products. Compared to maximum residue levels, amounts of nitrates and nitrites were higher in two types of heat-treated sausages (109 mg kg⁻¹ and 115 mg kg⁻¹) and one type of dry-cured sausage (315 mg kg⁻¹). The research results reveal the need for continuous monitoring of nitrate and nitrite levels in finished products available on the market, additional research of conditions conducive to the formation of nitrosamines and wider application of technological processes that reduce the use of these additives in the meat industry.

Key words: nitrites, nitrates, maximum residue level, meat products, Croatian market

Nitrit - und Nitratmengen in Fleischerzeugnissen auf dem kroatischen Markt

ZUSAMMENFASSUNG

Zusatzstoffe (Konservierungsmittel) Nitrite und Nitrate finden breite Anwendung in der Fleischindustrie, denn sie verbessern Qualität, Haltbarkeit und gesundheitliche Eignung von Produkten insbesondere, weil sie die Wachstumshemmung und Bildung von Bakterien wie *Staphylococcus aureus* und *Clostridium botulinum* verhindern. Wegen schädlicher Auswirkungen von Nitriten auf die menschliche Gesundheit und wegen nachweislicher krebserregender Wirkung von Nitrosaminen ist man bestrebt, die Verwendung von Nitriten in der Fleischindustrie zu senken. In dieser Untersuchung wurden mittels einer enzymatischen spektrofotometrischen Methode im Laufe eines Zeitraums von 4 Jahren (2011 bis 2014) in den auf dem kroatischen Markt eingesammelten Fleischerzeugnissen bestimmte Nitrat- und Nitrit-Ebenen festgestellt, wonach die ermittelten Werte mit den höchst zulässigen Mengen (kroat. Abk. NDK) verglichen wurden, die in der Ordnung über Änderungen und Ergänzungen der Ordnung über Lebensmittelzusatzstoffe („Narodne novine“/zu Deutsch: Volkszeitung; amtliches Gesetzblatt der Republik Kroatien/Nr. 79/2012) bzw. in der Verordnung (EU) Nr. 1129/2011 der Kommission definiert wurden. Es wurden insgesamt 448 Proben von haltbar gemachten und wärmebehandelten Würsten ($n = 410$) sowie teilweise haltbar und haltbar gemachten Fleischerzeugnissen ($n = 38$) entnommen und analysiert, die in den kroatischen Fleischindustriebetrieben hergestellt wurden. Durchschnittliche Menge an Natriumnitrat in den haltbar gemachten Würsten und haltbar gemachten Fleischerzeugnissen betrug 130 ± 72 mg/kg-1 und 64 ± 43 mg/kg-1. Die Menge an Natriumnitrit in den Fleischerzeugnissen betrug 7 ± 4 mg/kg-1 (haltbar gemachte Würste), 24 ± 16 mg/kg-1 (wärmebehandelte Würste), 37 ± 23 mg/kg-1 (haltbar gemachte getrocknete Fleischerzeugnisse) und 42 ± 21 mg/kg-1 (teilweise haltbar gemachte getrocknete Fleischerzeugnisse). Einzelne Fleischerzeugnisse innerhalb jeder Gruppe weisen statistisch wesentliche Differenzen ($p < 0,05$) pro Produktgruppe auf. Im Vergleich mit den höchst zulässigen Mengen waren die Nitrat- und Nitritmengen bei zwei wärmebehandelten Würsten (109 mg/kg-1 und 115 mg/kg-1) sowie bei einer haltbar gemachten Würste (315 mg/kg-1) höher. Die Ergebnisse der Untersuchung ergaben den Bedarf an einer kontinuierlichen Verfolgung von Nitrat- und Nitritmengen in den Fertigprodukten auf dem Markt, an Untersuchung von Verhältnissen, die der Bildung von Nitrosaminen und Verwendung von verfahrenstechnischen Prozessen begünstigen, die die Verwendung dieser Zusatzstoffe in der Fleischindustrie senken würden.

Schlüsselwörter: Nitrite, Nitrate, höchst zulässige Menge, Fleischerzeugnisse, kroatischer Markt

La cantidad de los nitritos y nitratos en los productos cárnicos en el mercado croata

RESUMEN

Los aditivos (los conservantes) nitritos y nitratos tienen la utilidad amplia en la industria cárnica porque mejoran la calidad, el tiempo de caducidad y la seguridad del producto para el consumo, especialmente por el efecto de inhibir el crecimiento y la propagación de las bacterias *Staphylococcus aureus* y *Clostridium botulinum*. Por el efecto nocivo de los nitratos sobre la salud de los humanos y por el demostrado efecto cancerígeno de las nitrosaminas, se trata de reducir el uso de los nitritos en la industria cárnica. En esta investigación fueron determinados, por el método espectrofotométrico enzimático, durante el período de 4 años (2011 - 2014) los niveles de los nitratos y nitritos en los productos cárnicos del mercado croata y fueron obtenidos los valores comparados con las concentraciones máximas permisibles (CMP) definidas por la Directiva sobre las enmiendas a la Directiva sobre los aditivos alimentarios (N.N. no. 79/2012) o sea por el Reglamento (UE) No. 1129/2011 de la Comisión. En total fueron analizadas 448 muestras de las salchichas crudo-curadas y térmicamente tratadas ($n = 410$) y de los productos cárnicos semi-crudos y crudos ($n = 38$) producidos en industrias cárnicas croatas. La concentración media de los nitratos en las salchichas crudo-curadas y en los productos cárnicos crudo-curados fue 130 ± 72 mg kg⁻¹ y 64 ± 43 mg kg⁻¹. La concentración de los nitritos en los productos cárnicos fue 7 ± 4 mg kg⁻¹ (salchichas crudo-curadas), 24 ± 16 mg kg⁻¹ (salchichas térmicamente tratadas), 37 ± 23 mg kg⁻¹ (productos cárnicos crudo-curados) y 42 ± 21 mg kg⁻¹ (productos cárnicos semi-crudos). Algunos productos cárnicos dentro de cada categoría mostraron las diferencias estadísticamente significantes ($p < 0,05$) por grupos de producción. En comparación con las concentraciones máximas permisibles, las concentraciones de nitratos y nitritos eran más altas en dos salchichas térmicamente tratadas (109 mg kg⁻¹ y 115 mg kg⁻¹) y en una salchicha crudo-curada (315 mg kg⁻¹). Los resultados de la investigación muestran la necesidad de la supervisión continuada de las concentraciones de los nitratos y nitritos en los productos preparados que están en el mercado, la necesidad de investigación de las condiciones que propician la formación de las nitrosaminas y la necesidad de aplicación de los procesos tecnológicos que disminuirían el uso de los aditivos en la industria cárnica.

Palabras claves: nitritos, nitratos, concentración máxima permisible, productos cárnicos, mercado croata

Quantità dei nitriti e dei nitrati nei prodotti di carne sul mercato Croato

SUNTO

Gli additivi (conservanti) i nitriti e i nitrati hanno un largo impiego nell'industria dei prodotti di carne perché migliorano la qualità, la durata e la sicurezza (integrità) di detti prodotti, specie per via dell'inibizione della crescita e della propagazione dei batteri *Staphylococcus aureus* e *Clostridium botulinum*. Tuttavia, a causa dell'effetto nocivo dei nitriti alla salute umana ed, anche, dell'effetto cancerogeno provato della nitrosamina, si cerca di diminuire l'impiego dei nitriti nell'industria di carne. Nella presente ricerca, usando il metodo enzimatico spettrofotometrico, nel corso del periodo di quattro anni (2011 - 2014), nei prodotti di carne raccolti sul mercato croato, sono stati determinati i livelli dei nitrati e dei nitriti e questi valori ottenuti sono stati paragonati ai livelli massimi ammessi (LMA), definiti nel Regolamento sulle modificazioni ed integrazioni del Regolamento sugli additivi alimentari (Gazzetta ufficiale n. 79/2012), rispettivamente al Decreto della Commissione dell'Unione Europea n. 1129/2011. Sono stati analizzati in totale 448 campioni di cui le salsicce termicamente trattate e di lunga durata ($n = 410$), nonché i prodotti di carne di media e di lunga durata ($n = 38$) i quali sono stati prodotti nelle industrie di carne croate. La quantità media del nitrato di sodio nelle salsicce di lunga durata e nei prodotti di carne di lunga durata era di 130 ± 72 mg kg⁻¹ e di 64 ± 43 mg kg⁻¹. La quantità del nitrito di sodio nei prodotti di carne era di 7 ± 4 mg kg⁻¹ (salsicce di lunga durata), di 24 ± 16 mg kg⁻¹ (salsicce trattate termicamente), di 37 ± 23 mg kg⁻¹ (salumi di lunga durata) ed, infine, di 42 ± 21 mg kg⁻¹ (salumi di media durata). I singoli prodotti di carne entro ogni singolo gruppo, hanno dimostrato delle notevoli differenze statisticamente rilevanti ($p < 0,05$) per singolo gruppo di produzione. In confronto alle quantità massime ammesse, le quantità dei nitrati e dei nitriti risultavano più elevate nelle due salsicce termicamente trattate (109 mg kg⁻¹ e 115 mg kg⁻¹) e in una salsiccia di lunga durata (315 mg kg⁻¹). I risultati della ricerca confermano la necessità di un monitoraggio continuo delle quantità dei nitrati e dei nitriti nei prodotti finiti sul mercato, esaminando le condizioni le quali favoriscono la formazione della nitrosamina e applicando i processi tecnologici i quali portino alla diminuzione dell'uso degli additivi sopraccitati nell'industria di carne.

Parole chiave: nitriti, nitrati, quantità massima ammessa, prodotti di carne, mercato croato