

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA  
SCUOLA DI AGRARIA E MEDICINA VETERINARIA

Laurea in scienze e tecnologie alimentari

SISTEMI ALTERNATIVI PER RIDURRE I NITRITI E NITRATI NEI SALUMI

Docente di riferimento

Prof.ssa Gabriella Pasini

Laureanda/o

Enrico Duregon

Matricola n.

1177466

ANNO ACCADEMICO 2023/2024

# **INDICE**

## **1 INTRODUZIONE**

## **2 NITRITI E NITRATI**

- 2.1 Effetti dei nitriti e nitrati sui salumi
  - 2.1.1 Effetto antimicrobico
  - 2.1.2 Sviluppo e stabilizzazione del colore nei salumi
  - 2.1.3 Effetti dei nitriti e nitrati sulla salute dell'uomo

## **3 POTENZIALI ALTERNATIVE AL NITRITIO NELLA CARNE LAVORATA**

- 3.1 Estratti vegetali
  - 3.1.1 Effetti antiossidanti degli estratti vegetali
  - 3.1.2 Effetti antimicrobici degli estratti vegetali
  - 3.1.3 Prospettive e sfide per gli estratti vegetali
- 3.2 Alta pressione idrostatica
  - 3.2.1 L'HPP per ridurre la quantità di sale e grasso nelle carni lavorate
  - 3.2.2 Etichetta pulita con il trattamento ad alta pressione
  - 3.2.3 Sicurezza microbica del trattamento ad alta pressione
- 3.3 Conclusione sull'HPP

## **4 CONCLUSIONI**

## CAPITOLO 1 - INTRODUZIONE

Il problema di trovare il metodo più efficace per conservare gli alimenti, in questo specifico caso per i prodotti a base di carne, è sempre stata una delle più grandi sfide dell'uomo. La carne è un alimento molto presente nella nostra dieta grazie al suo alto valore nutrizionale (fonte di aminoacidi essenziali), caratteristiche strutturali e tecnologiche; allo stesso tempo risulta essere un alimento difficile da gestire perché naturalmente povera di antiossidanti e composti antimicrobici.

La presenza di nutrienti facilmente utilizzabili dai microrganismi e di umidità rende la carne un alimento perfetto per il deterioramento microbico, perossidazione lipidica e autolisi enzimatica con generazione di composti genotossici e citotossici. Lo sviluppo di microrganismi patogeni e deterioranti contribuisce allo sviluppo di cattivi odori, decolorazione, produzione di gas e formazione di aldeidi tossiche e nocive.

L'arrivo della refrigerazione ha favorito la conservazione dei prodotti alimentari, inclusi quelli a base di carne, grazie alle basse temperature che rallentano lo sviluppo microbico; ma nonostante questo, ogni anno, viene sprecata una quantità importante di carne (circa 1,3 miliardi di tonnellate) a causa della mancanza di sistemi adeguati al mantenimento. Le principali cause del suo deterioramento sono l'ossidazione dei lipidi e delle proteine, la crescita microbica e azione enzimatica. [1].

Per inibire le alterazioni ossidative l'industria alimentare utilizza degli additivi antimicrobici e antiossidanti con lo scopo di ridurre le perdite e lo spreco alimentare. "Secondo il regolamento UE 1333/2008, i conservanti sono definiti come sostanze che prolungano la durata di conservazione della carne e dei prodotti a base di carne proteggendoli dal deterioramento causato da microrganismi o inibendo la crescita di microrganismi patogeni" [2] e in base alla loro origine vengono definiti naturali o sintetici.

L'industria alimentare utilizza su larga scala conservanti sintetici come i sali di nitriti e sali di nitrati in vari gradi di sminuzzamento e in varie fasi di lavorazione. I sali di nitriti e nitrati sono comunemente utilizzati e aggiunti durante la fase di stagionatura dei salumi perché ostacolano lo sviluppo microbico di microrganismi patogeni, in particolare del *Clostridium botulinum*, batterio responsabile del botulismo. Oltre all'effetto battericida, i nitriti e nitrati hanno anche un effetto chimico perché rallentano l'ossidazione dei lipidi e l'azione dell'ossigeno con conseguente rallentamento del viraggio della colorazione del salume dal rosso al marrone. Il nitrato è

naturalmente presente nelle verdure, e le concentrazioni più elevate si trovano nelle verdure a foglia come spinaci e lattuga, ma può anche entrare nella catena alimentare come contaminante ambientale dell'acqua, a causa del suo uso negli allevamenti intensivi, l'eccessiva concimazione azotata dei campi e nello scarico di acque reflue.

Nell'uomo i nitriti e nitrati contenuti negli alimenti sono assorbiti rapidamente dall'organismo e, per la maggior parte, escreti come nitrati. Una parte del nitrato viene convertito dai batteri del cavo orale in nitrito. Il nitrito assorbito può ossidare l'emoglobina trasformandola in metaemoglobina, il cui eccesso riduce la capacità dei globuli rossi di legare e trasportare l'ossigeno nel corpo; inoltre, il nitrito aggiunto negli alimenti (e il nitrato convertito in nitrito dall'organismo) può contribuire anche alla formazione di nitrosammine, alcune delle quali sono cancerogene [3].

L'elaborato ha come obiettivo quello di analizzare gli effetti che i nitriti e i nitrati hanno nei salumi e le possibili conseguenze sull'organismo dell'uomo quando si consumano eccessivamente alimenti di origine animale. Infine, si analizzano alcune soluzioni alternative che vengono attualmente utilizzate con lo scopo di ridurre la concentrazione di nitriti e nitrati nei prodotti carnei e quindi di diminuire i possibili effetti negativi che queste sostanze possono portare sull'organismo umano.

L'attenzione per questo tema deriva dal fatto che negli ultimi anni i principali esponenti in termini di sicurezza alimentare (come l'EFSA, la IARC) hanno effettuato degli studi e hanno rilevato dei possibili effetti cancerogeni di queste molecole sull'organismo umano a causa della formazione delle nitrosammine, scatenando un forte interesse mediatico.

Recentemente, l'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (IARC) ha dichiarato le carni rosse come possibili cancerogene, mentre le carni lavorate come cancerogene per l'uomo valutando sufficienti dati epidemiologici. IARC ha anche riportato che l'ingestione di nitriti dalle carni lavorate può portare al cancro del colon e del retto nell'uomo. A causa di questi effetti nocivi, molti Paesi ne hanno limitato fortemente l'uso nei prodotti alimentari trasformati. La tossicità dei nitriti è dieci volte superiore a quella dei nitrati. Per gli esseri umani, la dose orale fatale va da 80 a 800 mg di nitrato per Kg di peso corporeo e solo da 33 a 250 mg di nitrito per Kg di peso corporeo. Secondo degli studi effettuati negli Stati Uniti ed Europa, si è riscontrato che l'assunzione a lungo termine di quantità crescenti di carne rossa, in particolare di carne lavorata, è legata a un tasso più elevato di mortalità, cancro del colon e del retto, diabete di tipo 2 e malattie cardiache sia negli uomini che nelle donne [3].

Diminuire il consumo di carne lavorata può sicuramente portare ad una riduzione degli effetti cancerogeni, da questo ne consegue che le industrie alimentari stanno investendo sulla produzione di alimenti con un'etichetta sempre più pulita utilizzando diversi sistemi per ridurre l'utilizzo di nitriti e nitrati per evitare un calo del consumo di carne lavorata.

Con il cambiamento delle abitudini di consumo e il crescente interesse per il rapporto salute-cibo, aumenta la tendenza dei consumatori a consumare alimenti più sani e funzionali, per cui i ricercatori stanno cercando di trovare metodi efficaci per la stagionatura della carne. Nonostante l'aumento degli studi sui conservanti alternativi al nitrito e al nitrato nei prodotti a base di carne, non è ancora stato trovato un singolo composto che svolga tutte le funzioni del nitrito e del nitrato. Pertanto, i nitriti e i nitrati sono ancora additivi comuni utilizzati nell'industria della carne anche se i loro residui devono comunque essere tenuti sotto controllo.

## CAPITOLO 2 – NITRITI E NITRATI

L'azoto è un elemento molto presente nell'atmosfera (78%) e svolge un ruolo fondamentale negli esseri viventi che necessitano di assimilare l'azoto per la formazione di composti azotati vitali. Il problema è che la maggior parte degli esseri viventi non è in grado di assorbire l'azoto atmosferico, ma in natura si formano altre molecole (nitriti, nitrati o ammonio) che essendo solubili in acqua possono essere utilizzate e assorbite senza difficoltà soprattutto dalle piante attraverso le radici.

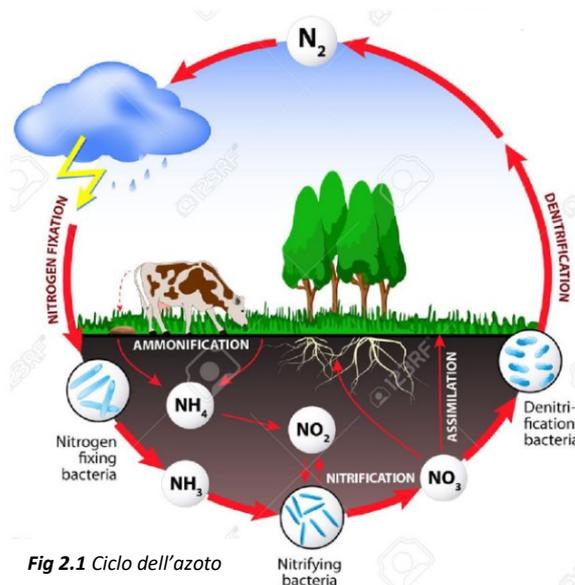


Fig 2.1 Ciclo dell'azoto

Come si può osservare nella *figura 2.1* L'azoto atmosferico viene fissato con la formazione di ammoniaca ( $NH_3$ ), la quale subirà la nitrificazione batterica con produzione di nitrito ( $NO_2^-$ ) e nitrato ( $NO_3^-$ ). A questo punto una parte del nitrato verrà assorbito dalle piante, le quali verranno mangiate dagli animali, all'interno dei quali avviene la decomposizione microbica nell'intestino (ammonificazione) restituendo l'azoto all'ambiente sotto forma di ammonio ( $NH_4^+$ ) il quale verrà utilizzato per la produzione di nitrito che contribuirà alla produzione di nitrato attraverso la

nitrificazione batterica. Una parte del nitrato subirà la denitrificazione batterica ritornando nell'atmosfera.

Con questa immagine si può notare come i nitriti e i nitrati sono delle sostanze naturalmente presenti in natura e con cui entriamo in contatto quotidianamente soprattutto attraverso l'assunzione di acqua e verdura. Queste molecole vengono anche aggiunte ai prodotti a base di carne grazie alla efficacia contro lo sviluppo microbiologico.

Il nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) presenta la stessa funzione del nitrito ma agisce più lentamente e quindi viene utilizzato meno frequentemente dato che la sua attivazione necessita dell'attività delle nitrato riduttasi che permettono la riduzione del nitrato a nitrito in condizioni anaerobiche. Il nitrito è un importante intermediario del ciclo biologico dell'N presente nel suolo e nelle acque di superficie [3].

## 2.1 EFFETTI DEI NITRITI E NITRATI SULLA CARNE

### 2.1.1 EFFETTO ANTIMICROBICO

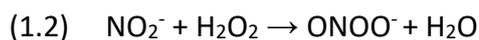
I nitriti e i nitrati vengono utilizzati come conservanti e inibiscono la crescita di diversi microrganismi indesiderati come il *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus* che causano tossicità alimentari. L'efficacia dell'attività antimicrobica dipende da vari fattori come il pH, il livello di nitrito residuo, la concentrazione di sale, il contenuto di ferro, la presenza di riduttori, la temperatura di conservazione, ecc. L'azione antimicrobica del nitrito è attribuita alle reazioni associate alla generazione di ossido nitrico (NO) il quale contribuisce alla formazione del perossinitrito ( $\text{ONOOH}$ ) che svolgerà la funzione contro i microrganismi in quanto penetra all'interno della cellula attraverso la diffusione passiva e danneggia il DNA.

Il perossinitrito si può formare attraverso 2 vie:

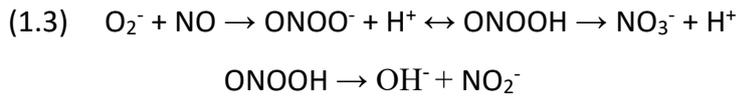
La più nota è quella attraverso la reazione dell'ossido nitrico con il radicale perossido  $\text{O}_2^-$



Oppure attraverso la reazione del nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) con l'idrogeno perossido ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )



Il perossinitrito è un perossido reattivo ma di breve durata, che reagisce con l'H per raggiungere la stabilità andando a formare l'acido perossinitroso coniugato ( $\text{ONOOH}$ ), la maggior parte del quale (circa il 90%) viene successivamente isomerizzato in nitrato; mentre il restante 10% viene scisso in altre molecole fortemente ossidanti come lo ione ossidrilico  $\text{OH}^-$  e il biossido di azoto ( $\text{NO}_2^-$ ).



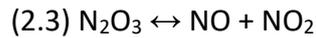
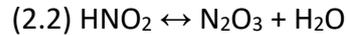
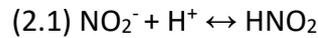
La formazione del perossinitrito ( $\text{ONOO}^-$ ) e dell'acido perossinitroso ( $\text{ONOOH}$ ) ha un impatto importante sullo sviluppo dei microrganismi perché sono due molecole fortemente ossidanti che sono in grado di attraversare le membrane cellulari causano l'ossidazione delle proteine e lipidi danneggiando anche il DNA. [4] All'interno delle cellule batteriche il nitrito reagisce con il ferro delle proteine ferro-zolfo, impegnate in attività fisiologiche come il metabolismo e la sintesi del DNA, formando dei complessi dinitrosilferrici diminuendo così la disponibilità del ferro necessaria per l'attività enzimatica e per l'attività metabolica.

Diversi tipi di microrganismi hanno varie vie metaboliche e strategie di difesa antiossidante, e alcuni microrganismi sono risultati resistenti allo stress ossidativo del perossinitrito e dell'acido perossinitroso. Inoltre, è stato dimostrato che l'azione antibatterica del nitrito nei batteri anaerobi Gram-positivi è più efficace che nei batteri aerobi Gram-negativi [5]. Questo deriva dal fatto che i gram negativi, come ad esempio la *Salmonella enterica serovar* Thyphimurium, sono catalasi positivi e quindi presentano nel loro citoplasma le catalasi che riducono l' $\text{H}_2\text{O}_2$ , molecola tossica per le cellule batteriche, in  $2\text{H}_2\text{O}$ , che invece è utile ai batteri; allo stesso tempo presentano anche le perossinitrasi che vanno ad inibire quasi totalmente lo stress ossidativo del perossinitrito e dell'acido perossinitroso. Da questo si può dedurre che per questa categoria di microrganismi l'inibizione batterica deriva principalmente da altri fattori, quali pH, temperatura, attività dell'acqua, concentrazione di NaCl, condizioni anaerobiche.

L'efficacia dei nitriti è principalmente contro i gram positivi, come il *Clostridium botulinum*, perché questi non presentano gli enzimi catalasi, di conseguenza l' $\text{H}_2\text{O}_2$  che si forma nella carne non viene ridotta andando a sommare questo stress ossidativo a quello causato dal perossinitrito e dell'acido perossinitroso vista l'assenza anche delle perossinitrasi. Per questo motivo i nitriti e i nitrati vengono utilizzati principalmente per inibire lo sviluppo del *C.botulinum*.

### 2.1.2 SVILUPPO E STABILIZZAZIONE DEL COLORE DELLA CARNE

Il colore della carne è molto variabile ed è influenzato da una serie di fattori. Quando il nitrito viene introdotto nella carne, viene convertito in ossido nitrico (NO) attraverso le seguenti reazioni [3]:



In questa serie di reazioni possiamo osservare come il nitrito reagisce con gli ioni idrogeno ( $\text{H}^+$ ) dell'acqua con produzione di acido nitroso. Successivamente, l'acido nitroso si decompone progressivamente in molecole d'acqua ( $\text{H}_2\text{O}$ ) e triossido di dinitrogeno (equazioni (2.1) e (2.2)). Dal triossido di dinitrogeno ( $\text{N}_2\text{O}_3$ ) si generano poi ossido nitrico (NO) e biossido di azoto ( $\text{NO}_2$ ) (equazioni (2.3)). Quest'ultima reazione porta alla formazione dell'ossido nitrico che è il principale responsabile della colorazione nei prodotti di salumeria. Nella figura 1 possiamo osservare come l'ossido nitrico non sia l'unico promotore della colorazione della carne ma questa è determinata anche dalla mioglobina ridotta ( $\text{MbFe}^{2+}$ ) che si combina con l'acido nitroso formando metmioglobina ossidata (MMb) per effetto dell'ossidazione. La metimioglobina ( $\text{MbFe}^{3+}$ ) reagisce poi con l'ossido nitrico (NO) per produrre nitrossi-metmioglobina. Di conseguenza, la carne assume un colore marrone.

Nelle condizioni anaerobiche che si verificano all'interno della carne, la nitrossi-metmioglobina si riduce andando così a formare il complesso nitrosil-mioglobina che conferisce alla carne un colore più tendente al rosso. Questo complesso è estremamente instabile e quando si applica un trattamento termico o si utilizza gli antiossidanti si trasforma in un pigmento stabile di colore rosa-rossastro (nitroso-emocromo) (Figura 2.1).

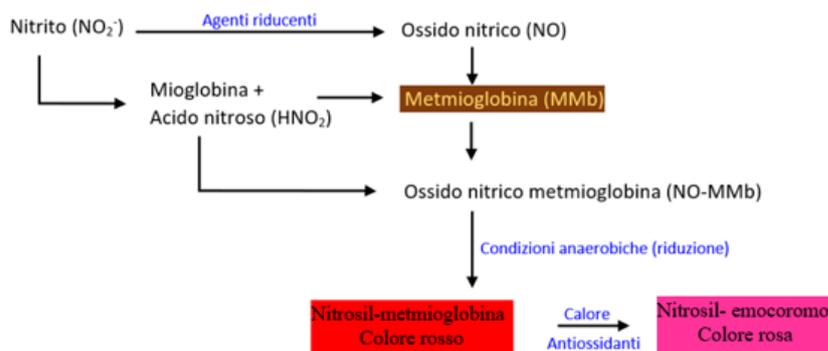


Fig. 2.1 Meccanismo di sviluppo del colore nei salumi

Gli antiossidanti, tra cui l'acido ascorbico e i polifenoli, stimolano la produzione di ossido nitrico consentendo la riduzione di  $N_2O_3$ . Gli antiossidanti con attività riducente del ferro da  $Fe^{3+}$  a  $Fe^{2+}$  contribuiscono allo sviluppo e il mantenimento del colore rosso del salume perché migliorano il processo di riduzione dell'NO-metmioglobina e quindi aumentano la produzione di NO e abbassano i livelli di NO-metmioglobina.

L'aumento della produzione di ossido nitrico, e conseguentemente anche la produzione di nitrosil-metmioglobina avviene anche attraverso l'aggiunta di cloruro di sodio (NaCl), perché reagisce con l'acido nitroso ( $HNO_2$ ) generando cloruro di nitrosile (ClNO) che favorisce lo stress ossidativo e quindi la produzione di ossido nitrico con tutte le conseguenze che questo ne comporta; infatti, è stato riscontrato che all'aumentare della concentrazione di sale è aumentata anche la concentrazione di nitrosil-metmioglobina [3].

Un altro fattore importante che contribuisce alla colorazione dei prodotti a base di carne è il pH che controlla anche la formazione di ossido nitrico dal nitrito. La reattività dell'acido nitroso ( $HNO_2$ ) e dei nitriti aumenta al diminuire del pH ed è stato riscontrato che la velocità di formazione dell'ossido nitrico (NO) raddoppia con una riduzione del pH pari a 0,2-0,3 unità [6]. Fondamentalmente, per lo sviluppo del colore della carne stagionata è necessaria una quantità molto piccola di nitrito, di solito circa 2-14 ppm. Tuttavia, il livello di nitrito residuo nelle carni stagionate diminuisce gradualmente a causa dell'ossidazione durante la conservazione. Di conseguenza, la carne inizia a perdere il suo colore stagionato e a sbiadire.

Oltre agli antiossidanti e al pH ci sono anche altri fattori che contribuiscono alla perdita di colore come l'aria e la luce. Di solito si raccomanda la presenza di 10-15 ppm di nitrito residuo, che può agire come un serbatoio per la rigenerazione del colore della carne stagionata. D'altra parte, livelli più elevati di nitrito di sodio (>600 ppm/kg di carne) e un basso valore di pH possono portare alla bruciatura da nitrito (decolorazione), in cui la carne presenta un colore verde dovuto alla formazione di nitrimina, un pigmento verde-marrone [3].

### **2.1.3 PROBLEMATICHE PER LA SALUTE ASSOCIATE AI NITRITI DELLA CARNE**

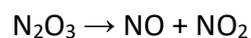
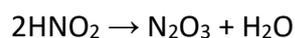
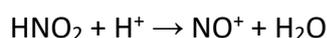
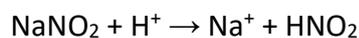
Nonostante tutti i suoi benefici, a causa dell'elevata reattività chimica degli ioni nitrito che sono altamente reattivi quando il pH è inferiore a 7, il nitrito di sodio può combinarsi con numerosi componenti nei sistemi di carne, tra cui aminoacidi, solfidrilici, ammine, composti fenolici, acido ascorbico e mioglobina.

Il nitrito può svolgere il ruolo di agente nitrosante e formare vari composti nitrosi. Altri

agenti nitrosanti sono l'acido nitroso e l'ossido nitrico, anch'essi derivati dal nitrito. L'acido nitroso partecipa ai processi che portano alla formazione di composti N-nitroso endogeni (NOC). L'NO, invece, può essere un generatore di nitrati e nitriti, che circolano nell' organismo umano [3]. In generale, i composti N-nitroso sono classificati in sei tipi: N-nitrosammine non volatili, N-nitrosammine volatili, prodotti carbossilici eterociclici N-nitrosati, N-nitrosammidi, composti di Amadori e glicosammine N-nitrosate. La maggior parte delle nitrosammine volatili è classificata nel gruppo 2B, il che significa che sono potenzialmente cancerogene per il corpo umano. Il numero di nitrosammine presenti nei prodotti a base di carne varia a seconda del tipo di prodotto la quantità di N-nitrosammine nelle carni lavorate potrebbe essere inferiore al limite di rilevazione (un microgrammo per chilogrammo). Sebbene i nitriti siano notoriamente associati alle implicazioni generali per la salute, non sono state trovate prove a sostegno del collegamento tra il rischio di cancro e il consumo di carni lavorate. Solo un'elevata esposizione ai nitriti da varie fonti è stata attribuita all'elevato rischio di problemi di salute [3].

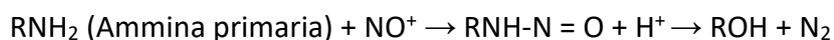
Lo sviluppo delle nitrosammine nei prodotti a base di carne è un processo complicato e può essere influenzato da un'ampia gamma di fattori. Nitriti, nitrati, ammine primarie e secondarie, ammidi, peptidi, proteine e vari amminoacidi sono i composti iniziali per la formazione delle nitrosammine. La sintesi di nitrosamine nelle carni dovuta all'attività microbica. I microrganismi possono contribuire alla formazione delle nitrosammine convertendo i nitrati in nitriti e degradando le proteine in aminoacidi e ammine. Le N-nitrosammine possono svilupparsi nella carne durante i processi di produzione, durante la cottura domestica e nel tratto digestivo dopo l'ingestione. Sono generate principalmente da ammine secondarie, nitriti e altri agenti nitrosanti.

Le reazioni chimiche che portano allo sviluppo di nitrosammine nei sistemi di salumeria sono le seguenti [3]:



Queste reazioni chimiche presentano lo stesso processo che porta alla formazione di ossido nitrico e acido nitroso come visto nel capitolo 2.2.2. La formazione di ossido nitrico e acido nitroso

è un fattore importante perché possono portare la formazione di queste molecole favorisce la produzione di nitrosammine.



Come si notare dalle formule sopra presenti, l'ossido nitrico può reagire con le ammine con conseguente formazione delle nitrosammine. Tra le ammine primarie, secondarie e terziarie, le ammine secondarie generano nitrosammine più persistenti. Uno studio epidemiologico condotto nel 2008 ha dimostrato che esiste un aumento del rischio di cancro del colon-retto correlato a un'elevata assunzione di carne lavorata. L'assunzione eccessiva di nitriti può anche provocare avvelenamento dei tessuti, paralisi dei centri respiratori e altri sintomi legati all'ipossia. In casi estremi, può causare soffocamento e morte, diminuendo la capacità di trasporto di O<sub>2</sub> dell'emoglobina nel sangue umano [3].

Viste le problematiche che queste sostanze possono portare alla salute, la Commissione europea ha chiesto all'EFSA di riesaminare entro il 2020 tutti gli additivi autorizzati prima del 20 gennaio 2009. Tra questi l'EFSA ha riesaminato anche la sicurezza dei sali di sodio e potassio dei nitriti (da E249 a E250) e dei nitrati (da E251 a E252) in due pareri scientifici pubblicati nel giugno 2017.

In seguito, l'EFSA ha potuto stabilire una DGA per il nitrato non ritenendolo né genotossico né cancerogeno perché per sostanze potenzialmente dannose per il DNA o che possono provocare il cancro non è possibile stabilire un livello di sicurezza. Nonostante questo, l'EFSA ha determinato il livello di sicurezza in base alla concentrazione nel sangue della metamioglobina perché impedisce ai globuli rossi di trasportare l'ossigeno nei tessuti. Sulla base di tale effetto il gruppo ha concluso che la DGA fissata dallo SCF (1997) tutelava a sufficienza la salute pubblica [7].

Per quanto riguarda il nitrito, il gruppo scientifico ha calcolato una DGA di 0,07 mg/kg pc/die, corrispondente al livello di sicurezza stabilito dal JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) è vicino all'attuale DGA, leggermente più prudentiale, di 0,06 mg/kg pc/die calcolata dallo SCF; mentre per la DGA del nitrato, entrambi gli enti l'hanno fissata a 3,7 mg/kg pc/die. Per il calcolo del nitrato gli enti si sono basati su un aumento dei livelli di

metaemoglobina nel sangue dopo il suo consumo come additivo alimentare dato una quantità eccessiva di metaemoglobina non permette ai globuli rossi di legare e trasportare l'ossigeno in maniera efficiente [7].

Osservando i risultati degli studi disponibili, gli esperti dell'EFSA hanno concluso che gli attuali livelli di sicurezza per nitriti e nitrati aggiunti alla carne e altri alimenti tutelano a sufficienza i consumatori. Utilizzando dati più realistici (cioè gli effettivi livelli di concentrazione nei cibi), gli esperti hanno stimato che l'esposizione del consumatore al nitrato proveniente esclusivamente dal consumo come additivo alimentare è inferiore al 5% dell'esposizione complessiva al nitrato negli alimenti e che non supera la DGA. Per quanto riguarda i nitriti assunti come additivi alimentari, gli esperti hanno stimato che l'esposizione rientra nei livelli di sicurezza per tutte le fasce della popolazione, fatta eccezione per un lieve superamento nei bambini la cui dieta sia basata su un'elevata quantità di alimenti contenenti tali additivi. Se si considerano tutte le fonti di nitrato alimentare (additivi alimentari, presenza naturale nei cibi e contaminanti dall'ambiente), la DGA potrebbe essere superata da individui di tutte le fasce d'età che abbiano un'esposizione da media ad alta.

## **CAPITOLO 3 – POTENZIALI ALTERNATIVE A NITRITI E NITRATI NELLA CARNE LAVORATA**

La carne fa parte della nostra dieta fin dall'antichità grazie alle sue caratteristiche nutrizionali, strutturali e tecnologiche che la contraddistinguono dagli altri alimenti. Il problema principale che si riscontra nella carne è la sua naturale assenza di antiossidanti e composti antimicrobici endogeni. Le diverse operazioni di lavorazione come la perdita di integrità strutturale, l'aumento dei pro-ossidanti nella carne come il sale, l'aumento della superficie, l'esposizione all'aria e la riduzione dell'efficacia degli enzimi endogeni (glutazione perossidasi, catalasi e super-ossido dismutasi) e dei componenti non enzimatici (acido ascorbico, spermidina, spermina, glutazione, alfa-tocoferolo, carnosina e acido lipoico) rendono la carne più suscettibile ai cambiamenti della qualità, con effetti negativi sul sistema immunitario e sul metabolismo [1].

Il deterioramento nella carne è dovuto principalmente dallo sviluppo microbico causato dalla presenza di nutrienti, umidità e di acidi grassi che favoriscono la crescita dei microrganismi. *Clostridium botulinum*, *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*,

Bacillus cereus, Clostridium perfringens, Campylobacter jejuni e Listeria monocytogenes sono i patogeni più comuni nella carne che destano preoccupazione per la salute dei consumatori.

L'obiettivo dell'industria alimentare è quello di diminuire il più possibile le perdite della carne dovute al deterioramento producendo alimenti che risultino più salutari, con meno conseguenze negative per la salute umana e con un impatto ambientale che sia il più basso possibile.

### **3.1 ESTRATTI VEGETALI**

Gli estratti vegetali si ottengono estraendo composti bioattivi da varie fonti vegetali come foglie, semi, frutti, radici, steli e sottoprodotti dell'industria agroalimentare. Sono fonti ricche di molecole bioattive come polifenoli (flavonoli, antociani, flavanoli, acido benzoico, tannino, lignina, stilbeni, acido cinnamico, acidi fenolici), terpenoidi (carotenoidi, terpeni, triterpeni, fitosteroli, iridoidi), organo-solfuri e alcaloidi. Queste molecole presenti negli estratti vegetali esercitano un'azione antiossidante e antimicrobica; per questo sono ampiamente utilizzate come potenziali conservanti naturali, sostituendo parzialmente o completamente i conservanti sintetici. Gli estratti di piante potrebbero essere utilizzati nei prodotti a base di carne stagionati e affumicati come sostituti dei nitriti/nitrati, riducendo i nitriti residui, la formazione di N-nitrosammine e l'effetto antimicrobico [1].

L'applicazione di estratti vegetali in sostituzione di additivi sintetici contribuisce a ottenere prodotti a base di carne più sani grazie ad un uso minimo di additivi sintetici o addirittura senza. Occorre quindi concentrarsi sull'uso di solventi ecologici e non tossici, sull'esplorazione di fonti nuove, sostenibili ed economiche di composti bioattivi, sull'utilizzo efficiente dei rifiuti agroindustriali e su nuove tecnologie di lavorazione ecologiche e sostenibili per estrarre i composti bioattivi dalle piante per impedire anche una perdita di valore economico della carne; infatti la richiesta di prodotti a base di carne più sani e minimamente lavorati, riducendo o sostituendo l'uso di additivi chimici con alternative naturali sta crescendo sempre di più. L'uso di estratti vegetali è sempre più utilizzato per migliorare gli attributi di colore e sapore dei prodotti a base di carne ad alto contenuto di grassi e pronti al consumo, proteggendo dalle alterazioni ossidative e microbiche [1].

Gli effetti antiossidanti e antimicrobici degli estratti vegetali dipendono dalla concentrazione dei composti bioattivi, tra i quali i polifenoli. Il metodo più utilizzato per incorporare gli

estratti vegetali nell'industria della carne consiste nel mescolare accuratamente questi estratti in acqua, olio vegetale o grasso animale da aggiungere durante la preparazione del prodotto e la stabilità durante la conservazione del prodotto sviluppato dipende dal livello di concentrazione degli estratti.

Il metodo standard per la valutazione di vari parametri che indicano l'ossidazione di lipidi e proteine nella carne è la misurazione dei composti ossidativi generati durante la conservazione della carne, quali TBARS (sostanze che reagiscono all'acido tiobarbiturico), FFA (acidi grassi liberi), valore di per-ossido (PV), contenuto di carbonili, gruppi tiolici liberi e dieni coniugati. Poiché questi prodotti esercitano un potenziale antiossidante molto elevato e sono ricchi di fenoli, esiste la possibilità che una maggiore concentrazione o incorporazione possa causare amarezza o retrogusto e un colore scuro del prodotto sviluppato. Applicando opportune combinazioni di estratti vegetali, è possibile ottenere gli effetti conservanti desiderati con un impatto minimo sugli attributi organolettici dei prodotti a base di carne. Tra tutti gli attributi sensoriali, il sapore e il gusto sono considerati fondamentali per determinare l'accettabilità dei prodotti da parte dei consumatori, quindi questi estratti dovrebbero essere incorporati nei base di carne prodotti a livelli ottimizzati o entro i limiti consentiti [1].

Il rosamarino è un'erba aromatica sempreverde della famiglia delle Lamiaceae, comunemente utilizzata come condimento, additivo alimentare per il confezionamento e la conservazione degli alimenti e nella medicina tradizionale per alleviare vari problemi di salute, come quelli cardiovascolari, diuretici antinfiammatori, antidiabetici, antitumorali e antimicrobici. Contiene un'elevata quantità di composti fenolici come l'acido rosmarinico, il carnosolo e l'acido carnosico nell'estratto e la canfora, l'eucaliptolo e l' $\alpha$ -pinene-bornil acetato nell'olio essenziale di rosmarino. Il rosmarino ha un posto importante nell'industria alimentare, ampiamente incorporato nei prodotti alimentari per ridurre l'assunzione di sale. È stato osservato un effetto sinergico della combinazione dell'estratto di rosmarino con il nuovo antiossidante fosfolipasi A2. Grazie ad uno studio è stato osservato una significativa diminuzione dell'ossidazione idroperossidi lipidici neutri fino a 3,3 volte e un mantenimento del colore migliore rispetto agli antiossidanti sintetici; soprattutto sopprimendo gli idroperossidi lipidici neutri nella salsiccia di maiale conservata per 245 giorni in condizioni di congelamento [8].

Il prezzemolo (*Petroselinum crispum*) ha un elevato contenuto di nitrati (in media 1000-2500 mg/kg) e può essere utilizzato come alternativa al nitrito nelle carni lavorate. La salsiccia tipo mortadella prodotta con nitrito (superiore a 60 ppm) da estratto di prezzemolo in polvere sembra essere equivalente alle salsicce stagionate tradizionalmente in termini di inibizione di *L. monocytogenes* e di deterioramento microbiologico durante la conservazione. La conta delle cellule microbiche di *L. monocytogenes* si è ridotta all'aumentare della percentuale di estratto aggiunto. Utilizzando l'estratto di prezzemolo in polvere, si possono ottenere ridotti livelli di nitriti residui e, commercializzando questi prodotti a base di carne, si può ridurre l'assunzione di nitriti da parte dei clienti. L'applicazione di 4,29 g di estratto di prezzemolo in polvere/kg di carne per salsicce (120 ppm di nitrato) è risultata equivalente all'uso convenzionale di sale nitrato nelle salsicce tipo mortadella in termini di colore rosso durante la maggior parte del periodo di conservazione. In uno studio recente è stata riscontrata l'accettabilità da parte dei consumatori di prodotti realizzati con maggiori quantità di estratto di prezzemolo, il che suggerisce che questi articoli potrebbero essere commercializzati. [3].

La polvere di bietola essiccata a spruzzo è stata recentemente utilizzata come fonte naturale di nitrati. Questo prodotto è paragonabile alla polvere di sedano e contiene circa il 3,0-3,5% di nitrato. La consistenza del colore delle polpette di maiale cotte è stata migliorata con l'aggiunta di bietole in polvere. Anche la durata di conservazione del prodotto è stata prolungata grazie all'azione inibitoria della polvere di bietola sui batteri coliformi. Nei campioni si è notato che la polvere di bietola, grazie all'aggiunta di nitriti pre-convertiti (2%) da bietole in polvere, porta ad una maggiore concentrazione di pigmento che causa un aumento della colorazione rossa. Il pH acido della polvere di bietola ha anche mostrato una riduzione della concentrazione di nitriti residui nelle polpette di maiale cotte. Inoltre, la polvere di bietola ha impedito l'ossidazione dei lipidi nelle polpette di maiale cotte. Ciò è probabilmente dovuto alla presenza di acidi fenolici (antiossidanti) e flavonoidi, come il kaempferolo e l'acido siringico. Di conseguenza, le polpette di maiale cotte contenenti la polvere di bietola hanno ottenuto un sapore migliore e un'elevata accettabilità. Il principale vantaggio della polvere di bietola è che è priva di allergeni [3].

L'effetto dell'estratto di semi d'uva con idrossitirosolo di sansa di oliva sul colore della salsiccia di cinta senese fermentata a secco è stata osservata da alcuni ricercatori. L'aggiunta di estratto di semi d'uva ha determinato elevati valori di arrossamento, probabilmente dovuti

all'effetto della formazione di Zn protoporfirina. È stato osservato da alcuni ricercatori che l'aggiunta di estratto di semi d'uva ha determinato un mantenimento di valori elevati di arrossamento, probabilmente dovuti all'effetto della formazione di Zn protoporfirina. Le conte microbiche di *L. monocytogenes*, *E. coli*, *Clostridium spp.*, *Staphylococcus spp.* e *Salmonella sp.* sono state riscontrate in numero ridotto fino a 3 settimane di maturazione. I ricercatori hanno anche scoperto che questi estratti possono inibire l'ossidazione dei lipidi in quanto contengono polifenoli [3].

Coprodotti degli agrumi: Ogni anno, la produzione di succo di agrumi (45%-58% di succo, per lo più consumato fresco) porta a un'enorme quantità di sottoprodotti di agrumi. A causa delle loro caratteristiche chimiche e fisiche, la buccia e la polpa sono solitamente smaltiti come prodotti di scarto ma sono ricchi di composti bioattivi come flavonoidi, acidi organici, fibre alimentari, minerali, carotenoidi e vitamine. L'attività antiossidante di diversi estratti di agrumi varia in base alla metodologia, al tipo di frutto, alle condizioni ambientali come il tipo di suolo, la climatica, lo stadio di maturazione del frutto e il tempo di raccolta. L'estratto di coprodotti di agrumi ha anche mostrato proprietà antimicrobiche (antibatteriche, antivirali e antimicotiche) inibendo la crescita dei microrganismi (attraverso la lisi cellulare, impedendo la sintesi della parete cellulare, i metabolismi dell'acido nucleico) grazie alla presenza di flavonoidi, acidi fenolici e carotenoidi; la maggior parte varia con la struttura e la posizione dei gruppi idrossilici. L'estratto di coprodotti di agrumi ha anche mostrato proprietà antimicrobiche (antibatteriche, antivirali e antimicotiche) inibendo la crescita dei microrganismi (attraverso la lisi cellulare, impedendo la sintesi della parete cellulare, i metabolismi dell'acido nucleico) grazie alla presenza di flavonoidi, acidi fenolici e carotenoidi; la maggior parte varia con la struttura e la posizione dei gruppi idrossilici [1].

Le foglie di bambù sono una ricca fonte di antiossidanti e aromi e sono ampiamente utilizzate nella preparazione di prodotti tradizionali a base di carne. Durante l'affumicatura e la stagionatura della pancetta, viene inserito al suo interno un liquido che contiene anche un estratto concentrato di foglie di bambù di foglie di bambù. Grazie all'utilizzo di questo liquido si è riusciti ad ottenere un prodotto con una fragranza unica e con un livello di ossidazione e di nitriti residui più basso rispetto agli altri gruppi trattati nelle medesime condizioni di conservazione. Il prodotto selezionato presentava aldeidi, esteri e alcoli come principali composti aromatizzanti [1].

Il chiodo di garofano esercita un'attività antiossidante tra le più importanti tra tutte le spezie e i componenti comunemente utilizzati nell'industria alimentare. L'estratto di chiodi di garofano viene utilizzato per migliorare la stabilità carne ossidativa e la qualità microbica, inibendo l'ossidazione dei lipidi carne dei prodotti a base di e delle proteine della. Questi studiosi hanno sviluppato una salsiccia di tipo cinese incorporata con lo 0,25%-2,0% di estratto di chiodi di garofano. Hanno riportato un aumento della stabilità ossidativa e qualità delle salsicce trattate senza influire significativamente sugli attributi sensoriali. Zahid et al. 2019 hanno preparato l'estratto di chiodi di garofano utilizzando l'acqua come solvente a 90°C per 6 ore e hanno confrontato la sua efficacia antiossidante con l'uso di BHT (0,02%), acido ascorbico (0,05%) ed estratto di chiodi di garofano (0,1%) in polpette di manzo. Gli autori hanno osservato una riduzione significativa dell'ossidazione delle proteine e dei lipidi nelle polpette di manzo incorporate con l'estratto di chiodi di garofano rispetto a quelle trattate con BHT (butilidrossitoluene, fenolo alchilato che a temperatura ambiente si presenta come una polvere bianca); inoltre, le polpette incorporate con estratti di chiodi di garofano hanno avuto una durata di conservazione fino a 10 giorni con buoni attributi sensoriali [9].

Nella *tab 3.1* ho riportato alcune applicazioni di vari estratti di piante come conservanti naturali nella carne [1,3].

ESTRATTO VEGETALE	PRODOTTO	RISULTATO OTTENUTO
Estratto di prezzemolo in polvere (PEP)	Salsicce tipo mortadella	Riduzione di L. monocytogenes, riduzione del livello di nitrito residuo
Rosmarino	Maiale cotto	L'estratto di rosmarino a 12,5-100 mg/kg di carne di maiale ha ridotto notevolmente la formazione di MDA durante la digestione gastrica simulata e ha ridotto il calo degli acidi grassi.
Radice e foglie di loto	Polpette di maiale	L'aggiunta dell'1,0% di estratto etanolic di foglie di loto nelle polpette di maiale ha ridotto significativamente l'ossidazione dei lipidi, ma ha peggiorato gli attributi qualitativi.
Rosmarino e origano	Bistecca di bisonte	L'estratto di rosmarino (0,05%) aggiunto alla bistecca ha mantenuto in modo migliore il colore e l'appetibilità rispetto all'estratto di origano (0,08%) aggiunto alla bistecca.
Tè verde	Polpette di pollo	Una diminuzione significativa dei valori di TBARS e della conta totale
Vinaccia	Paté di pollo	Gli estratti liofilizzati e microincapsulati di vinaccia ottenuti dall'industria enologica incorporati in paté di pollo hanno determinato una riduzione del TBARS rispetto al prodotto grazie all'acido gallico, all'acido caffeico, all'acido vanillico, all'acido ferulico, all'acido cumarico e al trans-resveratrolo.
Rosmarino, menta	Salsiccia di manzo	L'estratto di rosmarino (25 ppm) ha aumentato del doppio la conservazione. L'estratto di menta (62 ppm) hanno

		aumentato in modo significativo l'effetto antimicrobico e antiossidativo.
Semi d'uva	Carne macinata	Con i semi d'uva si è notato un effetto antiossidante e antimicrobico direttamente proporzionale alla loro concentrazione nella carne conservata a temperatura di refrigerazione per 10 giorni
Crusca di riso	Hamburger di maiale	L'estratto di crusca di riso negli hamburger di maiale lavorati ad alta pressione ha ridotto l'ossidazione lipidica ma non ha avuto un effetto significativo effetto sulla riduzione microbica
Estratto di prezzemolo in polvere (PEP)	Salsicce tipo mortadella	Riduzione di <i>L. monocytogenes</i> , riduzione del livello di nitrito residuo
Semi di annatto in polvere	Salsicce cotte	Sviluppo del colore, riduzione del controllo della crescita batterica
Estratto di crespino	Salsiccia di manzo cotta	Sviluppo del colore, potenziali proprietà antiossidanti, osservata un'interazione negativa tra gli estratti e i nitriti
Polvere di mirtilli rossi	Salsiccia fermentata	Controllo dell'ossidazione lipidica e riduzione della crescita di <i>L. monocytogenes</i>
Germoglio di bambù	Pepite di maiale	Il 6% di succo di kordoi e il 4% di estratto acquoso di germogli di bambù nelle crocchette di maiale hanno ridotto significativamente i valori di TBARS in 35 giorni di conservazione in frigorifero.
Nocciolo di arachide	Salsiccia di maiale	L'estratto etanologico di nocciolo di arachide (0,01%) presentava un elevato contenuto di stilbeni. La concentrazione minima inibitoria ( $\mu\text{g/ml}$ ) dell'estratto è stata 62,5 per <i>Bacillus subtilis</i> , 31,25 per <i>Staphylococcus aureus</i> , 62,5 <i>Escherichia coli</i> e 125 <i>Salmonella typhimurium</i> .
Pomodoro in polvere	Polpette di maiale	L'incorporazione di estratto etanologico di polvere di pomodoro in polpette di maiale ha aumentato il rossore, diminuito il TBARS e ridotto significativamente la conta batterica totale e quella delle Enterobacteriaceae.
Ciliegia	Polpette di maiale	Le polpette con 40 mg GAE/kg di estratto di ciliegia avevano una forte capacità antiossidante ( $844 \pm 149 \mu\text{mol TE L}^{-1}$ ), una minore ossidazione dei lipidi e un'elevata capacità antiossidante. mantengono migliori attributi cromatici rispetto alle polpette di controllo senza estratto.
Melissa ( <i>Melissa officinalis</i> )	Polpette di manzo	Estratto acquoso liofilizzato ottenuto dalla Melissa officinalis (40-500 ppm) incorporato alle polpette di manzo ha protetto il colesterolo dalla degradazione termica, tuttavia, il sapore sgradevole dell'estratto ne limitava l'uso a concentrazione più elevata.
Polpa di fico d'India	Hamburger di Manzo	L'estratto acquoso incapsulato in alginato di sodio ha ridotto in modo significativo ( $p < .05$ ) Enterobacteriaceae e <i>Pseudomonas</i> spp
	Manzo a fette	Forte attività antibatterica contro i batteri patogeni e di deterioramento che causano il deterioramento della carne di manzo e conservazione del colore e della consistenza con l'incorporazione dell'estratto di buccia di fico d'India nella carne di manzo.

### **3.1.1 EFFETTI ANTIOSSIDANTI DEGLI ESTRATTI VEGETALI**

Questi composti esercitano un forte potenziale antiossidante legando i radicali liberi e i ROS, inibendo gli enzimi responsabili della formazione dei radicali liberi, chelando gli ioni metallici, preferibilmente ferro e rame, inibendo gli intermediari ossidati, proteggendo gli antiossidanti (acido ascorbico e vitamina E) e attivando gli enzimi antiossidanti come la catalasi e la superossido dismutasi. Il potenziale antiossidante di un estratto vegetale dipende dalla concentrazione di principi attivi, dai parametri di lavorazione, dalla temperatura e dal pH.

Diversi pigmenti vegetali come antocianine, carotenoidi e betalaine hanno mostrato una forte attività antiossidante. L'attività antiossidante delle antocianine è modificata dalla presenza di ioni metallici e di altre molecole incolori come flavoni, pigmenti e flavonoli, e si è osservato che un aumento dei livelli di antocianine riduce l'attività citotossica [1]. Anche la presenza di vari minerali (come rame, manganese, selenio e zinco) e vitamine (come la vitamina C, E e A) presenti negli estratti vegetali contribuisce al suo potenziale antiossidante.

### **3.1.2 EFFETTI ANTIMICROBICI DEGLI ESTRATTI VEGETALI**

L'effetto antimicrobico dei composti polifenolici presenti negli estratti di piante è attribuito all'alterazione dei cambiamenti morfologici dei microrganismi, alla perdita di integrità della parete cellulare batterica e alla sua permeabilità, alla coagulazione del contenuto cellulare, all'interruzione del trasferimento attivo e della forza motrice protonica, all'alterazione della sintesi proteica e all'inibizione dell'ATP e della sintesi del DNA mediante l'inibizione della DNA girasi.

Coman et al. (2017) hanno osservato l'effetto positivo sulla crescita dei batteri probiotici degli estratti di prugne, uva rossa italiana e bacche di sambuco. Gli autori hanno anche osservato l'effetto antimicrobico di questi estratti di frutti rossi nei confronti di *B.cereus*, *S. aureus* e *E. coli* [1]. Gli estratti grezzi della buccia di melograno presentano una maggiore concentrazione di acido ellagico e hanno mostrato un'azione batteriostatica e battericida principalmente contro i batteri Gram-positivi rispetto ai Gram-negativi.

Gli oli essenziali presenti negli estratti di piante come l'olio di timo, l'olio di chiodi di garofano e l'olio di cannella hanno svolto un'azione antimicrobica contro i patogeni alimentari Gram-positivi e Gram-negativi e i microrganismi di deterioramento grazie alla presenza di vari composti attivi come la cinnamaldeide, l'eugenolo, il timolo, il carvacrolo.

Gli estratti vegetali sono utili anche per ridurre la formazione di N-nitrosamina riducendo il contenuto di nitrito residuo nella carne. Si è osservato che una combinazione di estratto di rosmarino, estratto di semi d'uva e polifenoli del tè verde nella salsiccia affumicata in stile occidentale riduce la formazione di N nitrosamina (61,29%) e riduce il nitrito residuo (68,87%) e potrebbe essere utile nella preparazione di prodotti a base di carne a basso contenuto di nitrito.

### **3.1.3 PROSPETTIVE E SFIDE PER GLI ESTRATTI VEGETALI**

Durante le lavorazioni agroindustriali di frutta, verdura e cereali, viene prodotta una quantità enorme di sottoprodotti; la maggior parte della quale viene gestita in modo inefficiente tanto che il loro smaltimento rimane una delle principali preoccupazioni ambientali. Come detto in precedenza, questi sottoprodotti sono ottime fonti di polifenoli e composti bioattivi che, grazie alle loro proprietà antiossidanti e antimicrobiche, quando vengono gestite in maniera adeguata, hanno il potenziale per sviluppare prodotti alimentari funzionali e di essere delle potenziali alternative ai conservanti sintetici. L'uso di estratti vegetali con un forte effetto antiossidante e antimicrobico nei prodotti a base di carne è proposto come una potenziale strategia per ottenere prodotti a base di carne con etichetta pulita. Inoltre, avrà un impatto positivo sull'ambiente grazie a una corretta gestione dei rifiuti; di conseguenza, svolgerà un ruolo significativo nel garantire la sostenibilità della catena di produzione e il corretto sviluppo di un'economia circolare.

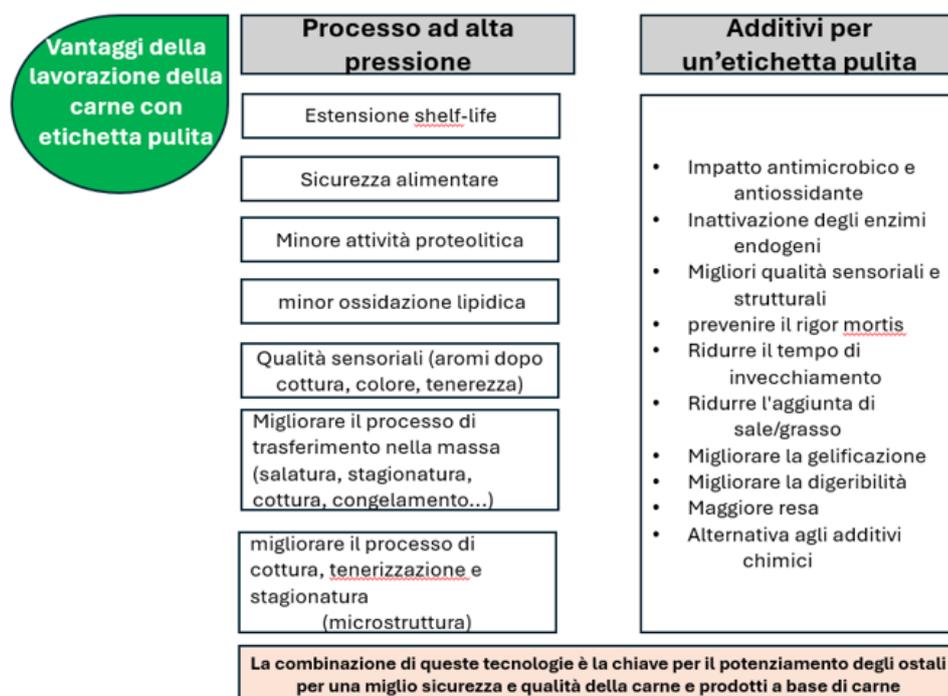
Il crescente interesse per la sicurezza alimentare, il valore nutritivo, la sostenibilità e la ricerca di un'alternativa verde ai conservanti sintetici sono i principali fattori alla base della rapida crescita dell'applicazione degli estratti vegetali nell'industria della carne; anche se i conservanti sintetici rimangono molto utilizzati per via delle caratteristiche fisiche, il prezzo economico, la disponibilità e la loro facile applicazione durante la lavorazione della carne.

Gli estratti vegetali devono essere incorporati nei prodotti a base di carne a un livello ottimale perché possono interagire con le molecole presenti nell'alimento e quindi possono causare amarezza e incidere sul sapore a causa delle concentrazioni più elevate di flavonoidi, antociani e oli essenziali. Occorre quindi concentrarsi sull'esplorazione di nuove fonti di estrazione dei composti bioattivi che presentano migliori effetti conservanti senza compromettere le caratteristiche sensoriali dei prodotti a base di carne al momento dell'aggiunta e sviluppare delle tecnologie di estrazioni che rendano questo processo meno costoso e di conseguenza più utilizzabile senza influenzare il prezzo finale del prodotto [1].

### 3.2 TRATTAMENTI IN ALTA PRESSIONE (HPP)

L'industria alimentare della carne si trova continuamente ad affrontare nuove sfide legate alla sicurezza alimentare e alle perdite di qualità causate dalla lavorazione termica e per questo motivo si sono effettuati molti studi su sistemi di lavorazione alternativi come l'HPP (high, pressure, processing). Questa tipologia di trattamenti potrebbe contribuire ad aumentare di cinque volte la durata del guscio dei prodotti a base di carne; ma allo stesso tempo deve essere combinata in maniera adeguata con altri fattori come il confezionamento. L'HPP, grazie al fatto che non è un trattamento termico, non va a compromettere le sostanze nutritive e riducendo gli sprechi alimentari.

L'utilizzo di questa tecnologia ha come obiettivo quello di creare un'etichetta più pulita e soprattutto di limitare l'utilizzo di sale e conservanti sintetici nei prodotti a base di carne dato che possono avere un effetto negativo sulla salute dei consumatori; il primo a livello cardiovascolare, mentre i secondi sulla formazione nell'organismo di molecole considerate cancerogene. L'HPP offre uno dei modi più efficaci per distribuire carne sana e sicura, senza prodotti chimici o trattamenti termici perché inattiva gli enzimi o danneggia le membrane cellulari, provocando la morte dei microbi.



*Fig3.2 Funzioni importanti del trattamento ad alta pressione dello sviluppo della carne e dei prodotti a base di carne. [10]*

Come si può vedere nella Fig. 3.2 la tecnologia HPP ha un grande impatto sull'industria della carne e sul mercato si sta diffondendo la tendenza di produrre salumi non stagionati che possono essere ottenuti senza l'utilizzo di additivi e conservanti grazie a questa tecnologia i cui dati forniscono importanti indicazioni sull'ottimizzazione della pressione, sulla qualità del prodotto e sulla gestione microbiologica per la produzione di alimenti a marchio pulito.

### **3.2.1 L'HPP PER RIDURRE LA QUANTITÀ DI SALE E GRASSO NELLE CARNI LAVORATE**

Il sale nei prodotti a base di carne è fondamentale per diminuire l'attività dell'acqua e di conseguenza diminuire il deterioramento. L'HPP potrebbe essere utilizzato come approccio "clean label" riducendo la quantità di sale aggiunta durante la lavorazione dei salumi perché potrebbe aumentare naturalmente la salinità attraverso un maggior rilascio di sodio attraverso la modifica delle interazioni degli ioni con le proteine.

*Coll-Brasas et al. (2019)* hanno osservato un aumento della salinità nei salumi trattati con HPP. Tuttavia, l'ottimizzazione dei parametri dell'HPP (pressioni, tempo e temperatura), i livelli di NaCl e di altri additivi determinano la salinità dei prodotti a base di carne [11].

### **3.2.2 ETICHETTA PULITA CON IL TRATTAMENTO AD ALTA PRESSIONE**

Per quanto riguarda l'impatto fisico-chimico sulla carne, l'HPP non rompe né crea legami covalenti ma induce dei cambiamenti a livello delle strutture terziarie e quaternarie delle proteine, comportando dei cambiamenti della tenerezza della carne stessa per la rottura delle miofibrille e dalla conseguente riduzione della forza dei sarcomeri. L'utilizzo dell'HPP nella carne ha inattivato l'ATPasi e quindi inibito la glicolisi con conseguente abbassamento del pH (<6). Questo porta ad affermare che i miglioramenti sono legati anche alla riduzione della forza dei sarcomeri e alla degradazione delle proteine, mentre non c'è stata alcuna influenza sulla dimensione delle fibre rispetto ai campioni di controllo. Tuttavia, le modifiche strutturali, dopo 24 ore hanno comportato un innalzamento del pH; quindi, l'inteneritura dei muscoli dipende esclusivamente dal pH finale della carne trattata [10].

Le proprietà strutturali e fisico-chimiche delle proteine miofibrillari, che sono quelle principali dei muscoli, giocano un ruolo importante nella funzionalità dei prodotti a base di carne ed è proprio su queste che il trattamento ad alta pressione agisce in maniera importante.

L'HPP (300-600 Mpa per 1-15min) ha ridotto la perdita d'acqua nella carne fresca di maiale, da un altro è risultato che l'HPP ha migliorato la perdita di gocciolamento del 35% dopo 84 giorni, poiché le molecole proteiche e acqua si contendono i siti di legame H, influenzando il legame con l'acqua. Di conseguenza, l'HPP forma una struttura gelificata con le proteine della carne e le proteine parzialmente gelificate trattengono meglio l'acqua rispetto alle fibre di carne cruda [12].

Sono stati effettuati numerosi studi sull'utilizzo dell'HPP in combinazione con altri sistemi utilizzati per diminuire l'utilizzo di sale e additivi sintetici (atmosfera modificata, utilizzo di estratti naturali...) con valori e tipologie di carni diverse per valutarne in maniera più completa ed esaustiva gli effetti sul prodotto finito con l'obiettivo comune di ottenere delle etichette pulite mantenendo le caratteristiche chimico-fisiche, qualità sensoriale e microbica della carne cruda e lavorata, che può essere stabilita migliorando il colore, la consistenza e il sapore, oltre a diminuire l'ossidazione di lipidi e proteine.

### 3.2.3 SICUREZZA MICROBICA DEL TRATTAMENTO AD ALTA PRESSIONE

I trattamenti HPP non solo migliorano la qualità degli alimenti, ma garantiscono anche la sicurezza, inattivando microrganismi e virus. Tuttavia, i parametri del processo sono molto variabili a seconda dell'alimento, dei tipi di organismi, della popolazione e della loro resistenza.

Il sale è un ingrediente chiave utilizzato nella produzione di prosciutto crudo per prevenire il deterioramento microbico o enzimatico, la solubilizzazione delle proteine, ridurre l'attività dell'acqua ed esaltare il sapore. I consumatori richiedono prodotti con un contenuto di sale e grassi sempre più ridotto, comportando problemi dal punto di vista tecnologico e microbiologico. L'HPP (600Mpa per 6 minuti) ha ridotto di 1,7/2 unità logaritmiche di microrganismi, (tra cui batteri mesofili aerobi, psicrotrofi, *Enterobacteriaceae*, batteri lattici, enterococchi, *Micrococcaceae*, stafilococchi coagulasi-positivi, lieviti e muffe nel prosciutto crudo ([81]. Gli studiosi hanno potuto osservare che durante la conservazione per 5 mesi a 4°C si è visto che il microbiota si è ripreso in modo significativo, ma i livelli sono rimasti notevolmente inferiori rispetto ai campioni di controllo (0,5-1,3 unità logaritmiche) [13]. Studi recenti si sono concentrati principalmente sull'inattivazione di *L.monocytogenes*, *E. coli* produttore della tossina Shiga (STEC), and *Campylobacter jejuni* utilizzando il trattamento ad alta pressione nei prodotti a base di carne.

Dopo svariati studi effettuati per la valutazione dell'effetto antimicrobico del trattamento

ad alta pressione, secondo la letteratura scientifica, questa tipologia di trattamento dovrebbe essere convalidato per la sua efficacia contro i microrganismi resistenti alla pressione, come le spore patogene. Oltre al sale, ad alcune salsicce stato aggiunto uno 0,02% di nitrito per controllare efficacemente le cellule vegetative e le spore, in particolare del *Clostridium perfringens*, mentre ad altre non è stato aggiunto alcun additivo perché trattate con l'HPP (600Mpa per 3 minuti) in combinazione con dell'aceto bianco distillato a base di estratto di tè al gelsomino. Il risultato ottenuto è stato molto incoraggiante perché c'è stata una riduzione delle cellule vegetative di *C.perfringens* (4,8 unità log) e delle spore dello stesso (2,8 unità log) senza effetti negativi osservati sulla qualità della carne (pH, attività dell'acqua e masticabilità) rispetto alle salsicce che presentavano il nitrito di sodio [10].

### **3.3 CONCLUSIONI SULL'HPP**

I prodotti a base di carne sono stati sottoposti a ostacoli sufficienti per eliminare o ridurre la presenza di microrganismi patogeni o si deterioramento. Gli studi che si stanno effettuando sul trattamento ad alta pressione sta contribuendo l'uso di antimicrobici naturali (batteriocine e composti bioattivi vegetali) e di antiossidanti (estratti vegetali).

L'utilizzo dell'HPP è ancora in fase di studio, ma si è visto che può essere utilizzata con una pressione compresa le 200 e le 600Mpa) in combinazione con gli additivi o conservanti naturali può sostituire quelli artificiali o sintetici, emulsionanti e conservanti che sono controversi tra i consumatori diminuendo la lista degli ingredienti e rendendo le etichette più pulite. Tuttavia, l'utilizzo dell'HPP presenta ancora delle criticità legate soprattutto ai trattamenti da adottare. Questi devono sono ancora oggetto di approfondimenti e ulteriormente valutazioni per ottimizzarli e renderli sempre più efficienti dal punto di vista della sicurezza alimentare senza compromettere le qualità e caratteristiche chimico fisiche dei prodotti a base di carne [10].

## **CAPITOLO 4 - CONCLUSIONE**

Il settore alimentare sta conoscendo da qualche anno un profondo cambiamento dal momento che l'attenzione dei consumatori non è più solamente esclusivamente sul prodotto che acquistano ma anche sulle modalità di produzione (packaging, qualità delle materie prime, effetti salutistici e impatto ambientale). Questo significa che è in aumento la richiesta di prodotti più

salutari e soprattutto che ci sia una maggior trasparenza da parte del produttore nell'informare il consumatore stesso su origini e trattamenti ricevuti dalle materie prime.

Anche l'industria della carne non è esente da questo cambiamento sociale e di conseguenza si devono trovare delle alternative che vadano incontro ai consumatori. L'utilizzo di additivi naturali al posto di quelli sintetici sta cominciando ad essere una pratica sempre più presente in questo settore ma non si è ancora trovata una soluzione definitiva per eliminare i conservanti artificiali.

Gli studi si stanno concentrando proprio per ottenere prodotti che siano più naturali, di qualità e allo stesso tempo sicuri da un punto di vista nutrizionale e microbiologico; una sfida che implica dei processi produttivi e di confezionamento differenti per ottenere prodotti che abbiano un impatto ambientale minore e che possano essere conservati più a lungo.

## RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. Alzaidi Mohammed Awad, Pavan Kumar et.al. (2022). Overview of plant extracts as natural preservatives in meat;
2. Gonçalves, L. A., Lorenzo, J. M., & Trinidad, M. A. (2021). Fruit and agro- industrial waste extracts as potential antimicrobials in meat products: A brief review. *Food*, 10, 1469;
3. Shakil, M.H.; Trisha, A.T.; Rahman, M.; Talukdar, S.; Kobun, R.; Huda, N.; Zzaman, W. Nitrites in Cured Meats, Health Risk Issues, Alternatives to Nitrites: A Review. *Foods* 2022
4. Gonçalves, L. A., Lorenzo, J. M., & Trindade, M. A. (2021). Fruit and agro- industrial waste extracts as potential antimicrobials in meat products: A brief review. *Food*, 10, 1469;
5. Didier Majoua, Souad Christeians. Mechanisms of the bactericidal effects of nitrate and nitrite in cured meats review;
6. Gassara, F.; Kouassi, A.P.; Brar, S.K.; Belkacemi, K. Green alternatives to nitrates and nitrites in meat-based products—A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2016;
7. European Food Safety Authority, 2017;
8. Whalin, J. G., Liu, L., Rankin, S. A., Zhang, W., & Richards, M. P. (2022). Color stability and lipid oxidation in pork sausage as affected by rosemary extract and phospholipase A2: A possible role for depletion of neutral lipid hydroperoxides. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46, e15997;
9. Zhang, H., Peng, X., Li, X., Wu, J., & Guo, X. (2017). The application of clove extract protects Chinese style sausages against oxidation and quality deterioration. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 37(1), 114– 122;
10. Ume Roobab, Abdul Waheed Khan, et al. (2021). A systematic review of clean-label alternatives to synthetic additives in raw and processed meat with a special emphasis on high-pressure processing.
11. Coll-Brasas, E., Arnau, J., Gou, P., Lorenzo, J. M., García-Pérez, J. V., & Fulladosa, E. (2019). Effect of high-pressure processing temperature on dry-cured hams with different textural characteristics;
12. Jia, G., Orlien, V., Liu, H., & Sun, A. (2021). Effect of high-pressure processing of pork (*Longissimus dorsi*) on changes of protein structure and water loss during frozen storage.
13. Martínez-Onandi, N., Sánchez, C., Nuñez, M., & Picon, A. (2019). Microbiota of Iberian dry-cured ham as influenced by chemical composition, high-pressure processing and prolonged refrigerated storage.