Utjecaj različitih postupaka dimljenja na sadržaj policikličkih aromatskih ugljikovodika (PAH) u domaćoj dimljenoj suhoj slanini

Markovčić, Mateo

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:260633

Rights / Prava: Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerada 4.0 međunarodna

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

REPOZITORIJ PTFOS PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK dabar

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology Osijek

zir.nsk.hr

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

Mateo Markovčić

UTJECAJ RAZLIČITIH POSTUPAKA DIMLJENJA NA SADRŽAJ POLICIKLIČKIH AROMATSKIH UGLJIKOVODIKA (PAH) U DOMAĆOJ DIMLJENOJ SUHOJ SLANINI

DIPLOMSKI RAD

Osijek, srpanj, 2021.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za prehrambenu tehnologiju
Katedra za tehnologiju mesa i ribe
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

Diplomski sveučilišni studij Prehrambeno inženjerstvo

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Nastavni predmet: Autohtoni mesni proizvodi
Tema rada je prihvaćena na 7. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2020./2021. održanoj 29. travnja 2021..
Mentor: izv. prof. dr. sc. Krešimir Mastanjević
Komentor: Dr. sc. *Brankica Kartalović*, znan. sur.

Utjecaj različitih postupaka dimljenja na sadržaj policikličkih aromatskih ugljikovodika (PAH) u domaćoj dimljenoj suhoj slanini

Mateo Markovčić, 0113139111

Sažetak:
Cilj ovog istraživanja je utvrditi koncentracije 16 PAH-ova (PAH16) (naftalen, acenaften, acenaftilen, fluoren, antracen, fenantren, fluoranten, piren, benzantracen, krizen, benzo[b]fluoranten, benzo[k]fluoranten, benzo[a]piren, indeno[1,2,3-cd]piren, dibenzo[ah]antracen, benzo[ghi]perilen) u domaćoj dimljenoj slanini dimljenoj iznad otvorenih ložišta (tradicionalno dimljenje) i dimogeneratorom sa zagrijanom pločom (industrijsko dimljenje). U uzorcima domaće dimljene suhe slanine dokazana je prisutnost 11 od 16 analiziranih PAH-ova (Nap, Anl, Ane, Fln, Ant, Phen, Flt, BaA, Pyr, BbF, BkF) kod tradicionalnog dimljenja i 2 od 16 PAH-ova (Nap, Anl) kod industrijskog dimljenja. Koncentracije PAH4 (benz[a]antracena, benzo[a]pirena benzo[b]fluorantena i krizena) u uzorcima dimljenim tradicionalnim postupkom iznosile su 14,84 µg/kg,u sredini, 10,60 µg/kg na površini i 17,37 µg/kg u koži, dok su kod industrijskog dimljenja bile ispod razine kvantifikacije (<LOQ) . Koncentracija kancerogenog, benzo[a]pirena je bila niža od razine kvantifikacije (<LOQ) u svim ispitivanim uzorcima. Rezultati ovog istraživanja upućuju na zaključak da je konzumacija tradicionalno i industrijski dimljene domaće slanine nije štetna za ljudsko zdravlje.

Ključne riječi: Policiklički aromatski ugljikovodici, domaća dimljena suha slanina, tradicionalno dimljenje

Rad sadrži: 48 stranica
4 slika
9 tablica
0 priloga
43 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:

1.	prof. dr. sc. *Dragan Kovačević*	predsjednik
2.	izv. prof. dr. sc. *Krešimir Mastanjević*	član-mentor
3.	dr. sc. *Brankica Kartalović*, znan. sur.	član-komentor
4.	prof. dr. sc. *Marko Jukić*	zamjena člana

Datum obrane: 14. srpnja 2021.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of Food Technologies
Subdepartment of Technology of Meat and Fish
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

Graduate program Food engineering

Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food technology
Course title: Indigenous Meat Products
Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. 7. held on April 29th, 2021.
Mentor: *Krešimir Mastanjević*, PhD, associate prof.
Co-mentor: *Brankica Kartalović*, PhD

The Influence of Various Smoking Procedures on the Content of Polycyclic Aromatic Carbohydrates (PAH) in the Traditional Dry Cured Smoked Bacon

Mateo Markovčić, 0113139111

Summary:
The goal of this study was to determine the concentrations of 16 PAHs (PAH16) (naphthalene, acenaphthene, acenaphthylene, fluorene, anthracene, phenanthrene, fluoranthene, pyrene, benzanthracene, chrysene, benzo[b]fluoranthene, benzo[k]fluoranthene, benzo[a]pyrene, indeno[1,2,3-cd]pyrene, dibenzo [ah] anthracene, benzo[ghi]perylene) in traditionally smoked bacon over open fire and industrially smoked on a smoke generator with heated plate. In the samples of traditionally smoked dry cured bacon the presence of 11 out of 16 analyzed PAHs (Nap, Anl, Ane, Fln, Ant, Phen, Flt, BaA, Pyr, BbF, BkF) and 2 out of 16 (Nap, Anl) in industrial smoking were determined. Concentrations of PAH4 (BaA, BaP BbF, Chry) in traditionally smoked bacon are 14,84 µg/kg in the middle, 10,60 µg/kg on the surface and 17,37 µg/kg in the skin, while in industrial smoking they were below the level of quantification (<LOQ). The concentration of carcinogenic BaP was lower than the <LOQ in all samples. The results of this research concludes that consumption of domestic bacon is not harmful to human health.

Key words: Polycyclic aromatic carbohydrates, traditional smoking, dry cured smoked bacon

Thesis contains: 48 pages
4 figures
9 tables
0 supplements
43 references

Original in: Croatian

Defense committee:

1. *Dragan Kovačević*, PhD, full prof. — chair person
2. *Krešimir Mastanjević,* PhD, associate prof. — supervisor
3. *Brankica Kartalović*, PhD — co-supervisor
4. *Marko Jukić*, PhD, full prof. — stand-in

Defense date: July 14th, 2021.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

Sadržaj

1. UVOD 1
2. TEORIJSKI DIO 3
   2.1. OPIS PROIZVODA 4
   2.2. TEHNOLOGIJA PROIZVODNJE DOMAĆE DIMLJENE SUHE SLANINE 6
      2.2.1. SIROVINE ZA PROIZVODNJU 7
      2.2.2. TEHNOLOGIJA PROIZVODNJE SIROVINE 12
      2.2.3. DIMLJENJE, SUŠENJE I ZRENJE DOMAĆE DIMLJENE SUHE SLANINE 14
   2.3. POLICIKLIČKI AROMATSKI UGLJIKOVODICI (PAH) 17
      2.3.1. KANCEROGENOST POLICIKLIČKIH AROMATSKIH UGLJIKOVODIKA 18
      2.3.2. METODE ODREĐIVANJA POLICIKLIČKIH AROMATSKIH UGLJIKOVODIKA 21
3. EKSPERIMENTALNI DIO 23
   3.1. ZADATAK RADA 24
   3.2. MATERIJALI I METODE 24
      3.2.1. PRIPREMA UZORAKA I DIMLJENJE 24
      3.2.2. ODREĐIVANJE FIZIKALNO-KEMIJSKIH SVOJSTAVA DOMAĆE DIMLJENE SUHE SLANINE 25
      3.2.3. ODREĐIVANJE KOORDINATA BOJE U CIE-L*a*b* SUSTAVU 25
      3.2.4. ODREĐIVANJE PROFILA TEKSTURE 26
      3.2.5. ODREĐIVANJE POLICIKLIČKIH AROMATSKIH UGLJIKOVODIKA 27
      3.2.6. STATISTIČKA OBRADA REZULTATA 29
4. REZULTATI 30
5. RASPRAVA 33
6. ZAKLJUČCI 36
7. LITERATURA 38

Popis oznaka, kratica i simbola

PAH	policiklički aromatski ugljikovodici
PAH4	zbroj benz[a]antracena, krizena, benzo[b]fluorantena i benzo[a]pirena
PAH16	zbroj ispitivanih 16 PAH spojeva
NN	Narodne novine
MP	Ministarstvo poljoprivrede
T	temperatura
t	vrijeme
Rh	relativna vlažnost zraka
PSS	sindrom stresne osjetljivosti
PUFA	polinezasićene masne kiseline
Mb	mioglobin
NaP	naftalen
Anl	acenaftilen
Fln	fluoren
Ant	antracen
Phen	fenantren
Flt	fluoranten
Ane	acenaften
Pyr	piren
BaA	benzo[a]antracen
BbF	benzo[b]fluoranten

BkF	benzo[k]fluoranten
Chry	krizen
BaP	benzo[a]piren
BghiP	benzo[g,h,i]perilen
DahA	dibenzo[a,h]antracen
InP	indenol[1,2,3-c,d]piren
LOQ	limit kvantifikacije
LOD	limit detekcije
EPA	Američka agencija za zaštitu okoliša
BMV	blijedo, mekano, vodnjikavo meso
EPA	Američka agencija za zaštitu okoliša
TČS	tamno, čvrsto, suho meso
a_w	aktivitet vode
IARC	Međunarodna agencija za istraživanje raka
GC	plinska kromatografija
HPLC	tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti
SFC	superkritična tekućinska kromatografija
CE	kapilarna elektroforeza
MS	masena spektrometrija
AOAC	Association of Official Analytical Chemists

1. UVOD

Tijekom povijesti i razvoja civilizacije stvarala se potreba za očuvanjem hrane. Ljudi su tako tijekom povijesti najvjerojatnije slučajno otkrili i dalje razvijali razne metode konzerviranja hrane, uključujući soljenje, zrenje, dimljenje i sušenje. (M. U. H. Joardder, M. Hasan Masud, 2019.).

U današnje vrijeme navedene metode konzerviranja hrane se upotrebljavaju zajedno tijekom proizvodnje jednog proizvoda, a to se još naziva konzerviranje preprekama. Upotrebom više metoda konzerviranja u jednom tehnološkom procesu stvara se proizvod s produženim vijekom trajanja. Osnovni cilj navedenih postupaka je dobivanje mikrobiološki ispravne hrane. Osim toga, dolazi i do promjena senzorskih svojstava u odnosu na svježu sirovinu koja se upotrebljava u proizvodnji. Nadalje, obraća se pozornost na nastajanje potencijalno zdravstveno štetnih supstanci koje nastaju tijekom termičke obrade pri visokim temperaturama, a to se prvenstveno odnosi na postupak dimljenja kada nastaju i policiklički aromatski ugljikovodici, koji mogu imati kancerogeno i genotoksično djelovanje na ljudski organizam (Knežević i sur., 2010.).

Policiklički aromatski ugljikovodici (PAH) su aromatski ugljikovodici koji sadrže više jezgara, te su sastavljeni od dvaju ili više kondenziranih benzenskih prstena, dok ti kondenzirani benzenski prstenovi dijele dva ugljikova atoma. Kako benzen, tako su i policiklički aromatski ugljikovodici građeni isključivo od atoma ugljika i vodika, i time se svrstavaju u organske spojeve. Iako mehanizam nastajanja nije u potpunosti definiran, smatra se da nastaju djelomičnim sagorijevanjem organske tvari (kod sušenja je to drvo), odnosno pirolizom i pirosintezom.

Domaća dimljena suha slanina jedan je od tradicionalnih mesnih proizvoda na području istočne Hrvatske. Proizvodi se tradicionalnim načinom postupcima soljenja i dimljenja prilikom čega dolazi do kontaminacije policikličkim aromatskih ugljikovodicima. Iako PAH-ovi predstavljaju zdravstveni rizik za potrošače, ovakva slanina prepoznata je kao privlačni gastronomski i turistički specijalitet.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. OPIS PROIZVODA

Prema Pravilniku o mesnim proizvodima NN 62/18 suha slanina definira se kao:

(1) Suha slanina je trajni suhomesnati proizvod koji se proizvodi od mišićnog i/ili masnog tkiva svinja, sa ili bez kože.

(2) Proizvod iz stavka 1. ovoga članka proizvodi se postupkom soljenja ili salamurenja, uz mogućnost dodatka drugih začina ili začinskog bilja i njihovih ekstrakata.

(3) Proizvod iz stavka 1. ovoga članka podvrgava se procesima sušenja i zrenja sa ili bez provedbe postupka dimljenja (MP, 2018.).

Međutim, detaljniji i točniji opis glasi da je domaća dimljena suha slanina tradicionalni trajni suhomesnati proizvod koji se proizvodi na području Slavonije (istočni dio Republike Hrvatske). Proizvod je pravokutnog oblika i proizvodi se od svinjske potrbušine sa masnim i mišićnim tkivom te kožom. Proizvodi se procesom soljenja ili salamurenja bez dodatka drugih začina, hladnim dimljenjem, nakon čega slijede postupci sušenja i zrenja uz provedbu dimljenja.

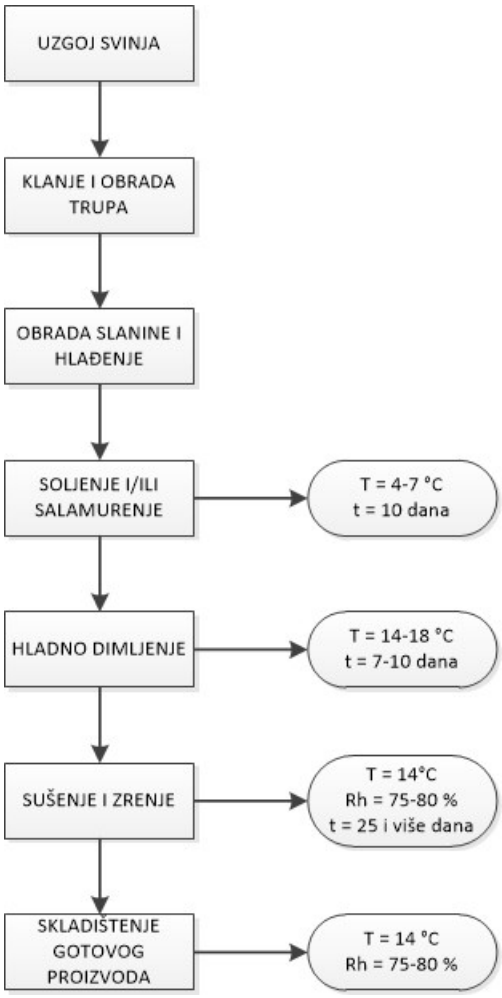
Kao sirovina koristi se rashlađeni svježi trbušno-rebreni dio svinja (potrbušina). Mesnata slanina koja se upotrebljava dio je svinjskog grudnog koša s pripadajućim dijelom trbušnog zida. Sirovina treba biti bez kosti, ali je moguć ostatak hrskavica (iako se nastoji sve ukloniti). Temperatura pripremljene sirovine neposredno prije soljenja, odnosno salamurenja mora biti na temperaturama 0 do +7 °C.

Domaća dimljena suha slanina je trajni suhomesnati proizvod pravilno oblikovan u pravokutan oblik, bez zasjekotina, drugih oštećenja i dijelova koji vise. Koža osušenog proizvoda je tvrda i bez većih nabora, dok boja površine varira od svijetlo-smeđe (koža) do tamnije smeđe (mesnati dijelovi). Proizvod u presjeku treba biti čvrste i elastične konzistencije, ali ne smije biti žilav te mora održavati kompaktnu strukturu. Gotov proizvod se mora lagano narezivati. Na presjeku se jasno mora vidjeti prošaranost, odnosno izmjena masnog i mesnog tkiva.

Mesno tkivo u presjeku treba biti ujednačene crvene boje karakteristične za sušene i dimljene proizvode. Masno tkivo mora biti bijele boje, dok na rubovima smije biti svijetlo žute do žute boje koja je direktna posljedica procesa dimljenja. Okus i aroma trebaju biti svojstveni za navedeni proizvod, okus je slan, a aroma karakteristična za dimljene trajne suhomesnate proizvode od mesa svinja (Kovačević, 2001.).

2.2. TEHNOLOGIJA PROIZVODNJE DOMAĆE DIMLJENE SUHE SLANINE

Proizvodnja domaće dimljene suhe slanine odvija se na tradicionalan način koji obuhvaća jedinične operacije soljenja, hladnog dimljenja, sušenja i zrenja. Minimalno vrijeme trajanja postupka prerade (bez uzgoja i klanja) bi trebao biti minimalno 45 dana ovisno o težini pripremljene sirovine (sirove svinjske potrbušine).



Slika 1. Shematski prikaz proizvodnje domaće dimljene suhe slanine

2.2.1. SIROVINE ZA PROIZVODNJU

Sve pasmine domaćih svinja koje se trenutno koriste za uzgoj potiču su iz dvije izvorne vrste: europske divlje svinje – šiška (*Sus scrofa* ferus) i azijske divlje svinje (*Sus vittatus*). Kako bi se dobila željena sirovina, a time i željeni proizvod koji će udovoljavati postavljenim kriterijima kvalitete, potrebno je uzgojiti odgovarajuću pasminu svinja. Najčešće pasmine svinja koje se koriste u proizvodnji su plemenite (mesnate) pasmine: švedski landras, veliki jorkšir, američki durok (izrazito mesnata pasmina). Moguće je križanje navedenih pasmina kako bi se poboljšala proizvodna svojstva, ali je značajno narušena konstitucija i povećana sklonost stresu – svinje posjeduju sindrom stresne osjetljivosti (PSS), koji je uvjetovan pozitivnim takozvanim „halotan" genom; te pojavi BMV mesa (blijedo, mekano, vodenasto) (Kovačević, 2004.). Najčešći križanci su potomci pasmina landras (mužjak) i veliki jorkšir (ženka), te se dobije takozvani „dvostruki" križanac koji se može razmnožavati s američkim durokom (mužjak) kako bi se dobio „trostruki" križanac. Mesnate (plemenite) pasmine svinja odlikuju se dobrom mesnatosti i mramoriranošću mesa (intramuskularno masno tkivo u mišićima) čime meso ima nježniju teksturu, veću sočnost i boljeg je ukusa.

Masne (primitivne) pasmine svinja mogu imati slaninu debljine do 8 cm, što se ne preporuča zbog senzorskih svojstava zbog većeg udjela masnog tkiva. Osim toga, PAH-ovi su topivi u mastima, stoga se može očekivati njihova veća koncentracija u gotovom proizvodu. Ostala paminska svojstva su kratko tijelo i zdepasti oblik tijela, kratak i debeo vrat, zaobljena prsa te velika i široka glava. Osim nedovoljno količine mesa i prekomjerne količine masnoće, negativna karakteristika ovih pasmina je niska plodnost koja varira 5 do 7 jedinki po leglu. Prema istraživanju iz 2003. godine koje su proveli Đikić i suradnici, omjer masnog i mišićnog tkiva u svinjskom trupu turopoljske svinje iznosi 1:1 zbog čega je proizvodnja takve svinje neprofitabilna. Najzastupljenije masne pasmine svinja u Hrvatskoj su mangulica, krškopoljska svinja, bagun i turopoljska svinja (Kralik, 2007.).



Slika 2. Mangulica (https://www.jutarnji.hr/vijesti/hrvatska/je-li-ova-cupava-domaca-zivotinja-kljuc-nove-renesanse-naseg-stocarstva-njezino-se-meso-u-njemackoj-i-svicarskoj-prodaje-i-po-60-eura-za-kilogram-6176651)

Mesnato-masne pasmine koje se još nazivaju prijelazne pasmine svinja, pogodne su za poluintenzivan uzgoj, a samim time su i odlična sirovina za proizvodnju autohtonih mesnih proizvoda. Kao primjer mesnato-masne, odnosno prijelazne pasmine svinja, na području Hrvatske najpoznatija je crna slavonska svinja. U trenutku postizanja mase od 95 do 110 kg ima dobru tovnost i mesnatost. Međutim, prilikom dostizanja mase od 120 do 140 kg, udio masnog tkiva u polovicama se kreće od 40 do 45%. Korištenjem ove pasmine mogu se popraviti konstitucijska svojstva i kvaliteta mesa (prvenstveno intramuskularno masno tkivo) mesnatih pasmina svinja (Kovačević, 2004.). U istraživanju koje su proveli Karolyi i suradnici, kako bi se poboljšali plodnost i mesnatost pasmine, predlaže se križanje s produktivnijim pasminama poput duroka. Pri tome bi se očuvala kakvoća mesa i njegova karakteristična svojstva poput većeg udjela intramuskularne masti.



Slika 3. Crna slavonska svinja (https://compas.com.hr/clanak/1/1732/prvom-cvarkijadom-prezentirane-mogucnosti-uzgoja-crne-slavonske-svinje.html)

Mesnate, odnosno plemenite pasmine svinja predstavljaju najbrojniji proizvodni tip svinja u svijetu. Najznačajniji predstavnici ove skupine svinja su veliki jorkšir, njemačka plemenita svinja, danski landras, njemačka oplemenjena svinja, švedski landras i nizozemski landras. Ove pasmine svinja odlikuju se dobrom plodnošću, tovnošću i mesnatošću, dok se kao glavni nedostaci navode slabija konstitucija praćena sklonošću stresa i nastanka BMV mesa. Karakteriziraju ih razvijen i mišićav vrat te dobro razvijeni butovi i leđni dio trupa.Nastanak i uzgoj izrazito mesnatih pasmina svinja datira nakon 1. svjetskog rata. Karakterizira ih najveća mesnatost u odnosu na druge pasmine, ali su neplodnije, manje otporne na vanjske čimbenike i posebice sklone stresu i nastanku BMV mesa. U ovu skupinu ubrajaju se belgijski landras, pietren, hampšir, durok, kineske pasmine i njemački landras. Ova skupina svinja se koristi u programima križanja zbog visoke mesnatosti, posebice kao terminalne očinske pasmine u tropasminskom križanju ili za proizvodnju nerasta u četveropasminskom križanju (Kovačević, 2004.).



Slika 4. Durok (https://www.dewsburyspork.com.au/page/our-breeds/)

Prilagođeni podaci koji opisuju udjele pojedinih tkiva i klaoničku vrijednost crne slavonske svinje, mangulice i „Hypor" hibrida svinje prikazani su u *tablici 1*. Dodatno je prikazan i kemijski sastav *musculus longissimus dorsi*-ja (Kralik, 2007.).

Tablica 1. Usporedba udjela pojedinih tkiva i klaoničkih vrijednosti različitih pasmina svinja (Kralik, 2007.)

POKAZATELJ	MANGULICA	CRNA SLAVONSKA SVINJA	HYPOR
Masa trupa, kg	80,11+-1,56	79,48+-2,41	78,27+-1,82
Mišićno tkivo, %	28,75+-0,65	32,59+-1,31	57,57+-2,25
Masno tkivo, %	51,89+-1,02	48,56+-1,57	24,11+-2,13
Kosti, %	9,55+-0,47	9,94+-0,84	10,11+-0,73
Manje vrijedni dijelovi, %	9,81+-0,63	9,31+-0,79	8,18+-0,62
Kemijski sastav MLD-a			
Bjelančevine, %	20,65+-0,83	20,70+-0,71	23,53+-1,41
Masti, %	8,21+-1,44	7,86+-1,09	2,23+-1,41
Voda, %	70,14+-0,90	70,36+-0,76	73,12+-1,01
Pepeo, %	1,00+-0,99	1,08+-0,08	1,12+-0,05

Prikazani rezultati su srednja vrijednost ± standardna devijacija.

Uz pravilan odabir pasmine svinja, za kvalitetnu sirovinu bitan je i sustav držanja svinja. Osnovna podjela su otvoreni, zatvoreni i poluotvoreni sustav držanja. Otvoreni sustav držanja karakterizira slobodno kretanje svinja i noćenje te smještaj tijekom zime u provizorno izgrađenim objektima. Ovakav način uzgoja primjereniji je gospodarstvima koji upravljaju većim zemljanim površinama, a što posljedično omogućuje jeftiniju proizvodnju svinja. Otvoreni sustav uzgoja većinom se prakticira u ekstenzivnoj i ekološkoj proizvodnji pasmina koje tradicionalno potječu s uzgojnog područja na kojemu se nalazi gospodarstvo. Stoga se preferira uzgoj primitivnih pasmina i izbjegavaju se pasmine koje su podložne stresu i neočekivanom uginuću te pojave tamnog, čvrstog i suhog (TČS) mesa ili blijedog, mekanog i vodenog (BMV) mesa (Pavičić i sur., 2007.). U ishrani svinja dominira paša i ishrana žirom i ostalim plodovima samoniklog bilja ovisno o geografskom podneblju. Ispaša poboljšava kvalitetu i količinu intramuskularne masti, povećava sadržaj linolenske kiseline i utječe na povoljniji odnos polinezasićenih masnih kiselina (PUFA), prvenstveno linolenske kiseline (n-3) i linolne kiseline (n-6) (Kralik, 2007.).

Poluotvoreni sustav uzgoja karakteriziraju obilježja i otvorenog i zatvorenog tipa uzgoja – trajne građevine koje služe kao nastambe, pogotovo tijekom zimskih dana te čvrsto građeni ispusti. Ispusti su vratima povezani sa trajnim nastambama i omogućavaju kretanje i obavljanje nužde (tzv. prljavi predio nastambe). Hranjenje se može obavljati u oba dijela nastambe. Ovakav tip uzgoja najadekvatniji je za uzgoj svinja na farmama manjeg kapaciteta, a najviše se primjenjuje za držanje suprasnih krmača i nazimica (Brzinej, 1991., Kralik, 2007.).

Zatvoreni sustav uzgoja najčešći je tip intenzivnog i suvremenog uzgoja svinja. Osnovna je svrha intenzivno iskorištavanje svinja. Intenzivna proizvodnja svinja zasniva se na biološkom (kružnom) redoslijedu reprodukcije: pripust, suprasnost, prašenje, uzgoj prasadi i podmlatka (ili tov svinja). Sve te korake je potrebno skratiti kako bi se povećala produktivnost rada i snizila cijena investicije po grlu. Karakteristično za ovaj način uzgoja je držanje svinja na maloj površini bez utjecaja prirodnih uvjeta (temperatura, vremenski uvjeti, sunce itd.) koji se nadoknađuju određenim načinom hranidbe, uzgojnim i preventivnim zdravstvenim mjerama. Zatvoreni sustav uzgoja dovodi do povećanja ekonomičnosti proizvodnje, a odnosi se na bolju konverziju hranjivih tvari i veći prirast, skraćeno vrijeme tovljenja, a kvaliteta mesa je zadovoljavajuća (iako manje kvalitete od svinja uzgojenih u otvorenim sustavima držanja). Kako bi se povećao

sadržaj mioglobina (Mb) i posljedično poboljšala boja mesa, koristi se uzgoj na dubokoj stelji (Kovačević, 2017., Kralik, 2007., Brzinej, 1991.).

2.2.2. TEHNOLOGIJA PROIZVODNJE SIROVINE

KLANJE I OBRADA TRUPA

Prema Uredbi Vijeća (EZ-a) br. 1099/2009, životinje se moraju poštedjeti svake nepotrebne boli ili patnje tijekom usmrćivanja, životinje se mogu usmrtiti tek nakon omamljivanja u skladu s nekom od propisanih metoda. Propisane metode omamljivanja i usmrćivanja svinja uključuju mehaničke metode (Šermerov pištolj i vatreno oružje sa slobodnim projektilom), električne metode (primjena električne struje na području glave ili glave i tijela), plinske metode (ugljični dioksid u visokim koncentracijama, ugljični dioksid u smjesi s drugim inertnim plinovima, inertni plinovi) i druge metode poput injekcijske aplikacije sredstava za usmrćivanje. Termin klanja svinja ovisi o procjeni udjela mesnatog i masnog tkiva u trupu životinje, a ono se procjenjuje na bazi duljine polutke, odnosno dužine dugog leđnog mišića (*Musculus longissimus dorsi (M.L.D.)*) i prosječne debljine leđne slanine. Kod tradicionalne proizvodnje prvenstveno se gleda težina svinja, a na temelju toga će ovisiti veličina slanine i mesnatost.

Prema Pravilniku o kakvoći svinjskih trupova i polovica na klaonički obrađenim svinjskim polovicama automatski se utvrđuje udio mišićnog tkiva „metodom jedne točke“, i to na način:

S = debljina slanine s kožom u milimetrima, 7 cm postrano (lateralno) od središnje ravnine rasijecanja, mjereno u visini između drugog i trećeg rebra sa stražnje strane;

M = debljina slabinskog mišića u milimetrima istodobno i na istom mjestu kao i S.

Udio mišićnog tkiva u svinjskim polovicama računa se primjenom sljedeće matematičke formule:

Udio mišićnog tkiva (M%) = 47,978 + (26,0429 × S/M) + (4,5154 × M) – (2,5018 × log S) – (8,4212 × S).

Formula se odnosi za klaonički trup težine 50 do 120 kilograma (Kralik, 2007.).

OBRADA POTRBUŠINE I HLAĐENJE

Slaninu čine dio trbušnog zida i mišićno tkivo rebara (rebreno područje), tako se potrbušina odvaja rezovima kojima se rasijecaju but i slabina, dok se rebreno područje ne odvaja. Rebreno područje se odvaja od prsiju rezom između četvrtog i petog rebra prateći liniju rebrenih kostiju, a od leđa rezom kojim se rasijecaju leđa. Kosti rebara se odvajaju iz mišićnog tkiva, te se slanina dodatno obrađuje kako bi se postigli željeni oblik i masa sirovog proizvoda (Kovačević, 2001., Kralik, 2007.). dio trbušnog zida na kojemu se nalaze vimena se odstranjuju kako u slanini ne bi bile prisutne mliječne žlijezde (Knipe, 2014.). Najkritičniji dio proizvodnog postupka predstavlja pravilan odabir potrbušine s odgovarajućim omjerom udjela mišićnog i masnog tkiva koji bi trebao biti idealan, te samim time određuje sve daljnje postupke. Prema odabiru i obradi slanine ovisi težina sirove i osušene slanine, a ovisno o masi sirove slanine dodaje se određena količina soli.

SOLJENJE POTRBUŠINE

Postupak soljenja pripremljene i obrađene slanine vrši se suhim upotrebom čiste kamene ili morske soli. Druga opcija koja se više koristi je salamurenje pripremljene sirovine gdje se upotrebljava mješavina morske ili kamene soli i nitrata (kalijev i natrijev nitrat) ili nitrita (kalijev i natrijev nitrit), sa ili bez dodatka začina i pravilnikom dopuštenih aditiva. Sol za salamurenje najčešće čini morska sol (NaCl) i 3% natrijeva ili kalijeva nitrata. Za razliku od soli za salamurenje, nitritna sol za salamurenje sadrži morsku (ili kamenu sol) i dodatak 0,5 – 0,6 % nitrita izraženih kao natrijev nitrit ($NaNO_2$). dodatna mogućnost je upotreba nitritne soli za salamurenje s 1 % salitre koja sadrži morsku (ili kamenu) sol, 0,5 – 0,6 % nitrita izraženih kao $NaNO_2$ i 0,9 – 1,2 % salitre izražene kao natrijev nitrat ($NaNO_3$) (Kovačević, 2017.).

Tijekom soljenja i salamurenja temperatura salamure i prostorije trebaju biti u temperaturnom intervalu 4 do 7 °C (maksimalno 10 °C) i relativne vlažnosti zraka 85 do 90 %. Faza soljenja, odnosno salamurenja traje u prosjeku 10 dana (maksimalno 21 dan), a samo trajanje soljenja ovisi o veličini, to jest masi sirove slanine.

Nakon soljenja ili salamurenja, te prije dimljenja, potrebno je ukloniti višak soli koji se nalazi na slanini. Najčešće se obavlja mehaničkim putem (struganje) ili pranjem vodom. Ukoliko se

slanina pere vodom, potrebno je odsoljene slanine ostaviti nekoliko sati da se ocijede i osuše prirodnim putem pod utjecajem vanjskih čimbenika (vjetar i sunce).

2.2.3. DIMLJENJE, SUŠENJE I ZRENJE DOMAĆE DIMLJENE SUHE SLANINE

Nakon uklanjanja viška soli, slanina je spremna za fazu dimljenja. Najpogodniji način je hladno dimljenje na temperaturama 14 do 18 °C u trajanju 7 do 10 dana. Kao i kod ostalih suhomesnatih proizvoda, dimljenje se obavlja za vrijeme toplijih i suhih dana. Suprotno tome, za vrijeme hladnijih dana i dok je velika količina vlage u zraku, nije pogodno dimiti proizvode jer dolazi do duljeg zaostajanja dima u prostorijama za dimljenje. Posljedično, dolazi do promjene u senzorskim svojstvima gotovog proizvoda (tamniji rub, intenzivniji okus dima), te nakupljanja hlapivih spojeva podrijetlom iz drveta (tu se ubrajaju i PAH-ovi).

Djelovanje dima se očituje u zlatno-smeđoj boji proizvoda čiji su nosioci karbonilni spojevi nastali pirolizom hemiceluloze i fenolni spojevi nastali iz lignina (gvajakol, 4-metil gvajakol, siringol). Dim rezultira samo površinskim konzerviranjem, te time doprinosi okusu i mirisu proizvoda. Za dimljenje se koriste svijetli tipovi drveća, u prvom redu bukva i grab. Kod postupka dimljenja preporuča se nepotpuno izgaranje drveta, odnosno „tinjanje“ na temperaturama 275 do 350 °C uz sporo strujanje zraka i mali dotok kisika. Taj postupak se još naziva piroliza. Uz fenole, karbonilne i fenolne spojeve u manjim količinama nastaju i hlapiva ulja, terpeni, masne kiseline, ugljikovodici, alkoholi, formaldehidi, laktoni.

Reakcije koje su odgovorne za stvaranje boje su:

- nakupljanje čađi, katrana i fenolnih spojeva na površini proizvoda,
- polimerizacija sastojaka dima,
- Maillardove reakcije posmeđivanja (reakcija karbonilnih spojeva iz dima i aminokiselina u mesu),
- koagulacija proteina u veće agregate pomoću aldehida dima, što doprinosi većoj čvrstoći proizvoda, te većem lomu svjetlosti (Kovačević, 2017.).

U tradicionalnoj proizvodnji prevladava dimljenje na otvorenim ložištima, gdje se ložište nalazi u istoj prostoriji, te netom ispod proizvoda koji se dime. Kao modifikacije koje se koriste u

ovakvom načinu dimljenja su perforirani limovi nad ložištem kako bi se spriječila izravna izloženost dimu i toplini od ložišta, te dislociranje ložišta iz prostorije u kojoj se dime proizvodi. Takvim konstrukcijskim rješenjem snižava se temperatura dimljenja, dok se vlažnost dima regulira povremenim polijevanjem vodom komada drveća. Prema provedenom istraživanju (Krvavica, Milak, 2017.), panceta dimljena iz vanjskog ložišta s dimovodom, sadržavala je veću koncentraciju poželjnih metoksifenola koji posjeduju antimikrobna i antioksidativna svojstva.

Dimljenje se može vršiti i upotrebom dimnih generatora gdje se dim proizvodi izvan prostorije za sušenje, te se s njima postiže idealna temperatura sagorijevanja drveta (275 – 350 °C) (Kovačević, 2017.).

Dim prvenstveno ima dva učinka u proizvodnji:

- Antimikrobni učinak – baktericidan utjecaj uslijed više čimbenika (temperatura, dehidracija površine, antimikrobni učinak sastojaka dima). Brojna istraživanja su dokazala negativan učinak dima na mikroorganizme zbog složenog kemijskog sastava, međutim svi mehanizmi djelovanja nisu u potpunosti otkriveni. Fenoli imaju sposobnost denaturacije bjelančevina i stvaranja ruptura staničnih membrana što može dovesti do smrti stanice ili sprječavanja njenog razmnožavanja (Hui i sur., 2001., navedeno u Krvavica i sur., 2013.).
- Antioksidativni učinak – pretpostavlja se da fenoli imaju najizraženiji antioksidativni učinak, među kojima su najvažniji 4-metoksifenol, 4-etil-2-metoksifneol i 4-propenil-2-metoksifenol (Kjällstrand i Petersson, 2001., navedeno u Krvavica i sur., 2013.).

Po završetku dimljenja, slanina se podvrgava završnoj fazi proizvodnje – sušenju i zrenju. Ova faza traje 25 i više dana, odvija se na temperaturama u prosjeku 14 °C i pri relativnoj vlažnosti zraka (Rh) 75 do 80 %. Faza zrenja može se odvijati u istoj prostoriji u kojoj se proizvod i dimimo što je uobičajeno u tradicionalnoj proizvodnji, dok se u industrijskoj proizvodnji dimljena slanina premješta u zasebnu komoru za zrenje u kojoj vladaju optimalni uvjeti za zrenje.

Najznačajniji mehanizmi djelovanjem endogenih enzima koji se odvijaju tijekom zrenja su proteoliza proteina, odnosno mišićnog tkiva i lipoliza masnog tkiva.

Tijekom proteolize dolazi do razgradnje mišićnih proteina djelovanjem u prvom redu, enzima endopeptidaza – katepsina (B, D, H, L) i kalpaina (I i II), pri čemu nastaju oligopeptidni spojevi.

Daljnjom razgradnjom djelovanjem peptidaza nastaju manji peptidi. Dio peptida egzopeptidaznom aktivnošću (aminopeptidaze, karboskipeptidaze i dipeptidaze) na slobodne peptide nastaju slobodne aminokiseline koje se dalje u reakcijama dezaminacije i dekarboksilacije raspadaju na kiseline, amonijak, amine, aldehide i sulfide koji su nosioci mirisa. Drugi dio peptida je podvrgnut djelovanju egzopeptidaza (tripeptidilpeptidaze i dipeptidilpeptidaze) te nastaju mali peptidi koji su nosioci okusa u suhoj slanini (Kovačević, 2014.; Toldra, 2008.).

Lipolizu karakterizira razgradnja masnog tkiva (intermuskularno i potkožno masno tkivo), odnosno u prvom redu triacilglicerola i fosfolipida, te posljedično nastanak slobodnih masnih kiselina koje se mogu oksidirati na jednostavnije spojeve. Razgradnja triacilglicerola započinje aktivnošću enzima lizosomalnih kiselih i neutralnih lipaza, esteraza, hormon senzitivne lipaze i monoacilglicerol lipaze pri čemu nastaju mono- i diacilgliceroli. Daljnjim mehanizmom hidrolize fosfolipida enzimima fosfolipaze A1 i A2 nastaju slobodne aminokiseline. Trigliceridi iz adipoznog tkiva podliježu intenzivnoj lipolizi tijekom procesa soljenja i zrenja, te nastaju slobodne masne kiseline. Slobodne aminokiseline se nakupljaju u proizvodu gdje su podvrgnute procesu oksidacije prilikom čega nastaju prekursori arome i veliki broj hlapivih spojeva. Hlapivi spojevi (alifatski ugljikovodici, alkoholi, ketoni, aldehidi, furani, esteri, karboksilne kiseline te organski spojevi s dušikom i sumporom) nosioci su mirisa gotovog (zrelog) proizvoda. Dio nezasićenih masnih kiselina koje su podvrgnute reakcijama oksidacije tvore kratkolančane slobodne masne kiseline koje su odgovorne za okus proizvoda. Tijekom sušenja i zrenja dolazi do autooksidacije, a najvažniji supstrat predstavljaju fosfolipidi. U inicijalnoj fazi autooksidacije nastaju slobodni radikali nezasićenih masnih kiselina. Ti slobodni radikali mogu vezati kisik te formirati peroksidne radikale, dok on oduzima vodik iz metilenske skupine iz susjedne masne kiseline stvarajući hidroperoksid (primarni produkti autooksidacije). Hidroperoksidi nemaju okus i miris te su vrlo nestabilni spojevi zbog čega stupaju u reakciju s drugim kemijskim spojevima prilikom čega nastaju sekundarni produkti oksidacije poput spojeva koji su nositelji arome (alkoholi, aldehidi, ketoni i drugi), spojevi nositelji okusa ili koji omekšavaju teksturu (npr. buterna i kapronska masna kiselina). Nastali slobodni radikali aktivni su tijekom procesa propagacije što se može zaustaviti reakcijama s antioksidansima ili tijekom terminacije kada radikali međusobno reagiraju tvoreći stabilne komplekse (Kovačević, 2014.; Toldra, 2008.).

2.3. POLICIKLIČKI AROMATSKI UGLJIKOVODICI (PAH)

Policiklički aromatski ugljikovodici (PAH-ovi) su ubikvitarne (sveprisutne) komponente, odnosno pojavljuju se u vodi, zemlji i u zraku, ali i u namirnicama koje svakodnevno konzumiramo. Prirodno se pojavljuju tijekom šumskih požara i drugih oblika izgaranja drveta ili organskih materijala te tijekom vulkanskih erupcija. Uz te izvore moguće ih je naći i u dimu cigareta. Antropogenim djelovanjem, odnosno kao rezultat ljudskog djelovanja do nastanka PAH-ova dolazi tijekom procesa izgaranja u domaćinstvima i u industrijskim pogonima, u proizvodnji aluminija i koksa te ponajviše iz ispušnih plinova svih vrsta motora sa unutarnjim izgaranjem. U hranu dospijevaju iz okoliša, pri industrijskoj proizvodnji ili tijekom pripreme hrane u domaćinstvima. Najvećim dijelom nastaju ili dospijevaju u hranu tijekom dimljenja i sušenja te tijekom pečenja (roštiljanja) hrane (S.C. Gad, S.E. Gad, 2014., Wenzl i sur., 2018., Šarkanj i sur., 2010. IARC, 2010.).

PAH-ovi većinom nastaju kemijskom reakcijom pirolize gdje organska tvar izgara na visokoj temperaturi u odsustvu kisika. Najveće količine se stvaraju na temperaturama 400 do 700 °C (Murray i sur., 2018.). Kako pri povišenim temperaturama u procesu pirolize nastaju i djelomično razgrađeni organski spojevi, odnosno njihovi radikali koji su manje stabilni te oni međusobno reagiraju stvarajući stabilnije strukture, prvenstveno PAH-ove. Taj proces se naziva pirosinteza (Knežević i sur., 2010.).

Policiklički aromatski ugljikovodici spojevi su koji se sastoje od dvaju ili više kondenziranih benzenskih prstenova koji dijele dva zajednička ugljikova atoma. Dijele se na lake (2-4 prstena) i teške (više od 5 prstena) PAH-ove. Među lake PAH-ove koji su određivani svrstavaju se naftalen (NaP), acenaftilen (Anl), fluoren (Fln), antracen (Ant), fenantren (Phen), fluoranten (Flt), acenaften (Ane), piren (Pyr) i benzo(a)antracen (BaA). Teški PAH-ovi koji su kvantificirani su benzo(b)fluoranten (BbF) i benzo(k)fluoranten (BkF). Na sobnoj temperaturi su u krutom stanju i ova skupina ugljikovodika je najmanje hlapiva. Vrlo su topivi u lipidima zbog čega se lako apsorbiraju u proizvode koji se konzerviraju dimljenjem, pogotovo trajni suhomesnati proizvodi poput slanine, šunke, kobasice i drugih. Samim time što su topivi u lipidima, lako se apsorbiraju u probavnom traktu sisavaca. PAH-ove karakterizira visoke točke tališta i vrelišta, nizak tlak pare i vrlo niska topivost u vodi (topivost PAH-ova u vodi smanjuje se povećanjem broja benzenovih prstena). Nadalje, svaki izomer posjeduje svoj specifični spektar UV

apsorbancije koji omogućava njegovo lakše prepoznavanje. Predstavljaju veliku skupinu spojeva od kojih mnogi predstavljaju rizik za ljudsko zdravlje zbog toksičnih, mutagenih i karcinogenih svojstava (Wade, 2013., Purcaro i sur., 2016., Hussein i sur., 2015.).

Tablica 2. Policiklički aromatski ugljikovodici i kategorizacija PAH-ova

PAH	Puni naziv policikličkog aromatskog ugljikovodika	16 EPA PAH	PAH4	Analizirano u diplomskom radu
Nap	Naftalen	+		+
Anl	Acenaften	+		+
Ane	Acenaftilen	+		+
Fln	Fluoren	+		+
Phen	Fenantren	+		+
Ant	Antracen	+		+
Flt	Fluoranten	+		+
Pyr	Piren	+		+
BaA	Benzo(a)antracen	+	+	+
Chry	Krizen	+	+	+
BbF	Benzo(b)fluoranten	+	+	+
BkF	Benzo(k)fluoranten	+		+
BaP	Benzo(a)piren	+	+	+
InP	Indeno(1,2,3-cd)piren	+		+
DahA	Dibenzo(a,h)antracen	+		+
BghiP	Benzo(g,h,i)perilen	+		+

2.3.1. KANCEROGENOST POLICIKLIČKIH AROMATSKIH UGLJIKOVODIKA

Utjecaj na ljudsko zdravlje ponajviše ovisi o vrsti unosa i vremenu izloženosti, samoj toksičnosti PAH-ova te o količini kojom su ljudi izloženi. Kratkoročni učinci uključuju iritaciju ljudskih sluznica, očiju, mučninu, povraćanje ili dijareju. Dugoročnim, odnosno kroničnim izlaganjem može doći do smanjenja funkcionalnosti imunosnog sustava, oštećenja jetre i bubrega, respiratornih problema koji uključuje simptome slični astmi i abnormalnosti u radu pluća. Provedena epidemiološka istraživanja dokazala su da postoji povećani rizik od razvitka raka (Hussein i sur., 2018., Murray i sur., 2018.). Nadalje, PAH-ovi se smatraju jednim od glavnih uzročnika nastanka karcinoma pluća i kože. Prema istraživanju koje su proveli Perera i sur.

(2012.) pokazalo se da PAH spojevi mogu dovesti do neželjenih komplikacija tijekom trudnoće poput nedovoljne mase novorođene bebe i malformacija srca. U prenatalnom periodu visoka izloženost PAH-ovima povezana je i s nižim IQ kod djece do 3 godine starosti.

Međunarodna agencija za istraživanje raka (IARC) definirala je 6 najčešćih i najbitnijih policikličkih aomatskih ugljikovodika (6 IARC PAH) zbog njihove potencijalne kancerogenosti – BaA, BaP, BbF, BkF, IcP i DhA. Osim toga, IARC klasificira sve PAH spojeve u više grupa na temelju njihove kancerogenosti na čovjeka:

- Grupa 1 – kancerogeni spojevi (*carcinogenic to humans*)
- Grupa 2A – vjerojatno kancerogeni spojevi (*probably carcinogenic to humans*)
- Grupa 2B – moguće kancerogeni spojevi (*possibly carcinogenic to humans*)
- Grupa 3 – spojevi koji nisu klasificirani kao kancerogeni (*not classifiable as to its carcinogenicity to humans*)
- Grupa 4 – vjerojatno ne kancerogeni spojevi (*probably not carcinogenic to humans*) (IARC, 2010.).

Tablica 3. Podjela policikličkih aromatskih ugljikovodika prema kancerogenosti (IARC, 2010.)

Policiklički aromatski ugljikovodik (PAH)		**IARC skupine kancerogenosti**
Benzo(a)piren	BaP	**1**
Dibenzo(a,h)antracen	DahA	**2A**
Naftalen	Nap	**2B**
Benzo(a)antracen	BaA	
Krizen	Chry	
Benzo(b)fluoranten	BbF	
Benzo(k)fluoranten	BkF	
Indeno(1,2,3-cd)piren	InP	
Acenaften	Ane	**3**
Fluoren	Fln	
Fenantren	Phen	
Antracen	Ant	
Fluoranten	Flt	
Piren	Pyr	
Benzo(g,h,i)perilen	BghiP	
Acenaftilen	Ane	**4**

U sirovoj hrani koncentracija PAH-ova ne bi trebala biti visoka. Međutim, kako su PAH-ovi ubikvitarne čestice, u sirovinu dospijevaju putem zraka koji je kontaminiran produktima raznih izgaranja ili prirodnih pojava poput erupcija vulkana i šumskih požara. Te iste čestice mogu se naći i u vodi ili na samoj hrani koje životinje konzumiraju. Veća je vjerojatnost pojave PAH-ova ako se uzgojne površine nalaze u blizini ruralnih područja, odnosno u blizini tvornica, kućanstava ili autocesta i drugih prometnica. Oni se dalje nakupljaju u lipidnim tkivima biljaka, a naposlijetku i životinja(konzumiraju biljke, ali i dospijevaju putem zraka). Kako su netopivi u vodi, manje koncentracije se očekuju u biljkama sa većim sadržajem vode. Prema istraživanju koje su proveli Li i sur. (2008.) dokazali su da je većina svjetske populacije izložena PAH-ovima, te da su oni detektirani u više od 99% populacije SAD-a (Hussein i sur., 2018.).

Za razliku od pojave PAH-ova u sirovinama, odnosno svježim namirnicama, najčešći izvori u procesiranoj hrani su postupci dimljenja i sušenja, te kulinarske obrade. Količina PAH-ova koja nastaje tijekom procesiranja ovisi o nizu faktora poput vremena, vrsta goriva koje se koristi (plin ili drvo), udaljenost od izvora topline, količine masti (lipida) i vrste procesiranja (roštiljanje, prženje i slično) (Hussein i sur., 2018.). U istraživanju koje su proveli Mastanjević i sur. (2020.) u većini uzoraka tradicionalno dimljene Slavonske kobasice pronađeni su Nap, Anl, Ane, Flu, Phen, Ant i BaA, dok su koncentracije Anl i Ant bile znatno povišene. Nadalje u 3 uzorka je pronađeno više od 30 µg/kg spojeva iz PAH4 skupine zbog čega ti proizvodi nisu sukladni prema Europskoj uredbi (EU) br. 1327/2014.

Prema odredbama Europske komisije (EK) propisanima u Uredbi br. 1881/2006 i 835/2011 definirane su maksimalne koncentracije benzo(a)pirena (2 µg/kg) i sume skupine PAH4 koja ne smije prijeći koncentraciju od 12 µg/kg. Za pojedine države članice Europske unije uključujući i Hrvatsku, donesen je novi propis Uredba br. 1327/2014 za tradicionalne mesne proizvode koji dozvoljava maksimalnu koncentraciju benzo(a)pirena od 5 µg/kg i PAH4 od 30 µg/kg. Uz skupinu PAH4, određivana je i prisutnost ostalih policikličkih aromatskih ugljikovodika pod nazivom PAH16 koja je definirana od strane EPA-e (*eng. U. S. Environmental Protection Agency*).

2.3.2. METODE ODREĐIVANJA POLICIKLIČKIH AROMATSKIH UGLJIKOVODIKA

Analiziranje policikličkih aromatskih ugljikovodika zasniva se na primjeni analitičkih metoda kao što su plinska kromatografija (GC), tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC), superkritična tekućinska kromatografija (SFC) i kapilarna elektroforeza (CE). Problemi koji se javljaju prilikom određivanja koncentracije PAH-ova su: mala koncentracija (količine u tragovima, ppt i ppb), dio drugih organskih spojeva se izdvoje zajedno s PAH-ovima, većina PAH-ova su strukturno slična što otežava identifikaciju i kvantifikaciju. Najčešće metode koje se koriste u analizi su HPLC i GC u kombinaciji sa masenom spektrometrijom. GC se ističe sa boljom selektivnošću, rezolucijom i osjetljivošću u odnosu na druge metode.

Plinska kromatografija (G – *gass*, C- *chromatography*) predstavlja tehniku separiranja i detekcije lako hlapivih organskih spojeva. Separacija se zasniva na razlici u hlapivosti analiziranih komponenti. U plinskoj kromatografiji pokretna faza je plin (plin nosioc). Uzorak se injektira na početku kromatografske kolone gdje on isparava (hlapljenje organskog spoja – analita). Eluiranje u koloni se vrši protokom inertnog plina kao mobilne faze, taj plin nosioc nema interakcija s analiziranom komponentom već služi samo kao transportni medij. Najčešći plinovi koji se koriste kao mobilna faza su argon, dušik, vodik ili helij. Stacionarna faza je najčešće mikroskopski sloj tekućine ili polimer imobiliziran na čvrstoj podlozi i tako ugrađen unutar cijevi od stakla ili metala, a zove se kolona.

Ispitivani uzorak koji je preveden u plinovito stanje i koji se nalazi u mobilnoj fazi, kreće se kroz stacionarnu fazu prilikom čega se njegove komponente razdvajaju. Razdvajanje se temelji na razlici u afinitetu uzorka prema stacionarnoj fazi, te prilikom interakcija između mobilne faze i stacionarne kolone dolazi do usporenog kretanja iste kroz kolonu. Prilikom protjecanja mobilne faze kroz stacionarnu fazu (kolonu), u kromatografskom sustavu se duže zadržavaju spojevi sa većim afinitetom prema stacionarnoj fazi. Sve analizirane sastavnice ispitivanog uzorka se distribuiraju između mobilne i stacionarne faze kako bi se uspostavila dinamička ravnoteža koju možemo definirati koeficijentom raspodjele (K): K=molarna konc. U stac.fazi/mol.konc. u pokretnoj fazi. Nakon toga analit dospijeva do detektora koji je povezan s računalom na čijem se ekranu očitava dobiveni kromatogram. Svaki pojedinačni pik (signal) u kromatogramu odgovara jednom kemijskom spoju.

Plinski kromatografi imaju sposobnost povezivanja sa instrumentalnim tehnikama za detekciju komponenata, pa se tako u kombinaciji s GC kao detektor koristi maseni spektrometar. Prednosti masene spektrometrije (MS) u odnosu na druge metode su visoka osjetljivost, brzina i granice detekcije (Chiu i sur., 1997., Popp i sur., 1997., Xu i Hurtubise, 1999., Yusty i Davina, 2005., Beyer i sur., 2010., De Hoffmann i Stroobant, 2007.).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK RADA

Ciljevi ovog istraživanja bili su:

a) odrediti a_w, pH i osnovni kemijski sastav domaće suhe dimljene slanine,

b) instrumentalnim metodama odrediti boju i teksturu domaće suhe dimljene slanine,

c) identificirati vrste i koncentracije 16 PAH spojeva u uzorcima domaće dimljene slanine dimljene tradicionalnim i industrijskim postupkom.

3.2. MATERIJALI I METODE

3.2.1. PRIPREMA UZORAKA I DIMLJENJE

Kod tradicionalnog dimljenja, prethodno pripremljene i ohlađene svinjske potrbušine prvo su suho soljene u trajanju od 21 dana te odsoljene kako bi se uklonio višak soli. Dim je proizveden izgaranjem tvrdih vrsta drveta – grab, bukva i bukvina piljevina. Dimljene se provodilo svaki drugi dan, 3-4 sata u trajanju od sveukupno 12 dana. To upućuje da su slanine bile izlagane dimu sveukupno 6 puta. Omjer masa korištenog drva i piljevine bio je otprilike 50:50. Kod industrijskog dimljenja koristila se samo piljevina u istim omjerima.

Temperatura i vlažnost se nisu kontrolirali, već su varirali ovisno o prirodnim klimatskim uvjetima. Temperatura je varirala od 2,1 do 12,2 °C (prosjek temperature = 8,1 °C), a relativna vlažnost od 63,1 do 95,7 % (prosjek vlažnosti = 86,3 %).

Industrijsko dimljenje provelo se u industrijskoj pušnici (Maurer-Atmos Middleby GmbH, Reichenau, Savezna Republika Njemačka), u kojoj se dim proizvodio pomoću dimogeneratora sa zagrijanom pločom koristeći bukovu piljevinu. To je rezultiralo dimom temperature oko 25 °C koji se transportirao do komore, a to označava indirektno dimljenje.

Temperatura i relativna vlažnost su se kontrolirali tijekom cjelokupnog procesa proizvodnje. Prosječna temperatura iznosila je 11,7 °C, a prosječna relativna vlažnost 81,4 %. Dimljenje je trajalo 4 dana u kojima su se kobasice dimile 12 sati (4 x 180 min).

Uzorkovanje se provodilo nakon postupka dimljenja (3 uzorka). Svi uzorci su homogenizirani i pohranjeni u staklene bočice sa čepom, prethodno oprane acetonom, na tamnom mjestu pri temperaturi od -30 °C. Sve analize provele su se u 3 paralele.

3.2.2. ODREĐIVANJE FIZIKALNO-KEMIJSKIH SVOJSTAVA DOMAĆE DIMLJENE SUHE SLANINE

Određivanje osnovnog kemijskog sastava (proteini mesa, mast, vlaga, kolagen) slanine prije i nakon dimljenja provedeno je na uređaju Food Scan Meat Analyser tvrtke Foss zasnovanoj na službenoj AOAC metodi 2007.4. (AOAC, 2007.).

Uz kemijski sastav, određena je pH vrijednost svježe slanine, slanine nakon obrade, ali prije dimljenja te slanine nakon dimljenja u industrijskim i tradicionalnim uvjetima. Vrijednost pH određivana je uređajem pH/Ion – Bench pH/Ion/mV meter proizvođača Eutech Instruments Pte Ltd/Oakton Instruments, USA. Mjerenje je provedeno u skladu s normom ISO 2917:1999 (HRN ISO 2917, 2000) i prema uputstvima proizvođača pH metra.

Aktivitet vode (aw) određivao se upotrebom HygroLab 3- Multi-channel Humidity & Water Activity Analyser (ROTRONIC), pri sobnoj temperaturi od 20 °C uz maksimalno odstupanje temperature od ± 2 °C.

3.2.3. ODREĐIVANJE KOORDINATA BOJE U CIE-L*a*b* SUSTAVU

Boja slanine određivala se instrumentalno uređajem MiniScan®XE Plus spectrocolorimeter (Hunter Associates Laboratory, Inc. Virginia, USA), (angle 10º, illuminant D65). uređaj je prije analiziranja kalibriran bijelom keramičkom pločicom i hvatačem svjetlosti (L0 = 93.01, a0 = -1.11 i b0 = 1.30). Tijekom analiziranja uzoaraka određene su koordinate boje za CIE-*L*a*b** sustav:

- *L** (lightness) – koordinata svjetline: 0 (crno) – 100 (bijelo)

- *a** (redness – greeness) – koordinata obojenja: +a* = crveno, -a* = zeleno
- *b** (yellowness – blueness) – koordinata obojenja: +b* = žuto, -b* = plavo.

Vrijednost za bjelinu (whiteness, *W*) izračunava se preko izraza *L* - 3b**. Mjerenje boje za sve uzorke slanine provodilo se na sobnoj temperaturi od 20 ± 2 °C.

3.2.4. ODREĐIVANJE PROFILA TEKSTURE

Teksturalni profil uzoraka slanine određen je uređajem Universal TA-XT2i Stable Micro Systems Texture Analyzer, dodatno opremljenim sa cilindričnom sondom P/75. Uzorci za analizu izrezani su na pravilne komade promjera 1,5 cm te dva puta podvrgnuti pritisku kompresijske ploče promjera 7,5 cm sve do 60% njihove visine prema sljedećim parametrima:

- kalibracija visine: 2,5 cm
- brzina prije mjerenja: 0,5 cm/s
- brzina mjerenja: 0,5 cm/s
- brzina nakon mjerenja: 0,5 cm/s
- dubina prodiranja cilindra: 0,9 cm (60%)
- vrijeme zadržavanja između dvije kompresije: 5 s
- potrebna sila za početni signal: 5 g.

Analiza se provodila pri sobnoj temperaturi od 20 °C uz maksimalno odstupanje temperature od ± 2 °C. Računalni program zapisuje krivulju promjene sile koja je potrebna za kompresiju pripremljenog uzorka u određenom vremenskom intervalu prema navedenim parametrima:

- brzina kretanja glave uređaja od 0,5 cm/s
- brzina zapisa testa od 0,5 cm/s.

Dobiveni rezultati korišteni su za očitavanje sljedećih parametara bitnih za profil teksture:

- čvrstoća – visina prvog pika izražena u jedinicama sile (N) ili mase (g), predstavlja najveću silu potrebnu za kompresiju uzorka

- elastičnost – predstavlja tzv. trenutnu elastičnost, sposobnost uzorka da se vrati u početnu formu, odnosno oblik nakon prestanka djelovanja sile deformacije, tj. nakon deformacije pri prvoj kompresiji, a definirana je omjerom površine ispod krivulje tijekom prve dekompresije i površine ispod krivulje tijekom prve kompresije,
- kohezivnost – predstavlja snagu unutrašnjih veza materijala potrebnih da zadrže uzorak koherentnim pri deformaciji, a definirana je omjerom površina ispod drugog i prvog pika,
- otpor žvakanju – predstavlja energiju koju je potrebno utrošiti za žvakanje uzorka, odnosno otpor uzorka žvakanju, a izračunava se kao umnožak čvrstoće, kohezivnosti i odgođene elastičnosti i izražava u jedinicama sile (N) ili mase (g),

dok je izračun parametara proveden pomoću računalnog programa Texture Exponent for Windows (version 1.0) Stable Micro Systems.

3.2.5. ODREĐIVANJE POLICIKLIČKIH AROMATSKIH UGLJIKOVODIKA

Kvantitativna analiza PAH spojeva odrađena je metodom vanjskog standarda korištenjem standardne smjese 16 PAH spojeva u matriksu acetonitril/aceton/toluen u omjerima 6:3:1. Pripremljene su standardne otopine policikličkih aromatskih ugljikovodika s mješavinom 16 PAH-ova koje sadrže 500 ± µg/mL. Provedena je validacija metode i kalibracija kroz matrični slijepi uzorak. Korištena je brza, jednostavna, učinkovita, robusna i sigurna (QuEChERS) metoda kojom su se pripremili uzorci (Mastanjević i sur., 2020.).

PRIPREMA I PROČIŠĆAVANJE UZORAKA

Uzorci tradicionalno i industrijski dimljene domaće suhe slanine pripremljeni su upotrebom QuEChERS metode. Metoda započinje odvagom 3 g samljevenog i homogeniziranog uzorka koji se prenosi u kivetu te se dodaje smjesa 3 ml acetonitrila (CH_3CN) i 3 ml vode. Pripremljena smjesa se intenzivno miješa u vortex mješalici u trajanju od 1 minute nakon čega se dodaje 3 g bezvodnog magnezijevog sulfata ($MgSO_4$) i 1 g bezvodnog natrijevog acetata (CH_3COONa). Potom se uzorak centrifugira 5 minuta na 3000 o/min. Po završetku centrifugiranja 1 ml gornjeg sloja ekstrakta acetonitrila prenosi se u 5 mililitarsku epruvetu sa pripremljenih 150

mg bezvodnog magnezijevog sulfata, 100 mg primarnog i sekundarnog amina (PSA) i 50 mg C18. Sadržaj epruvete se nanovo podvrgava centrifugiranju u trajanju od 5 minuta pri 3000 o/min. Nakon centrifugiranja uzima se 0,5 ml ekstrakta koji se uparava u struji dušika i rekonstituira s heksanom. Tako pripremljen uzorak spreman je za analizu upotrebom plinske kromatografije s masenom spektrometrijom (GC-MS metoda).

POSTUPAK ODREĐIVANJA PAH-OVA POMOĆU GC-MS METODE

U kapilarnu kolonu od rastaljenog silicijevog dioksida HP-5 MS duljine 30 m, unutrašnjeg promjera 0,25 mm i debljine sloja 0,25 µm injektira se 4 µL pripremljenog uzorka pri temperaturi od 280 °C i pri konstantnom tlaku od 11,36 psi te konstantnom protoku plina nosača od 1,2 ml/min. Temperaturni program kolone:

- Početna temperatura 50 °C u trajanju od 24 s
- Gradijent 25 °C/min od početne temperature (50 °C) do 195 °C u trajanju 90 s,
- Gradijent 8 °C/min od 195 °C do 265 °C
- Održavanje na 315 °C u trajanju od 75 s sa 20 °C/min.

Temperatura detektora bila je 280 °C, a sama analiza je provedena u 3 primjerka. Utvrđivanje dobivenih vrijednosti (koje predstavljaju pikovi) učinjeno je na temelju vremena zadržavanja i ciljanih iona, metodom vanjskog standarda i korištenjem standardne otopine. Kontrolni uzorak (ili slijepa proba) i otapala koja su korištena u analizi su analizirani i u njima nisu pronađeni PAH spojevi.

VALIDACIJA METODE

Zbog lipofilnosti PAH spojeva kao matrica na kojoj se vrši validacija metode izabrano je maslinovo ulje. Maslinovo ulje također je podvrgnuto analizi i utvrđeno je da ne sadrži ostatke PAH-ova koji su predmet ispitivanja. Validacija metode je provedena u skladu s europskim regulativama EC, 333/2007 i EC, 836/2011.

Linearnost detektora je testirana u rasponu 5 do 500 mg/kg, dok je preciznost metode procijenjena ponovljivošću korištenjem maslinovog ulja obogaćenog koncentracijama PAH-ova koji su injektirani u tri kopije (50,0 mg/kg, n=20).

3.2.6. STATISTIČKA OBRADA REZULTATA

U uzorcima dimljene slanine mjerene su vrijednosti PAH-ova, za oba načina dimljenja (industrijsko i tradicionalno) mjeren je sadržaj PAH-ova u 6 paralela posebno u sredini uzorka, na površini i u koži. Kod kemijskog sastava (protein, mast vlaga, kolagen), te za pH i aw napravljeno je 7 uzoraka za tradicionalno i industrijsko dimljenje. Podaci dobiveni u eksperimentalnom dijelu su obrađeni analizom varijance (ANOVA) i Fisher-ovim LSD (Least Significant Difference) testom sa značajnošću definiranom na $p < 0,05$. Statistička analiza podataka napravljena je upotrebom programa Statistica 13.1. (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, SAD).

4. REZULTATI

Rezultati ovoga diplomskog rada odrađenog u eksperimentalnom dijela su:

a) Određivanje fizikalno-kemijskih svojstava slanine prije i nakon dimljenja
b) Određivanje koordinata boje u CIE-L*a*b* sustavu svježe i dimljene slanine
c) Određivanje vrste i koncentracije 16 policikličkih aromatskih ugljikovodika
d) Određivanje profila teksture.

Tablica 4. Srednje vrijednosti fizikalno-kemijskih svojstava svježe svinjske potrbušine

	SREDNJA VRIJEDNOST
Proteini [%]	17,75
Masti [%]	21,47
Vlaga [%]	60,38
Kolagen [%]	2,17
pH	5,59
Aktivitet vode	0,98

Tablica 5. Srednje vrijednosti fizikalno-kemijskih svojstava domaće dimljene suhe slanine podvrgnute tradicionalnom i industrijskom dimljenju

	TRADICIONALNO DIMLJENJE	**INDUSTRIJSKO DIMLJENJE**
Proteini [%]	$21,09^{b}$	$24,05^{a}$
Masti [%]	$35,74^{a}$	$23,09^{b}$
Vlaga [%]	$39,57^{b}$	$48,14^{a}$
Kolagen [%]	$2,16^{a}$	$1,83^{b}$
pH	$5,59^{a}$	$5,58^{a}$
Aktivitet vode	$0,92^{a}$	$0,92^{a}$

Prikazani rezultati su srednja vrijednost; razlike vrijednosti unutar retka označene istim slovom (a, b) nisu statistički značajne ($p < 0,05$).

Tablica 6. Prikaz srednjih vrijednosti L, a*, b* vrijednosti svježe svinjske potrbušine

	SREDNJA VRIJEDNSOT
L	71,40
a*	8,25
b*	19,13

Tablica 7. Prikaz srednjih vrijednosti L, a*, b* vrijednosti domaće dimljene suhe slanine

	TRADICIONALNO DIMLJENJE	INDUSTRIJSKO DIMLJENJE
L	62,37[a]	61,88[a]
a*	8,17[b]	8,82[a]
b*	17,80[a]	17,07[b]

Prikazani rezultati su srednja vrijednost; razlike vrijednosti unutar retka označene istim slovom (a, b) nisu statistički značajne ($p < 0,05$).

Tablica 8. Prikaz koncentracije policikličkih aromatskih ugljikovodika nakon tradicionalnog i industrijskog dimljenja

PAH	TRADICIONALNO DIMLJENJE			INDUSTRIJSKO DIMLJENJE		
	SREDINA	POVRŠINA	KOŽICA	SREDINA	POVRŠINA	KOŽICA
Nap	157,75[a]	79,00[ab]	27,46[b]	64,20[b]	21,62[b]	18,62[b]
Anl	325,00[a]	179,62[a]	179,76[a]	16,28[b]	<LOQ	<LOQ
Ane	4,79[a]	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Fln	157,62[a]	86,76[a]	142,53[a]	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Ant	102,31[a]	48,19[a]	119,20[a]	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Phen	432,88[a]	210,38[a]	504,17[a]	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Flt	42,23[a]	20,49[a]	50,37[a]	<LOQ	<LOQ	<LOQ
BaA	13,59[a]	9,72[a]	16,53[a]	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Pyr	53,15[a]	37,34[a]	31,97[a]	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Chry	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
BbF	1,25[a]	0,89[a]	0,84[a]	<LOQ	<LOQ	<LOQ
BkF	3,84[a]	3,65[a]	3,69[a]	<LOQ	<LOQ	<LOQ
BaP	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
DahA	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
BghiP	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
InP	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
ΣPAH4	14,84[a]	10,61[a]	17,37[a]	<LOQ	<LOQ	<LOQ
ΣPAH16	1294,41[a]	676,04[a]	1076,52[a]	80,48[b]	21,62[b]	18,62[b]

Prikazani rezultati su srednja vrijednost; razlike vrijednosti unutar retka označene istim slovom (a, b,) nisu statistički značajne ($p < 0,05$).

Tablica 9. Prikaz srednjih vrijednosti parametara profila teksture ovisno o načinu dimljenja

	ČVRSTOĆA	ELASTIČNOST	KOHEZIVNOST	OTPOR ŽVAKANJU
INDUSTRIJSKO DIMLJENJE	5807,81[b]	0,74[a]	0,71[a]	3028,03[a]
TRADICIONALNO DIMLJENJE	7913,21[a]	0,57[a]	0,58[b]	2632,81[a]

Prikazani rezultati su srednja vrijednost; razlike vrijednosti unutar retka označene istim slovom (a, b,) nisu statistički značajne ($p < 0,05$).

5. RASPRAVA

Osnovni kemijski sastav svježe svinjske potrbušine prikazan je u tablici 4. Udio proteina u prosjeku je iznosio 17,75 %, udio masti 21,47 %, udio kolagena sa srednjom vrijednosti 2,16 %, a udio vlage 60,38%.

Fizikalna svojstva koja su analizirana bili su pH koji je imao stalnu vrijednost od 5,59 i aktivitet vode sa srednjom vrijednosti od 0,98.

Za razliku od svježe sirovine, kod tradicionalnog dimljenja prosječne vrijednosti udjela proteina iznosio je 21,09%, masti 35,74%, kolagena 2,16% i vlage 39,57%. Aktivitet vode prosječno je iznosio 0,92, dok je pH bio 5,59. U uzorcima podvrgnutim industrijskom dimljenju prosječan udio proteina iznosio je 24,05%, masti 23,09%, vlage 48,14%, kolagena 1,83%, dok je aktivitet vode bio 0,92, a pH prosječno je iznosio 5,58 (*Tablica 5.*).

Prilikom određivanja koordinata boje u CIE-*L*a*b** sustavu, kod svježe svinjske potrbušine (*Tablica 6.*) srednja vrijednost parametra *L** koja ukazuje na to je li uzorak svijetao ili taman (crn) iznosila je 71,40. Srednja vrijednost parametra *a** (koja označava spektar od crvene do zelene boje) iznosila je 8,25, dok je srednja vrijednost parametra *b** (koja označava spektar od žute do plave boje) iznosila 19,13. Kod određivanja boje uočena je statistički značajna ($p < 0,05$.) razlika ovisno o vrsti dimljenja (*Tablica 7.*), tako je *L** vrijednost kod tradicionalnog dimljenja prosječno iznosila 62,37, dok je kod industrijskog dimljenja bila 61,88. Prosječna vrijednost parametra *a** kod tradicionalnog dimljenja je 8,17, a kod industrijskog dimljenja 8,82, dok je prosječna vrijednost parametra *b** iznosila 17,80 za tradicionalno dimljenje i 17,07 za industrijsko dimljenje.

U rezultatima provedenog istraživanja utvrđena je prisutnost 11 od 16 analiziranih policikličkih aromatskih ugljikovodika (Nap, Anl, Ane, Fln, Ant, Phen, Flt, BaA, Pyr, BbF, BkF) koji se nalaze na listi Američke agencije za zaštitu okoliša (eng. United States Environmental Protection Agency, US EPA) kod tradicionalnog dimljenja, te svega 2 (Nap, Anl) kod industrijskog dimljenja (*Tablica 8.*). Europska Uredba br. 1327/2014 koja je direktno primjenjiva u Republici Hrvatskoj za tradicionalno proizvedene mesne proizvode propisuje maksimalnu koncentraciju benzo(a)pirena od 5 µg/kg i sadržaj PAH4 od maksimalno 30 µg/kg .

Analiza sadržaja PAH-ova uključivala je mjerenje njihova sadržaja na površini (mesnatoj strani), u sredini te u kožici slanine. Analizom sadržaja PAH4 kod domaće suhe slanine dimljene tradicionalnim načinom utvrđena je prisutnost BaA (13,59 µg/kg u sredini, 9,72 µg/kg na

površini i 16,53 µg/kg u koži) i BbF (1,25 µg/kg u sredini, 0,89 µg/kg na površini i 0,84 µg/kg u koži), dok su koncentracije Chry i BaP bile ispod razine kvantifikacije (<LOQ). U domaćoj suhoj slanini dimljenoj industrijskim načinom koncentracija PAH4 je bila ispod razine kvantifikacije (<LOQ). Sumarna vrijednost PAH4 kod tradicionalnog dimljenja je iznosila 14,84 µg/kg u sredini, 10,61 µg/kg na površini i 17,37 µg/kg u koži slanine. Za razliku od ispitivanja što su proveli Mastanjević i sur. (2020.) na tradicionalno sušenoj Slavonskoj šunki, gdje su u 4 uzorka vrijednosti PAH4 bile povišene (> 30 µg/kg), ovim ispitivanjem nije utvrđena nesukladnost uzoraka domaće dimljene suhe slanine sa Europskom Uredbom EC No 1327/2014. Sadržaj PAH16 u sredini slanine iznosio je 1294,42 µg/kg, na površini 676,03 µg/kg i 1076,51 µg/kg u kožici kada je ona dimljena na tradicionalan način. Kod industrijskog dimljenja domaće suhe slanine sadržaj PAH16 iznosio je 80,48 µg/kg u sredini, 21,62 µg/kg na površini i 18,62 µg/kg u koži slanine.

Vrijednosti dobivene analizom profila teksture (*Tablica 9.*) pokazuju da je do najvećeg statistički značajnog ($p < 0,05$) odstupanja došlo u parametru čvrstoće – prosječna vrijednost kod industrijskog dimljenja iznosila je 5807,81 g, a kod tradicionalnog dimljenja 7913,21 g. Takvi rezultati su očekivani jer su kod industrijskog dimljenja uvjeti kontrolirani te dobivamo proizvod ujednačenih svojstava. Srednja vrijednost elastičnosti kod industrijskog dimljenja iznosila 0,74, a kod tradicionalnog dimljenja 0,57. Srednja vrijednost kohezivnosti kod industrijskog dimljenja iznosila je 0,71 za razliku od tradicionalnog načina dimljenja kod kojeg je ta vrijednost iznosila 0,58. Uspoređene srednje vrijednosti za otpor žvakanju iznosile su 3028,03 g kod industrijskog dimljenja, odnosno 2632,81 g kod tradicionalnog dimljenja.

6. ZAKLJUČCI

Izradom ovog diplomskog rada na temelju rezultata istraživanja doneseni su sljedeći zaključci:

- Tradicionalno dimljena slanina u prosjeku je imala veću *L** vrijednost (bila je svijetlije boje), dok su parametri *a** i *b** u prosjeku bili niži nekog kod industrijskog dimljenja
- U uzorcima domaće dimljene suhe slanine dokazana je prisutnost 11 od 16 analiziranih PAH-ova (Nap, Anl, Ane, Fln, Ant, Phen, Flt, BaA, Pyr, BbF, BkF) prema EPA popisu prioritetnih zagađivača kod tradicionalnog dimljenja i 2 od 16 PAH-ova (Nap, Anl) kod industrijskog dimljenja
- Kod tradicionalnog dimljenja iz PAH4 skupine dokazana je prisutnost BaA (sredina 13,59 μg/kg, površina 9,72 μg/kg i kožica 16,53 μg/kg) i BbF (sredina 1,25 μg/kg, površina 0,89 μg/kg i kožica 0,84 μg/kg), navedene koncentracije nisu prelazile zakonski propisane razine
- Najveći sadržaj PAH4 se dokazao u sredini (14,84 μg/kg) zbog lipofilnosti PAH-ova i u kožici slanine (17,37 μg/kg)
- Koncentracije PAH4 u svim ispitivanim uzorcima dimljene domaće slanine nisu prelazile zakonski propisane koncentracije
- Koncentracije kancerogenog BaP u svim ispitivanim uzorcima bile su ispod razine kvantifikacije (LOQ)
- Tradicionalni način dimljenja u odnosu na industrijsko dimljenje rezultirao je statistički značajno većim sadržajem PAH4 i PAH16 spojeva
- Proizvodi podvrgnuti tradicionalnom dimljenju su u prosjeku imali znatno tvrđu teksturu zbog neujednačenosti proizvodnje , isti su bili manje elastični i posjedovali manji stupanj kohezivnosti

7. LITERATURA

1) Beyer, J., Jonsson, G., Porte, C., Krahn, M.M., Ariese, F.: *Analytical methods for determining metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) pollutants in fish bile: A review*, Environmental Toxicology and Pharmacology, 2010, 224-244, (https://doi.org/10.1016/j.etap.2010.08.004.)
2) Brzinej, M. i sur.: *Stočarstvo*, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek, 1991.
3) Chiu, C.P., Lin, Y.S. & Chen, B.H.: *Comparison of GC-MS and HPLC for overcoming matrix interferences in the analysis of PAHs in smoked food*, Chromatographia 44, 497–504 (1997). (https://doi.org/10.1007/BF02466743)
4) De Hoffmann, E., Stroobant, V. (2007): *Mass spectrometry: principles and applications*, John Wiley & Sons.
5) Đikić, M., et al. (2003). *'Carcass Composition of Turopolje Pig, the Autochthonous Croatian Breed'*, Agriculturae Conspectus Scientificus, 68(4), 249-254. (https://hrcak.srce.hr/12349)
6) Karolyi, D., Salajpal, K., i Luković, Z. (2010). *'Crna slavonska svinja'*, MESO: Prvi hrvatski časopis o mesu, XII(4), 222-230. (https://hrcak.srce.hr/62002)
7) EZ, Vijeće Europske Zajednice: *Uredba Vijeća (EZ) br. 1099/2009 od 24. rujna 2009. o zaštiti životinja u trenutku usmrćivanja Tekst značajan za EGP*, 2009., (http://data.europa.eu/eli/reg/2009/1099/oj)
8) EZ, Vijeće Europske Zajednice*: Uredba Komisije (EZ) br. 1881/2006 od 19. prosinca 2006. o utvrđivanju najvećih dopuštenih količina određenih kontaminanata u hrani Tekst značajan za EGP*, 2006., (http://data.europa.eu/eli/reg/2006/1881/oj)
9) EZ, Vijeće Europske Zajednice: *Uredba Komisije (EU) br. 835/2011 od 19. kolovoza 2011. o izmjeni Uredbe (EZ) br. 1881/2006 u pogledu najvećih dopuštenih količina za policikličke aromatske ugljikovodike u hrani Tekst značajan za EGP*, 2011., (http://data.europa.eu/eli/reg/2011/835/oj)
10) EZ; Vijeće Europske Zajednice: *Uredba Komisije (EU) br. 1327/2014 od 12. prosinca 2014. o izmjeni Uredbe (EZ) br. 1881/2006 u pogledu najveće dopuštene količine policikličkih aromatskih ugljikovodika (PAH) u tradicionalnom dimljenom mesu i mesnim proizvodima i tradicionalnoj dimljenoj ribi i proizvodima ribarstva Tekst značajan za EGP*, 2014., (http://data.europa.eu/eli/reg/2014/1327/oj)
11) Heinz, G., P. Hautzinger: *Processing Technology for Small - to Medium – Scale Producers*, FAO 2007., RAP Publication 2007/20.

12) Hui, Y.H., W.K. Nip, R.W. Rogers, O.A. Young.: *Meat Science and Applications*, New York-Basel, 2001. (https://doi.org/10.1201/9780203908082)

13) IARC (2010): *Some non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons and some related exposures*, Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, 92

14) Joardder, M. U. H., Hasan Masud, M.: *Food Preservation in Developing Countries: Challenges and solutions*, Springer Nature Switzerland AG, 2019. (https://doi.org/10.1007/978-3-030-11530-2)

15) Kjällstrand, J., Petersson, G.: *Phenolic antioxidants in wood smoke*, The Science of the Total Environment, 2001., 69-75, (https://doi.org/10.1016/S0048-9697(00)00863-9)

16) Knežević, Z., i sur. (2010): '*Nastajanje mutagena u hrani tijekom toplinske obrade*', MESO: Prvi hrvatski časopis o mesu, XII(4), 237-243, (https://hrcak.srce.hr/62074)

17) Knipe, C. L., Beld. J.: *Bacon Production*, Encyclopedia of Meat Sciences (Second Edition), Academic Press, 2014, 53-57 (https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384731-7.00110-0)

18) Kovačević, D.: *Kemija i tehnologija mesa i ribe*, Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2001.

19) Kovačević, D.: *Kemija i tehnologija šunki i pršuta*, Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2017.

20) Kovačević, D.: *Sirovine prehrambene industrije (meso i riba)*, Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2004.

21) Kovačević, D.: *Tehnologija kulena i drugih fermentiranih kobasica*, Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2014.

22) Kralik, G. i sur.: *Svinjogojstvo – biološki i zootehnički principi*, Fakultet agrobiotehničkih znanosti, Osijek, 2007.

23) Krvavica, M., et al. (2013). '*Dimljenje - postupci i učinci na mesne proizvode*', MESO: Prvi hrvatski časopis o mesu, XV(3), 202-208., (https://hrcak.srce.hr/112117)

24) Krvavica, M., i Milak, V. (2017). '*Hlapivi spojevi arome dalmatinske pancete proizvedene u različitim tehnološkim uvjetima*', MESO: Prvi hrvatski časopis o mesu, XIX(5), 406-419. (https://doi.org/10.31727/m.19.5.5)

25) Li, Z., Sandau, C. D., Romanoff, L. C., Caudill, S. P., Sjodin, A., Needham, L., Patterson, D., (2008): *Concentration and profile of 22 urinary polycyclic aromatic hydrocarbon*

metabolites in the US population, Environmental research, 107., 320-331, (https://doi.org/10.1016/j.envres.2008.01.013.)

26) Mastanjević, K.; Kartalović, B.; Lukinac, J.; Jukić, M.; Kovačević, D.; Petrović, J.; Habschied, K.: *Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Traditional Dry Cured Smoked Ham Slavonska Šunka*. Appl. Sci. 2020, 10, 92. (https://doi.org/10.3390/app10010092)

27) Mastanjević, K.; Puljić, L.; Kartalović, B.; Grbavac, J.; Jukić Grbavac, M.; Nadaždi, H.; Habschied, K.: *Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Heregovački pršut—Traditionally Smoked Prosciutto*. Int. J. Environ. Res. Public Health 2020, 17, 5097. (https://doi.org/10.3390/ijerph17145097)

28) Mastanjević, K., Kartalović, B., Vranešević, J., Novakov, N., Habschied, K. (2020): *Polycyclic aromatic hydrocarbons in traditionally smoked Slavonska kobasica*, Food Additives & Contaminants: Part B, 13:2, 82-87, (https://doi.org/10.1080/19393210.2020.1712481)

29) MP, Ministarstvo poljoprivrede: *Pravilnik o mesnim proizvodima*, Narodne novine 30/15, 2015. (https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2018_07_62_1292.html)

30) MPRRZ, Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvitka: *Pravilnik o kakvoći svinjskih trupova i polovica*, Narodne novine 2/2009, 2009. (https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2009_01_2_43.html)

31) MPRRZ, Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvitka: *Pravilnik o izmjeni i dopunama Pravilnika o kakvoći svinjskih trupova i polovica*, Narodne novine 144/2010, 2010. (https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2010_12_144_3645.html)

32) Murray, J.R., Penning, T.M.: *Carcinogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*, Comprehensive Toxicology (Third Edition), 2018, 87-153, (https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.95691-5.)

33) Pavičić, Ž., Balenović, T., i Ekert Kabalin, A. (2007). *'Opći principi uzgoja svinja na ekološki prihvatljiv način*', Stočarstvo, 61(1), 53-60. (https://hrcak.srce.hr/173290)

34) Perera, F. P., Tang, D., Wang, S., Vishnevetsky, J., Zhang, B., Diaz, D., Camann, D., Rauh, V.: *Prenatal polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) exposure and child behavior at age 6-7 years*, Environ Health Perspect, 2012., (https://doi.org/10.1289/ehp.1104315.)

35) Popp, P., Keil, P., Möder, M., Paschke, A., Thuss, U.: *Application of accelerated solvent extraction followed by gas chromatography, high-performance liquid chromatography and*

gas chromatography–mass spectrometry for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons, chlorinated pesticides and polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in solid wastes, Journal of Chromatography A, 1997., 203-211, (https://doi.org/10.1016/S0021-9673(97)00337-3.)

36) Purcaro, G., Moret, S., Conte, L. S.: *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*, Encyclopedia of Food and Health, Academic Press, 2016, 406-418, (https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00550-X.)

37) S.C. Gad, S.E. Gad: *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs)*, Encyclopedia of Toxicology (Third Edition), Academic Press, 2014., 1040-1042, (https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00911-8.)

38) Šarkanj B, Kipčić D, Vasić-Rački Đ, Delaš F, Galić K, Katalenić M, Dimitrov N, Klapec T: *Kemijske i fizikalne opasnosti u hrani,* Hrvatska agencija za hranu (HAH), Osijek, 2010

39) Toldra, F.: *Dry-cured Meat Products*, Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, Valencia 2008. (https://doi.org/10.1002/9780470385111)

40) Wade, L. G.: *Organic Chemistry*, Whitman College, 2013.

41) Wenzl, T., Zelinkova, Z.: *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food and Feed*, Encyclopedia of Food Chemistry, Academic Press, 2019, 455-469, (https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21805-2.)

42) Xu, X., Hurtubise, R. J. (1999): *Determination of the pKa values of polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites by capillary zone electrophoresis*, Journal of liquid chromatography & related technologies, 22(5), 669-679, (https://doi.org/10.1081/JLC-100101689)

43) Yusty, M.A.L., Daviña, J.L.C.: *Supercritical fluid extraction and high-performance liquid chromatography–fluorescence detection method for polycyclic aromatic hydrocarbons investigation in vegetable oil*, Food Control, 2005., 59-64, (https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2003.11.008.)