

# Formiranje policikličkih aromatskih ugljikovodika u sladu u odnosu na temperaturu sušenja

---

Čulo, Mia

Master's thesis / Diplomski rad

2022

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:109:712361>

Rights / Prava: [Attribution-ShareAlike 4.0 International / Imenovanje-Dijeli pod istim uvjetima 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-30**

REPOZITORIJ

PTF OS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar  
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK**

**Mia Čulo**

**FORMIRANJE POLICIKLIČKIH AROMATSKIH UGLJIKOVODIKA U  
SLADU U ODNOSU NA TEMPERATURU SUŠENJA**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan, 2022.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

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

### Diplomski sveučilišni studij Prehrambeno inženjerstvo

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti

**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija

**Nastavni predmet:** Biotehnološka proizvodnja hrane

**Tema rada** je prihvaćena na VII. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2021./2022. održanoj 28. travnja, 2022.

**Mentor:** doc. dr. sc. *Kristina Mastanjević*

**Komentor:** dr. sc. *Brankica Kartalović*, zn. sur. (Veterinarski znanstveni institut „Novi Sad“)

### Formiranje policikličkih aromatskih ugljikovodika u sladu u odnosu na temperaturu sušenja

*Mia Čulo, 0113141431*

**Sažetak:** Policiklički aromatski ugljikovodici (PAH) su toksični spojevi koji se mogu naći u okolišu, ali i hrani i piću. U hrani se formiraju pri izloženosti višim temperaturama, najčešće pri postupcima kuhanja i pečenja. Sušenje slada odvija se na različitim temperaturama, ovisno o boji i aromi koju je potrebno postići za određeni tip slada. Tako temperature sušenja variraju od 80 – 220 °C. Cilj ovog rada je pratiti formiranje PAH-ova tijekom sušenja slada na različitim temperaturama te odrediti koji spojevi nastaju na određenim temperaturama. Također će se pratiti utjecaj vremena izlaganja visokim temperaturama na sadržaj PAH-ova u sladu.

**Ključne riječi:** PAH; slad; sušenje

**Rad sadrži:** 36 stranica  
1 slika  
5 tablica  
0 priloga  
28 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** hrvatski

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

- |   |                |
|---|----------------|
| 1. prof. dr. sc. <i>Vinko Krstanović</i>          | predsjednik    |
| 2. izv. prof. dr. sc. <i>Kristina Mastanjević</i> | član-mentor    |
| 3. dr. sc. <i>Brankica Kartalović</i> , zn. sur.  | član -komentor |
| 4. doc. dr. sc. <i>Krunoslav Aladić</i>           | zamjena člana  |

**Datum obrane:** 30, rujna, 2022.

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u** Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

**University Josip Juraj Strossmayer in Osijek**  
**Faculty of Food Technology Osijek**  
**Department of Food technologies**  
**Subdepartment of Bioprocess engineering**  
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

### Graduate program Food engineering

**Scientific area:** Biotechnical sciences

**Scientific field:** Food technology

**Course title:** Biotechnological production of food

**Thesis subject** was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. VII held on April 28<sup>th</sup> 2022

**Mentor:** *Kristina Mastanjević*, PhD, associate prof.

**Co-mentor:** *Brankica Kartalović*, PhD, res. associate

### Formation of polycyclic aromatic hydrocarbons in malt in relation to the kilning temperature

*Mia Čulo*, 0113141431

**Summary:** Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) are toxic compounds that can be found in the environment, but also in food and drink. They are formed in food when exposed to higher temperatures, most often during cooking and baking processes. Malt drying takes place at different temperatures, depending on the color and aroma that needs to be achieved for a certain type of malt. Thus, drying temperatures vary from 80 – 220 °C. The aim of this work is to monitor the formation of PAHs during the drying of malt at different temperatures and to determine which compounds are formed at certain temperatures. The influence of exposure time to high temperatures on the content of PAHs in malt will also be monitored.

**Key words:** PAHs; malt; kilning

**Thesis contains:** 36 pages  
1 figures  
5 tables  
0 supplements  
28 references

**Original in:** Croatian

### Defense committee:

- |   |                  |
|---|------------------|
| 1. <i>Vinko Krstanović</i> , PhD, prof.               | chair person     |
| 2. <i>Kristina Mastanjević</i> , PhD, associate prof. | supervisor       |
| 3. <i>Brankica Kartalović</i> , PhD, res. associate   | Member/co-mentor |
| 4. <i>Krunoslav Aladić</i> , PhD, assistant prof.     | stand-in         |

**Defense date:** September, 30, 2022

**Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in** Library of the Faculty of Food Technology  
Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek.

*Zahvaljujem se mentorici izv. prof. dr. sc. Kristini Mastanjević na suradnji oko izrade  
diplomskog rada, te uloženom trudu, vremenu i strpljenju.*

*Zahvaljujem se svim profesorima na prenesenom znanju.*

*Zahvaljujem se svojim roditeljima i cijeloj obitelji što su kroz cijelo studiranje bili uz mene,  
podržavali me i vjerovali u mene.*

## Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	<b>3</b>
<b>2.1. KARAKTERISTIKE JEČMA</b> .....	<b>4</b>
<b>2.2. PROIZVODNJA JEČMENOG SLADA</b> .....	<b>4</b>
<b>2.3. POLICIKLIČKI AROMATSKI UGLJIKOVODICI</b> .....	<b>5</b>
2.3.1. Određivanje prisutnosti policikličkih aromatskih ugljikovodika.....	8
2.3.2. Strategije smanjenja kontaminacije hrane policikličkim aromatskim ugljikovodicima .....	10
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	<b>13</b>
<b>3.1. ZADATAK</b> .....	<b>14</b>
<b>3.2. MATERIJAL I METODE</b> .....	<b>14</b>
3.2.1. Postupak mikroslađenja.....	14
3.2.2. PAH analiza .....	15
3.2.3. Statistička analiza.....	16
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA</b> .....	<b>17</b>
<b>5. ZAKLJUČCI</b> .....	<b>23</b>
<b>6. LITERATURA</b> .....	<b>25</b>

## Popis oznaka, kratica i simbola

PAH	policiklički aromatski ugljikovodici
$\Sigma$ PAH4	zbroj benz[a]antracena, krizena, benzo[b]fluorantena i benzo[a]pirena
PAH16	zbroj ispitivanih 16 PAH spojeva
LMW-PAH	PAH-ovi niske molekularne težine
HMW-PAH	PAH-ovi veće molekularne težine
LOQ	granica kvantifikacije
LOD	granica detekcije
EFSA	Europska agencija za sigurnost hrane
IARC	Međunarodna agencija za istraživanje raka
GC	plinska kromatografija
GC-MS	plinska kromatografija-masena spektrometrija
LC-MS/MS	tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti
NaP	naftalen
AnI	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
LDPE	polietilen niske gustoće
HDPE	polietilen visoke gustoće



## **1. UVOD**

Slad je osnovna sirovina za proizvodnju piva i viskija. Sladno brašno se obično koristi kao aditiv za razne kruhove i pekarske proizvode kao pojačivač boje ili zbog svoje enzimske aktivnosti. Temperature sušenja mogu doseći 220 °C i to može rezultirati povećanom koncentracijom policikličkih aromatskih ugljikovodika (PAH) u pivu, viskiju te kruhu i pekarskim proizvodima. Ovi se proizvodi konzumiraju diljem svijeta i dostupni su velikom broju ljudi. Štoviše, peciva su dostupna i djeci, te je važno pratiti i procjenjivati unos PAH-ova različitim namirnicama. Svi ti proizvodi mogu sadržavati različite količine PAH-a koji potječu iz slada.

Sušenje je sastavni dio proizvodnje slada. Policiklički aromatski ugljikovodici (PAH) skloni su pojavi na višim temperaturama i općenito se smatraju nepoželjnim u hrani i pićima. Zakonom je obuhvaćena regulacija šesnaest PAH-ova, ali nedostaju znanstveni podaci o PAH-ovima u sladu, hrani i pićima povezanim sa sladom. Cilj ovog rada bio je procijeniti i kvantificirati pojavu različitih PAH-ova u sladu izloženom različitim temperaturama sušenja (50 - 210 °C) tijekom varijabilnog vremenskog okvira. Rezultati pokazuju da neki od PAH-ova otkrivenih na nižim temperaturama nestaju kada se slad izloži visokim temperaturama (>100 °C). Fenantren više nije detektiran na 100 °C, indeno[1,2,3-cd]piren na 130 °C, dok fluoren, antracen i benzo(a)antracen nisu kvantificirani na 170 °C.

## **2. TEORIJSKI DIO**

## 2.1. KARAKTERISTIKE JEČMA

Ječam (*Hordeum vulgare* L.) je najčešće korištena žitarica u pivarstvu. Ječam spada u porodicu Poaceae, tribus (odjel) Triticeae, subtribus (pododjel) Hordeinae i genius (rod) Hordeum koji obuhvaća oko 25 vrsta. Svi kultivirani oblici ječma svrstani su u jednu vrstu, *Hordeum vulgare* (Šimić, 2009.), te je bila prva žitarica koja se uzgajala prvenstveno za ljudsku prehranu. Upotrebljava se za proizvodnju kruha, juha, variva, a najveću primjenu ima u industriji slada i piva te za ishranu stoke (Martinčić i Kolak, 1993).

Ječam se primjenjuje zahvaljujući kvalitetnom omjeru škroba i bjelančevina, nutritivnim vrijednostima, te većem ekonomskom prinosu i jednostavnoj obradi tijekom proizvodnje. Također, u pivu doprinosi karakterističnoj aromi slada (Marić, 2020).

## 2.2. PROIZVODNJA JEČMENOG SLADA

Slađenje je postupak prevođenja ječma u slad. Cilj je dobiti što više amilolitičkih enzima koji će pretvoriti škrob, osnovni sastojak ječma, u šećer (Marić, 2020).

Faze u proizvodnji ječmenog slada obuhvaćaju prihvata, čišćenje, sortiranje, transport, močenje, klijanje i sušenje. Nakon prihvata zrna, provodi se sortiranje zrna kako bi se izdvojila zrna prikladna za slađenje.

Postupak slađenja započinje močenjem zrna ječma u vodi nakon čega dolazi do klijanja zrna kroz 3 do 5 dana. Tijekom klijanja dolazi do kemijskih i biokemijskih promjena, kao što su:

- razgradnja stanične stijenke
- razgradnja proteina
- sinteza biljnog hormona i
- sinteza amilolitičkih enzima.

Ovim putem slad postaje izvor enzima amilaza koji razgrađuju škrob do jednostavnih šećera koje će kvasci metabolizirati tijekom fermentacije piva (Wolf-Hall, 2007; Johanides, 1984).

Iskljajalo zrno naziva se zeleni slad koji je slatkastog okusa, ali je zbog visoke vlažnosti lako kvarljiv. Upravo zbog toga se zeleni slad podvrgava procesu sušenja. Sušenje je sastavni dio proizvodnje slada, a provodi se vrućim zrakom. Temperature sušenja mogu biti u rasponu od 80 – 220 °C, ovisno o vrsti slada koji se proizvodi. Osušeni slad se doraduje hlađenjem,

uklanjanjem koriječića i klice te se skladišti kako bi se rehidrirao vlagom iz zraka, a enzimi reaktivirali nakon sušenja (Johanides, 1984).

Tako dobiveni slad je osnovna sirovina za proizvodnju piva i viskija, dok se sladno brašno koristi kao aditiv, odnosno pojačivač boje za razne vrste kruha i pekarske proizvode.

Budući da se u proizvodnji slada upotrebljava proces sušenja, gdje temperature mogu doseći i do 220 °C, što može rezultirati povećanom koncentracijom policikličkih aromatskih ugljikovodika u kruhu i pekarskim proizvodima, te u pivu i viskiju. To znači da ovi proizvodi mogu sadržavati različite količine PAH-ova koji potječu iz slada.

Ove proizvode konzumira velik broj ljudi upravo zbog toga što su dostupni diljem svijeta, a peciva su dostupna i djeci pa je važno pratiti i procjenjivati unos PAH-ova različitim namirnicama.

### 2.3. POLICIKLIČKI AROMATSKI UGLJKOVODICI

Policiklički aromatski ugljikovodici (PAH) definirani su kao skupina organskih spojeva koja sadrži dva ili više aromatska (benzenska) prstena. U svojoj građi sadrže atome ugljika i vodika. Karakterizira ih niska topljivost u vodi, dobra topljivost u lipidima, visoka točka tališta i vrelišta, velika molekulska masa i nehlapivi su. Budući da su lipofilni, to im omogućava lakšu apsorpciju u probavni trakt sisavaca.

Nastaju kemijskom reakcijom pirolize pri čemu organska tvar izgara pri vrlo visokim temperaturama u anaerobnim uvjetima, odnosno uvjetima bez kisika. Na temperaturama od 400 do 700 °C nastaju najveće količine PAH-ova (Murray i sur., 2018).

Djelovanjem čovjeka, nastaju nepotpunim izgaranjem organskih materijala, npr. izgaranjem fosilnih goriva, drveta, ugljena ili smeća. Također, nastaju u industrijskim pogonima te u domaćinstvima tijekom obrade hrane kao što je pečenje, prženje, sušenje i dimljenje. Međunarodna agencija za istraživanje raka (IARC) definirala je 6 najčešćih i najbitnijih policikličkih aromatskih ugljikovodika (6 IARC PAH) upravo zbog njihove potencijalne kancerogenosti: benzo(a)antracen, benzo(a)piren, benzo(b)fluoranten, benzo(k)fluoranten, indeno(1,2,3-cd)piren i dibenzo(a,h)antracen. Ujedno su svi PAH spojevi klasificirani u više grupa na temelju njihove kancerogenosti na čovjeka (IARC, 2010):

- Grupa 1 – kancerogeni spojevi

- Grupa 2A – vjerojatno kancerogeni spojevi
- Grupa 2B – moguće kancerogeni spojevi
- Grupa 3 – spojevi koji nisu klasificirani kao kancerogeni
- Grupa 4 – vjerojatno ne kancerogeni spojevi

**Tablica 1.** Podjela policikličkih aromatskih ugljikovodika prema kancerogenosti (IARC, 2010)

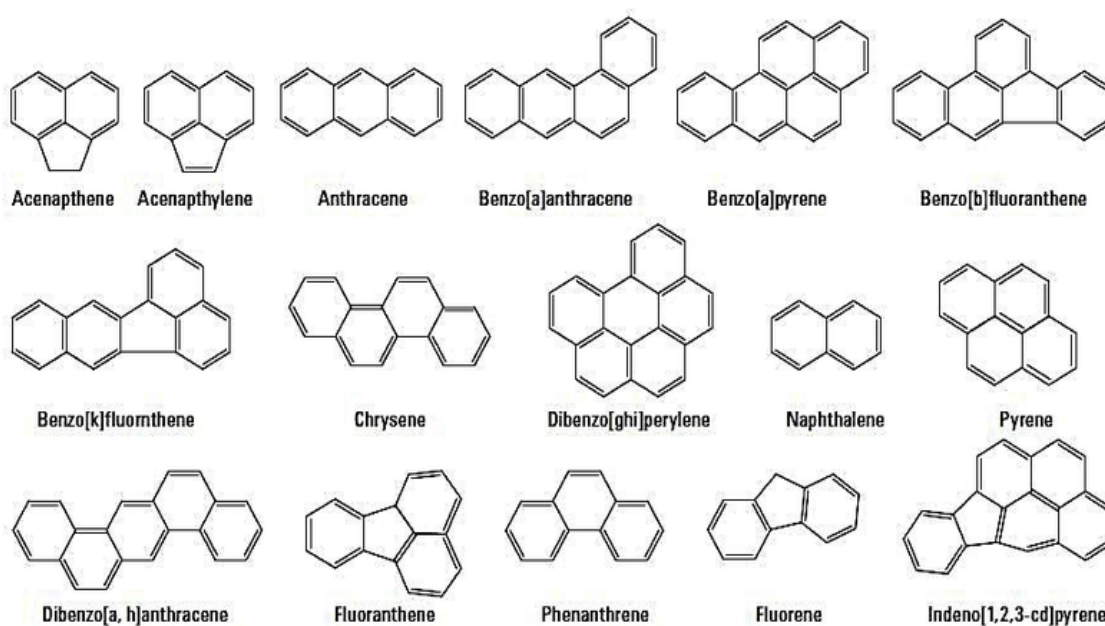
POLOCIKLIČKI AROMATSKI UGLJIKOVODIK (PAH)		IARC KANCEROGENOSTI	SKUPINE
Benzo(a)piren	Bap	1	
Dibenzo(a,h)antracen	DahA	2A	
Naftalen	Nap	2B	
Benzo(a)antracen	BaA		
Krizen	Chry		
Benzo(b)fluoranten	BbF		
Benzo(k)fluoranten	BkF		
Indeno(1,2,3-cd)piren	InP		
Acenaften	Ane		
Fluoren	Fln		
Fenantren	Phen		
Antracen	Ant		
Fluoranten	Flt	3	
Piren	Pyr		
Benzo(g,h,i)perilen	BghiP		
Acenaftilen	Anl	4	

Prema Wenzlu i dr. postoje dvije vrste PAH-ova: PAH-ovi koji sadrže 2-4 spojena aromatska prstena poznati su kao PAH-ovi niske molekularne težine (LMW-PAH), dok su oni koji sadrže više od četiri spojenih aromatskih prstenova poznati kao PAH-ovi veće molekularne težine (HMW-PAH) koji su stabilniji i toksičniji. Oba su lipofilna i njihova topljivost se smanjuje s povećanjem molekularne težine. Kao rezultat nepotpunog izgaranja fosilnih goriva (Kleinjans i sur., 1996) predstavljaju ozbiljnu zdravstvenu opasnost za ljude (Alomirah i sur., 2011; Ledesma i sur., 2016).

U PAH-ove niske molekularne težine ubrajaju se naftalen (NaP), acenaftilen (AnI), fluoren (Fln), antracen (Ant), fenantren (Phen), fluoranten (Flt), acenaften (Ane), piren (Pyr) i benzo(a)antracen (BaA). PAH-ovima veće molekularne težine pripadaju benzo(b)fluoranten (BbF) i benzo(k)fluoranten (BkF) (Wade, 2013, Purcaro i sur, 2016.).

Prema podrijetlu, razlikujemo PAH-ove koji se nalaze u sirovoj hrani, odnosno prenose se iz vode, tla ili okoliša, te PAH-ove koji nastaju u hrani tijekom termičke obrade hrane. Tako je Europsko tijelo za sigurnost hrane (EFSA) utvrdilo koncentracije benzo[a]pirena (BaP) i zbroj koncentracija četiri PAH (benzo[a]piren (BaP), benz[a]antracen (BaA), benzo[b]fluoranten (BbF) i krizen (Chry) (PAH4) kao glavni pokazatelji toksičnosti PAH-ova putem hrane (EFSA, 2008)

**Slika 1** Kemijske strukture i formule policikličkih aromatskih ugljikovodika (Web 1)



Ljudska izloženost PAH-ovima posljedica je unosa hrane koja je podvrgnuta navedenim procesima obrade hrane, a neki od njih mogu biti vrlo toksični i opasni po ljudsko zdravlje. Također, putem udahnutog zraka koji sadrži PAH-ove, udisanjem dima cigarete ili kroz ispušne plinove u prometu ljudi ostvaruju kontakt s policikličkim aromatskim ugljikovodicima.

Utjecaj na ljudsko zdravlje prvenstveno ovisi o količini i vrsti unosa, te o vremenu izloženosti. Kratkoročne posljedice koje mogu nastati su mučnina, povraćanje, dijareja te razne iritacije. Dok dugoročnim izlaganjem dolazi do respiratornih problema, oštećenja jetre i bubrega, smanjenja funkcionalnosti imunološkog sustava, ali povećava se i rizik od razvijanja raka pluća i kože (Murray i sur., 2018). Ujedno, izloženost PAH-ovima može dovesti i do neželjenih posljedica tijekom trudnoće, npr. zaostajanje u rastu i razvoju, deficit u kvocijentu inteligencije što je objavljeno u istraživanju Perera i sur. (2012).

Međutim, nema mnogo istraživanja koja dokazuju prisutnost PAH-ova u pivu i sladu. Ovo istraživanje je proširenje preliminarnog istraživanja koje su autori proveli na komercijalno dostupnom sladu. Preliminarna istraživanja su pokazala da su neki od analiziranih komercijalno dostupnih sladova sadržavali visoku koncentraciju BaA, dosežući preko 737  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (crni slad), dok je najniža razina kvantificirana u jantarnom sladu (60,53  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). Sladovi Pilsner i cara-120 pokazali su visoke vrijednosti BaA, 134,26  $\mu\text{g}/\text{kg}$  i 210,7  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Ovo je istraživanje postavljeno kako bi se istražilo na kojim se temperaturama razvijaju određeni PAH-ovi i procijenilo utječe li trajanje sušenja na koncentraciju PAH-ova u sladu.

### **2.3.1. Određivanje prisutnosti policikličkih aromatskih ugljikovodika**

Prisutnost PAH-ova u hrani određuje se kroz tri koraka: ekstrakcije PAH-ova i masti, nakon čega slijedi pročišćavanje, te na kraju detekcija. Analiza PAH-ova može biti zamorna i dugotrajna upravo zbog prisutnih mali koncentracija (ppt, ppb i količine u tragovima), zbog ometajućih spojeva poput masti ili drugih organskih spojeva koji se izdvajaju zajedno s PAH-ovima (Sampaio i sur., 2021).

Najčešće metode koje se koriste za detekciju PAH-ova su tekućinska kromatografija (HPLC) i plinska kromatografija (GC) u kombinaciji sa masenom spektrometrijom u tzv. LC-MS/MS uređaju (Markovčić, 2021).



Kromatografija je fizikalna metoda separacije u kojoj se sastojci raspodjeljuju između dviju faza, od kojih je jedna nepokretna (stacionarna) faza, dok se druga kreće u određenom smjeru, tzv. pokretna faza. Uzorak je otopljen u pokretnoj fazi (tekućina, plin, fluid pri superkritičnim uvjetima) i kreće se uzduž nepokretne faze koja može biti u koloni ili na ravnoj plohi.

Tekućinskom kromatografija (HPLC, tj. visokotlačna) razdvajaju se analizirane tvari iz smjese na temelju kemijskih interakcija između te analizirane tvari i stacionarne faze u koloni. Kromatografije u kojima je stacionarna (nepokretna) faza polarna, a pokretna (mobilna) faza manje polarna ili nepolarna su kromatografije normalnih faza. Obrnuto vrijedi za kromatografije obrnutih faza, npr. nepokretna faza je nepolarna (uglikovodik), a pokretna faza je polarna (voda ili metanol). Uređaj u koje se vrši proces kromatografiranja naziva se HPLC uređaj.

Odjeljivanja primjenom tekuće pokretne faze temelje se na adsorpciji, razdjeljenju, ionskoj izmjeni i isključenju. Prema tome razlikujemo adsorpcijsku, razdjelnu, ionsko-izmjenjivačku, afinitetnu i kromatografiju isključenjem prema veličini.

Plinska kromatografija (GC) je separacijska tehnika kod koje je pokretna faza plin, tzv. plin nosioc. Stacionarna faza je uglavnom polimer imobiliziran na čvrstoj podlozi i ugrađen u kolonu, ili mikroskopski sloj tekućine (Primorac, 2009).

Uzorak se injektira na početak kromatografske kolone gdje on isparava, zatim se eluiranje u koloni vrši protokom inertnog plina kao mobilne faze. Odvajanje sastojaka na plinskoj koloni temelji se na razlici u hlapivosti. Plin nosioc, za razliku od mobilnih faza ostalih kromatografskih metoda, ne dolazi u interakciju s analiziranom tvari. Helij, dušik i vodik se najčešće koriste kao inertni plinovi. Uređaj za kromatografiranje naziva se plinski kromatograf.

Čimbenici koji mogu utjecati na analizu PAH-ova u hrani su temperatura, pH, ionska jakost i topljivost u matriksu uzorka, odnosno hrane. Budući da su PAH-ovi nepolarni spojevi, lako se skupljaju u matriksu sa visokim sadržajem lipida ili drugim nepolarnim spojevima. Prema tome, za svaki matriks hrane postoji specifična priprema uzorka prema njegovom sastavu.

U prehrambenim proizvodima koji se najvećim dijelom sastoje od proteina i masti, saponifikacija, tekuća-tekuća ekstrakcija i pročišćavanje ključni su koraci za izolaciju i kvantifikaciju PAH-ova. Na primjer, saponifikacija je vrlo bitno kod analize PAH-ova u mesnim proizvodima. Tijekom saponifikacije, prekida se veza između proteina i lipida kalijevim ili

natrijevim hidroksidom pri čemu se oslobađaju PAH-ovi koji su bili vezani na njima. Analit od interesa, tj. PAH-ovi izoliraju se ekstrakcijom tekućina-tekućina s organskim otapalom kao što je heksan ili cikloheksan. Istovremeno se uklanjaju drugi polarni spojevi, ali i nečistoće tijekom faze pročišćavanja.

Danas se nastoje razviti metode koje su brze, jednostavne, jeftine, sigurne, te pri kojima se koriste manje toksična otapala. Razvijena je tzv. QuEChERS metoda koja odgovara svim navedenim zahtjevima. Primjenjuje se za analizu PAH-ova prisutnih u vodi za piće, čaju, plodovima mora te mesnim proizvodima.

Nadalje, neki PAH-ovi prirodno emitiraju fluorescenciju. Na temelju toga moguće je identificirati nekoliko PAH-ova pomoću tekućinske kromatografije s fluorescentnim detektorom, ili UV detektorom (Sampaio i sur., 2021).

### **2.3.2. Strategije smanjenja kontaminacije hrane policikličkim aromatskim ugljikovodicima**

Dodatak začina, odnosno mariniranje mesa prije kuhanja provodi se u svrhu poboljšanja okusa, mirisa ili teksture. Ovim postupkom može se utjecati na stvaranje PAH-ova tijekom obrade hrane ovisno o vrsti upotrebljenih sastojaka. Dakako neće svi sastojci jednako djelovati, neki sastojci mogu inhibirati stvaranje PAH-ova, a drugi upravo suprotno, mogu pospješiti stvaranje kancerogenih spojeva. Sastojci kao što su luk, češnjak i drugi začini poznati su kao antioksidansi te mogu inhibirati stvaranje PAH-ova u prženom mesu. Nasuprot tome, dodatak ulja ili nekih alkalnih sastojaka na meso sa žara povećava mogućnost stvaranja veće količine PAH-ova. Meso marinirano 1 sat s uljem (palminim ili suncokretovim) ili alkalnim sastojcima (natrijev bikarbonat, pH > 7,5) pokazalo je povećanje od preko 70% i 80% u 16 PAH-ova odnosno BaP razine. Važno je da je korištenje ulja povećalo razine teških PAH-ova, posebno BbF (146,5 µg/kg) i BaP (84,6 µg/kg) (Sampaio i sur., 2021). Dokazano je da dodatak kiselih sastojaka marinadama, na primjer limunov sok, smanjuje stvaranje PAH-ova. Također, hrana ili dodatci bogati fenolnim spojevima smatraju se potencijalnim prirodnim inhibitorima PAH-ova tijekom procesa obrade hrane. Na temelju ovoga može se zaključiti da sinergističko djelovanje antioksidansa u mješavinama začina doprinosi smanjenju nastanka PAH-ova tijekom kuhanja.

Neke metode koje se mogu primijeniti tijekom kuhanja, kao što je primjena niske temperature, odabir nemasnog mesa, izbjegavanje izravnog kontakta hrane s plamenom, te upotreba plinskih ili električnih roštilja umjesto roštilja na drveni ugljen rezultiraju nižim stopama kontaminacije PAH-ovima. S obzirom na izvor topline, preferiraju se metode koje koriste neizravne toplinske izvore poput električnih uređaja. Pri korištenju neizravnih toplinskih izvora najviše nastaju PAH-ovi kroz pirolizu makronutrijenata; pri korištenju otvorenog plamena, PAH-ovi nastali sagorijevanjem dima se također talože u hrani (Sampaio i sur.,2021).

Različite vrste drveta i ugljena utječu na stvaranje različite količine PAH-ova. Što znači da je izbor zapaljivog materijala koji se koristi tijekom dimljenja vrlo važan za redukciju PAH-ova. Također, udaljenost i položaj proizvoda od izvora dimljenja utječu na stupanj kontaminacije PAH-ovima. Što se tiče dimljenih proizvoda, primjer je dimljena riba, preporuča se temeljito pranje toplom vodom prije kuhanja u svrhu smanjenja koncentracije PAH-ova kako bi proizvod bio sigurniji za konzumaciju.

Uzimajući u obzir suvremene metode, dokazano je da veće doze gama zračenja reduciraju koncentraciju PAH-ova u hrani, pri tome ne mijenjajući kemijski sastav namirnice. Prema nekim istraživanjima, ambalažni materijal za pakiranje hrane može utjecati na razinu PAH-ova. Nastojao se procijeniti utjecaj različitih vrsta materijala na apsorpciju 16 PAH-ova iz dimljenih papalina. Materijal koji je imao najveću moć apsorpcije je polietilen visoke gustoće (HDPE), zatim polietilen niske gustoće (LDPE), te na kraju polipropilen i polietilen tereftalat (Sampaio i sur.,2021).



### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

### 3.1. ZADATAK

Cilj ovog rada bio je procijeniti i kvantificirati pojavu različitih PAH-ova u sladu izloženom različitim temperaturama sušenja (50 - 210 °C) tijekom varijabilnog vremenskog okvira.

### 3.2. MATERIJAL I METODE

Uzorak ječma kupljen je u lokalnoj trgovini opremom za proizvodnju slada i piva. Postupak mikroslađenja je proveden na sljedeći način.

#### 3.2.1. Postupak mikroslađenja

Mikroslađenje je provedeno prema MEBAK<sup>®</sup>. Dvjesto pedeset grama ječma namočeno je u 500 mL vode iz slavine, prema postupku opisanom u MEBAK<sup>®</sup> i prikazanom u **Tablici 2**. Namakanje i klijanje obavljeno je u klima komori (Euclid, d.o.o, Vinkovci, Hrvatska) . Ukupno je slađeno 15 šarži, što je rezultiralo cca 4 kg slada. Sušenje zelenog slada prilagođeno je prema osnovnom MEBAK<sup>®</sup> protokolu s porastom temperature svakih sat vremena od 50 - 210 °C, a posljednja dva uzorka su bila izložena visokim temperaturama dva sata (kao što je prikazano u **Tablici 2**). Sušenje je obavljeno u sušionici Memmert UFE 400 (Memmert GmbH, Schwabach, Njemačka). Nakon sušenja, slad je prebačen u papirnate vrećice i držan na sobnoj temperaturi dva tjedna radi uspostavljanja ravnoteže vlage. Nakon dva tjedna, uzorci su samljeveni na mlinu IKA<sup>®</sup> M20 (IKA<sup>®</sup>-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Njemačka) i potom zatvoreni u staklene posude (25 mL) s metalnim čepovima. Kako bi se spriječila vanjska kontaminacija uzoraka, staklenke i čepovi su isprani acetonom, označeni i proslijeđeni na analizu.

**Tablica 2.** Opća shema mikroslađenja uzorka ječma

DAN	KORAK MIKROSLAĐENJA I RADNI UVJETI	BROJ UZORKA
	Ječam	<b>0</b>
<b>1.</b>	namakanje uranjanjem 5 h na 14 °C; suho močenje tijekom 19 h na 14 °C, relativna vlažnost zraka 95 %.	
<b>2.</b>	namakanje uranjanjem 4 h na 14 °C; suho močenje 20 h na 14 °C, relativna vlažnost zraka 95 %.	
<b>3.</b>	Namakanje uranjanjem 1 h na 14 °C, relativna vlažnost zraka 95 %.	
<b>3.- 6.</b>	Klijanje je obavljeno prema shemi: 96 h na 14 °C Relativna vlažnost zraka u svakom koraku bila je 95 %	

7.	Sušenje je obavljeno 19 sati, prema standardnim postupcima za svijetli slad, nakon zadnjeg sata klijanja; dodatne temperature postavljene su prema standardnoj proceduri	50 °C 16 h	<b>1</b>
		60 °C 1 h	<b>2</b>
		70 °C 1 h	<b>3</b>
		80 °C 1 h	<b>4</b>
		90 °C 1 h	<b>5</b>
		100 °C 1 h	<b>6</b>
		110 °C 1 h	<b>7</b>
		120 °C 1 h	<b>8</b>
		130 °C 1 h	<b>9</b>
		150 °C 1 h	<b>10</b>
		170 °C 1 h	<b>11</b>
		190 °C 1 h	<b>12</b>
		210 °C 1 h	<b>13</b>
		190 °C 2 h	<b>14</b>
		210 °C 2 h	<b>15</b>
<b>Otklicavanje slada; pakiranje u papirnate vrećice i skladištenje</b>			

### 3.2.2. PAH analiza

Za pripremu PAH standarda korištena je mješavina 16PAH (Ultra Scientific, North Kingstown, RI, SAD) ( $500 \pm 0,2 \mu\text{g/mL}$ ). Prema službenoj metodi 2007.01 Association of Official Analytical Chemists (AOAC), uzorci su pripremljeni kako je opisano u Novakov i sur. (2017.) i Mastanjević i sur. (2019) korištenjem višerezidualnih pripravaka (QuEChERS). Parametri GC-MS prilagođeni su prema opisu Mastanjević i sur. (2019). Modificirana je metoda određivanja PAH-ova u skladu s akreditiranom metodom ISO 17025. Validacija preciznosti, ponovljivosti, točnosti, linearnosti, LOQ (granica kvantifikacije), LOD (granica detekcije) i nesigurnosti prikazana je u **Tablici 3**. Kako bi se minimizirala i smanjila ili potpuno eliminirala interferencija s matricom slada, učinjena je kalibracija korištenjem slijepog uzorka. Detaljan opis analize opisan je u preliminarnom istraživačkom radu koji su objavili Mastanjević i sur. (2021). **Tablica 3** sadrži popis PAH-ova analiziranih u ovom istraživanju.

Tablica 3. Popis analiziranih PAH i označenih kraticom

Policiklički aromatski ugljikovodik (PAH)	Kratica
benzo[ <i>a</i> ]piren	BaP
dibenz[ <i>a,h</i> ]antracen	DahA
Naftalen	Nap
benz[ <i>a</i> ]antracen	BaA
Krizen	Chry
benzo[ <i>b</i> ]fluoranten	BbF
benzo[ <i>k</i> ]fluoranten	BkF
indeno[1,2,3- <i>cd</i> ]piren	InP
acenaften	Ane
fluoren	Fln
fenantren	Phen
antracen	Ant
fluoranten	Flt
piren	Pyr
benzo[ <i>g,h,i</i> ]perilen	BghiP
acenaftilen	Anl

### 3.2.3. Statistička analiza

Provedena je analiza varijance (ANOVA) i Fisherov test najmanje značajne razlike (LSD), a najmanja statistička značajnost postavljena je na  $p < 0,05$ . Podaci su obrađeni pomoću programa Statistika 13.1. (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, SAD).



## **4. REZULTATI I RASPRAVA**

Sjeme ječma izloženo je fosilnim gorivima putem mehanizacije od trenutka sjetve do žetve i može sadržavati određene količine PAH-ova. Prije proizvodnje slada, kako bismo izbjegli precjenjivanje sadržaja PAH-a koji bi mogao nastati zbog kemijskih reakcija tijekom sušenja, napravili smo analizu uzorka ječma i kao što se može vidjeti u **Tablici 4**. Krizen i zbroj  $\Sigma$ PAH4 u ječmu iznad su količine koju propisuje Uredba EU br. 835/2011 (1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), a iznose 1,118  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (krizen) i 1,391  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ( $\Sigma$ PAH4).

Uzorak slada 1, izložen temperaturi od 50 °C tijekom 16 h (prema standardnom postupku sušenja opisanom u MEBAK-u) pokazao je povećanu vrijednost i za krizen, 1,452  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .  $\Sigma$ PAH4 iznosio je 1,704  $\mu\text{g}/\text{kg}$  za ovaj uzorak. Uzorak 2, slad izložen 60 °C tijekom 1 sata, pokazao je povećanje  $\Sigma$ PAH4 na 1,843  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Do ovog povećanja najviše je došlo zbog porasta razine krizena na 1,542  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Ovaj trend povećanja razine nastavlja se za sve uzorke i gotovo sve PAH-ove. Međutim, na 100 °C fenantren se više ne može otkriti u uzorku 6. Na 130 °C, indeno (1,2,3-cd) piren također se više ne može otkriti u uzorku slada 9. Na 170 °C fluoren i antraceni nisu detektirani, a na 190 °C nestaje i acenaften. Vjerojatno reagiraju s nekim od sastojaka hrane i/ili maskiraju svoj oblik u nemjerljivi/nepoznati spoj.  $\Sigma$ PAH4 dosegla je maksimalnu razinu u uzorcima 12 (190 °C) i 13 (210 °C) gdje je uzorak 12 sadržavao 15,787  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , a uzorak 13 16,652  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . To je očito znatno iznad preporuke EC (European Commission, 2011) od 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  za prerađenu hranu na bazi žitarica i dječju hranu za dojenčad i malu djecu. Budući da se slad može koristiti u hrani dostupnoj djeci (u pekarskim proizvodima, kruhu kao bojilu ili dodatku dijastatičkoj aktivnosti), rezultati ovog istraživanja su zabrinjavajući. Tim više što se prženi, tamni ili crni slad koriste kao sredstva za bojenje proizvoda od žitarica. Sladno brašno se najviše koristi u proizvodnji kruha, keksa, krekeri, hrskavog kruha, žitarica za doručak, hrane za dojenčad, prehrambenih pića sa sladom, umaka, slastica od šećera i proizvodnje octa. Najzastupljeniji laki PAH bio je antracen s vrijednostima > 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  za ječam i >15  $\mu\text{g}/\text{kg}$  za uzorak slada 1.

Vrijednosti u uzorku 10 su maksimalne vrijednosti za antracen i dosežu 31  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Međutim, u uzorku 11 antracen se više ne može detektirati, čime se može zaključiti da temperature iznad 150 °C utječu na ovaj spoj i da se nakon ove temperature više ne može detektirati. To bi moglo biti zbog kemijskih reakcija između sastojaka hrane ili razgradnje antracena na višim temperaturama. To je nešto što bi trebalo temeljito istražiti.

Ovi se rezultati razlikuju od onih koji su Mastanjević i sur. (2021) dobili u istraživanju PAH-ova u komercijalno dostupnim sladovima. Ipak, dobiveni rezultati u ovom istraživanju mogli bi objasniti zašto je  $\Sigma$ PAH4 bio značajno viši u pilsneru i cara-120 sladu nego u sladu amber. Naime, amber slad se obično izlaže višim temperaturama (100-150 °C) nego pilsner slad (do 80 °C) ili cara-120 (100 °C) pa se očekuje da bi amber trebao sadržavati više PAH-ova. Naime, pilsner slad je sadržavao više razine benz[a]antracena i pirena od amber slada. Slično, slad cara-120 sadržavao je značajno više razine PAH4, uglavnom kao rezultat količine benz[a]antracena. To se može objasniti temperaturama izloženosti jer je amber slad izložen višim temperaturama samo kratko vrijeme. Međutim, ovo se istraživanje također bavilo pitanjem utjecaja vremena sušenja na sadržaj PAH-a izlaganjem slada visokim temperaturama od 190 °C i 210 °C tijekom produženog vremenskog razdoblja (2 sata, što je prikazano u **Tablici 5**). Rezultati pokazuju da koncentracija krizena značajno raste pri višim temperaturama, te iznosi 64,161 µg/kg u uzorku 15, izloženom 210 °C tijekom 2 h, što je četiri puta više nego u uzorku 13 sušenom na 210 °C tijekom 1 h. Slična situacija se događa između uzoraka 12 i 14, izloženih 190 °C tijekom 1 ili 2 h. Čini se da uzorak 14 sadrži gotovo dvostruko veće koncentracije krizena od uzorka 12.  $\Sigma$ PAH4 jednaka je koncentraciji krizena budući da je to jedini detektabilni PAH koji čini  $\Sigma$ PAH4, a također je u najvećem broju otkriven u svim uzorcima spomenutim u ovom odlomku.

Budući da nema sličnih istraživanja, teško je usporediti rezultate s bilo kojim drugim podacima. Hutt i sur. mjerili su PAH u kukuruzu i pšenici prije i nakon sušenja. Vrijednost  $\Sigma$ PAH4 za uzorak kukuruza osušen pomoću plamenika sa žutim plamenom bila je znatno viša nego u mokrom kukuruzu. Vrijednost krizena bila je iznad 32 µg/kg. Možda su bliski ovom istraživanju podaci koji govore o prženju zrna kave ili kakaovca na različitim temperaturama. Međutim, oni su puno kraće izloženi visokim temperaturama (do 20 min), a koncentracije PAH-a su znatno niže nego u ovom istraživanju, pa usporedbu čini neučinkovitom. Ipak, istraživanje Abballe i sur. objavljen 2021., opisao je sadržaj PAH-a u različitim frakcijama zrna kakaovca (cijelo zrno, ljuska, tekućina, kakao prah i kakao maslac). Postojale su dvije skupine, jedna koja je bila podvrgnuta dimljenju, a druga koja nije bila podvrgnuta postupku dimljenja na 120 °C tijekom 60 minuta. U usporedbi s ovim istraživanjem, rezultati su pokazali niže vrijednosti za sve frakcije dimljenih uzoraka, ali su i dalje iznad preporučenih razina za kakao. Posebno je ljuska kakaovca sadržavala značajne količine svakog sastojka  $\Sigma$ PAH4 (krizen, benz[a]antracen,

benzo[b]fluoranten i benzo[a]piren) što je rezultiralo nevjerojatnih 116 µg/kg. To bi se moglo odraziti na ovo istraživanje budući da slad ide u preradu kao potpuno zrno, što znači da su razine PAH-a za prženi slad također visoke.

Tablica 4. Vrijednosti PAH-ova u uzorcima ječma i slada izloženim različitim temperaturama tijekom 1 h.

	Nap	Anl	Ane	Fln	Ant	Phen	Flt	BaA	Pyr	Chry	BbF	BkF	BaP	DBahA	BghiP	InP	ΣPAH 16	ΣPAH4
Ječam	<LOQ	<LOQ	0,48 <sup>i</sup>	2,19 <sup>h</sup>	11,50 <sup>f</sup>	3,41 <sup>f</sup>	1,18 <sup>k</sup>	0,27 <sup>g</sup>	0,31 <sup>j</sup>	1,12 <sup>m</sup>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,38 <sup>j</sup>	<LOQ	<LOQ	20,85 <sup>hi</sup>	1,39 <sup>m</sup>
50 °C 16 h	<LOQ	<LOQ	1,16 <sup>h</sup>	2,95 <sup>g</sup>	15,09 <sup>e</sup>	4,42 <sup>e</sup>	1,35 <sup>j</sup>	0,30 <sup>f</sup>	0,40 <sup>k</sup>	1,40 <sup>j</sup>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,40 <sup>j</sup>	<LOQ	<LOQ	27,48 <sup>g</sup>	1,70 <sup>l</sup>
60 °C 1 h	<LOQ	<LOQ	1,30 <sup>g</sup>	3,60 <sup>f</sup>	21,75 <sup>d</sup>	5,66 <sup>d</sup>	1,53 <sup>i</sup>	0,30 <sup>f</sup>	0,51 <sup>j</sup>	1,54 <sup>k</sup>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,45 <sup>i</sup>	<LOQ	<LOQ	36,64 <sup>f</sup>	1,84 <sup>k</sup>
70 °C 1 h	<LOQ	<LOQ	1,32 <sup>g</sup>	4,09 <sup>e</sup>	22,47 <sup>cd</sup>	6,06 <sup>c</sup>	1,86 <sup>h</sup>	0,30 <sup>f</sup>	1,17 <sup>i</sup>	1,73 <sup>j</sup>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,46 <sup>i</sup>	<LOQ	<LOQ	39,46 <sup>def</sup>	2,03 <sup>j</sup>
80 °C 1 h	<LOQ	<LOQ	1,32 <sup>g</sup>	4,14 <sup>e</sup>	24,15 <sup>bcd</sup>	6,52 <sup>b</sup>	2,05 <sup>g</sup>	0,33 <sup>e</sup>	1,17 <sup>i</sup>	1,86 <sup>i</sup>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,47 <sup>hi</sup>	<LOQ	<LOQ	42,03 <sup>cde</sup>	2,19 <sup>l</sup>
90 °C 1 h	<LOQ	<LOQ	1,44 <sup>f</sup>	4,39 <sup>d</sup>	24,80 <sup>bcd</sup>	7,69 <sup>a</sup>	2,24 <sup>f</sup>	0,34 <sup>e</sup>	1,21 <sup>h</sup>	1,90 <sup>hi</sup>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,50 <sup>h</sup>	<LOQ	<LOQ	44,51 <sup>bc</sup>	2,24 <sup>i</sup>
100 °C 1 h	<LOQ	<LOQ	1,79 <sup>e</sup>	4,89 <sup>c</sup>	25,48 <sup>bc</sup>	<LOQ	2,25 <sup>f</sup>	0,41 <sup>d</sup>	1,21 <sup>h</sup>	1,93 <sup>h</sup>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,54 <sup>h</sup>	<LOQ	<LOQ	38,49 <sup>ef</sup>	2,33 <sup>h</sup>
110 °C 1 h	<LOQ	<LOQ	1,96 <sup>d</sup>	4,97 <sup>c</sup>	25,54 <sup>bc</sup>	<LOQ	2,26 <sup>f</sup>	0,43 <sup>c</sup>	1,27 <sup>g</sup>	2,10 <sup>g</sup>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,58 <sup>f</sup>	<LOQ	<LOQ	39,11 <sup>def</sup>	2,54 <sup>g</sup>
120 °C 1 h	<LOQ	<LOQ	2,18 <sup>c</sup>	5,53 <sup>b</sup>	27,32 <sup>b</sup>	<LOQ	2,34 <sup>e</sup>	0,45 <sup>b</sup>	1,37 <sup>f</sup>	2,52 <sup>f</sup>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,59 <sup>f</sup>	<LOQ	<LOQ	42,33 <sup>cd</sup>	2,98 <sup>f</sup>
130 °C 1 h	<LOQ	<LOQ	2,22 <sup>c</sup>	7,41 <sup>a</sup>	31,65 <sup>a</sup>	<LOQ	2,39 <sup>d</sup>	0,59 <sup>a</sup>	1,54 <sup>e</sup>	2,72 <sup>e</sup>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,87 <sup>e</sup>	<LOQ	<LOQ	49,40 <sup>a</sup>	3,31 <sup>e</sup>
150 °C 1 h	<LOQ	<LOQ	2,67 <sup>b</sup>	<LOQ	34,78 <sup>a</sup>	<LOQ	2,52 <sup>c</sup>	0,61 <sup>a</sup>	1,56 <sup>d</sup>	3,06 <sup>d</sup>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1,00 <sup>d</sup>	<LOQ	<LOQ	46,18 <sup>ab</sup>	3,66 <sup>d</sup>
170 °C 1 h	<LOQ	<LOQ	2,90 <sup>a</sup>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	2,53 <sup>c</sup>	<LOQ	1,64 <sup>c</sup>	9,99 <sup>c</sup>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1,07 <sup>c</sup>	<LOQ	<LOQ	18,15 <sup>i</sup>	9,99 <sup>c</sup>
190 °C 1 h	<LOQ	<LOQ	2,95 <sup>a</sup>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	2,62 <sup>b</sup>	<LOQ	2,35 <sup>b</sup>	15,77 <sup>b</sup>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1,39 <sup>b</sup>	<LOQ	<LOQ	25,081 <sup>g</sup>	15,79 <sup>b</sup>
210 °C 1 h	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	3,33 <sup>a</sup>	<LOQ	2,71 <sup>a</sup>	16,67 <sup>a</sup>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1,59 <sup>a</sup>	<LOQ	<LOQ	24,32 <sup>gh</sup>	16,67 <sup>a</sup>

**Tablica 5.** Vrijednosti PAH u uzorcima izloženim 190 °C i 210 °C ovisno o vremenu izlaganja

Tempe- ratura	Nap	Anl	Ane	Fln	Ant	Phen	Flt	BaA	Pyr	Chry	BbF	BkF	BaP	DBahA	BghiP	InP	ΣPAH 16	ΣPAH4
<b>190 °C 1 h</b>	<LOQ	<LOQ	2,95 <sup>a</sup>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	2,62 <sup>c</sup>	<LOQ	2,35 <sup>c</sup>	15,77 <sup>c</sup>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1,39 <sup>c</sup>	<LOQ	<LOQ	25,08 <sup>c</sup>	15,79 <sup>d</sup>
<b>210 °C 1 h</b>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	3,33 <sup>b</sup>	<LOQ	2,71 <sup>d</sup>	16,67 <sup>d</sup>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1,59 <sup>b</sup>	<LOQ	<LOQ	24,32 <sup>d</sup>	16,67 <sup>c</sup>
<b>190 °C 2 h</b>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	3,79 <sup>a</sup>	<LOQ	3,49 <sup>b</sup>	28,77 <sup>b</sup>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	2,05 <sup>a</sup>	<LOQ	<LOQ	38,11 <sup>b</sup>	28,77 <sup>b</sup>
<b>210 °C 2 h</b>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	4,59 <sup>a</sup>	64,16 <sup>a</sup>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	68,75 <sup>a</sup>	64,16 <sup>a</sup>

## **5. ZAKLJUČCI**

Na osnovi rezultata istraživanja provedenih u ovom radu, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Provedeni pokus potvrdio je da se značajne količine PAH-a mogu naći u sladu, posebice u specijalnim sladovima (tamni, prženi). Međutim, dobiveni podaci pokazuju da određeni PAH-ovi nestaju na višim temperaturama. Na primjer, fenantren se više ne otkriva na 100 °C, dok se fluoren i antracen više ne otkrivaju na 170 °C.
2. Vrijeme sušenja je od velike važnosti i rezultati pokazuju da su  $\Sigma 4\text{PAH}$  i  $\Sigma 16\text{PAH}$  mnogo veći kada sušenje traje 2 sata na 210 °C (64,1212  $\mu\text{g}/\text{kg}$  za PAH4 i 69,5621  $\mu\text{g}/\text{kg}$  za PAH16) u usporedbi s trajanjem sušenja od 1 h na 210 °C (PAH4 28,7388  $\mu\text{g}/\text{kg}$  i PAH16 35,8549  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). Također, temperatura sušenja je važna jer su više razine PAH4 i PAH16 zabilježene za uzorke izložene 210 °C nego za uzorke izložene 190 °C (tj. 28,7388  $\mu\text{g}/\text{kg}$  na 210 °C naspram 16,6524  $\mu\text{g}/\text{kg}$  za PAH4 na 190 °C).
3. Buduće studije trebale bi nastojati odrediti kako smanjiti količinu PAH-ova u sladu, budući da se slad koristi u mnogim prehrambenim proizvodima dostupnim djeci (kruh, kolačići, pekarski proizvodi itd.).



## **6. LITERATURA**

- 1) Abballe C, Moralez Leme Gomes F, Dezembro Lopes B, Ferreira de Oliveira AP, Berto MI, Efraim P, Verdiani Tfouni SA: Cocoa beans and derived products: Effect of processing on polycyclic aromatic hydrocarbons levels, *Lwt - Food Science and Technology*, 135, 2021, 110019, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110019>.
- 2) Agus BAP, Hussain N, Selamat J: Quantification of PAH4 in Roasted Cocoa Beans Using QuEChERS and Dispersive Liquid-Liquid Micro-extraction (DLLME) Coupled with HPLC-FLD. *Food Chemistry*, 125398, 2019.
- 3) Ciecierska M, Derewiaka D, Kowalska J, Majewska E, Drużyńska B, Wołosiak R: Effect of mild roasting on Arabica and Robusta coffee beans contamination with polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of Food Science and Technology* 2019, 56, 737–745.
- 4) EC (2011). Commission Regulation (EU) No 835/2011 of 19 August 2011 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in food stuffs. *Official Journal of the European Union L*, 215, 4-8.
- 5) European Food Safety Authority. EFSA Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain on a request from the European Commission on polycyclic aromatic hydrocarbons in food. *EFSA Journal*. 2008, 724, 1–114.
- 6) Houessou JK, Maloug S, Leveque AS, Delteil C, Heyd B, Camel V: Effect of roasting conditions on the polycyclic aromatic hydrocarbon content in ground Arabica coffee and coffee brew. *Journal of agricultural and food chemistry* 2007 Nov 14;55(23):9719-26. doi: 10.1021/jf071745s. Epub 2007 Oct 18. PMID: 17941690
- 7) Hutt W, Meiering A, Oelschlager W, Winkler E: Grain Contamination in Drying with Direct Heating. *Canadian Agricultural Engineering. CBE Journal* 1978, 20, 103–108.
- 8) IARC, International Agency for Research on Cancer: *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, 2010
- 9) Johanides V: *Industrijska mikrobiologija*, Prehrambeno biotehnološki fakultet, Zagreb, 1984.
- 10) Kent NL, Evers AD, Kent's Technology of Cereals: *An Introduction for Students of Food Science and Agriculture*. Pergamon, Elsevier, Kidlington, UK. 4th edition, 1994.
- 11) Marić T: Prijenos deoksinivalenola i njegovih derivata iz ječma u slad tijekom procesa slađenja. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2020.
- 12) Markovčić M: Utjecaj različitih postupaka dimljenja na sadržaj policikličkih aromatskih ugljikovodika (PAH) u domaćoj dimljenoj suhoj slanini. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2021.
- 13) Martinčić J, Kolak I: Ječam – *Hordeum vulgare* L. conv. *distichum*, Sirovina za potrebe industrije slada i piva. *Sjeminarstvo* 10(93) 3-4, 163-172, 1993.

- 14) Mastanjević K, Kartalović B, Petrović J, Novakov N, Puljić L, Kovačević D, Jukić M, Lukinac J, Mastanjević K: Polycyclic aromatic hydrocarbons in traditional smoked sausage Slavonska kobasica. *Journal of Food Composition and Analysis* 2019, 83, 103282.
- 15) Mastanjević K, Krstanović V, Kovačević D, Kartalović B, Habschied K: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Malt. *Beverages* 2021, 7, 58. <https://doi.org/10.3390/beverages7030058>
- 16) Middle European Brewing Analysis Commission (MEBAK); Band II.n Brautechnische Middle European Brewing Analysis Commission (MEBAK). Band II.n Brautechnische Analysenmethoden, 3th ed.; Selbstverlag der MEBAK: Freising-Weihenstephan, Germany, 1997.
- 17) Murray JR, Penning TM: Carcinogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, *Comprehensive Toxicology (Third Edition)*, 2018, 87-153, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.95691-5>.
- 18) Novakov NJ, Mihaljev ŽA, Kartalović BD, Blagojević BJ, Petrović JM; Cirković MA, Rogan DR: Heavy metals and PAHs in canned fish supplies on the Serbian market. *Food Additives & Contaminants: Part B* 2017, 10, 208–215.
- 19) Okafor VN, Uche U, Abailim RC: Levels of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Beers: Consumption and Public Health Concerns. *Environmental Science* 2020.
- 20) Primorac Lj: Kromatografske metode. *Nastavni materijali*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2009.
- 21) Purcaro G, Moret S, Conte LS: *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*, Encyclopedia of Food and Health, Academic Press, 2016, 406-418
- 22) Sampaio GR, Guizzellini GM, da Silva SA, de Almeida AP, Pinaffi-Langley ACC, Rogero MM, de Camargo AC, Torres EAFS. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Foods: Biological Effects, Legislation, Occurrence, Analytical Methods, and Strategies to Reduce Their Formation. *International Journal of Molecular Sciences* 2021, 22, 6010.
- 23) Šimić G: Utjecaj genotipa i okolišnih uvjeta na parametre sladarske kakvoće ozimog ječma (*Hordeum vulgare* L.). *Doktorski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Osijek, 2009.
- 24) Tfouni SAV, Serrate CS, Leme FM, Camargo MCR, Teles CRA, Cipolli KMVAB, Furlani RPZ: Polycyclic aromatic hydrocarbons in coffee brew: Influence of roasting and brewing procedures in two *Coffea* cultivars. *LWT - Food Science and Technology* 2013, 50, 526–530.
- 25) Wade L G: *Organic Chemistry*, Whitman College, 2013.
- 26) Web 1: [Studied polycyclic aromatic hydrocarbons \(PAHs\) chemical structures | Download Scientific Diagram \(researchgate.net\)](#) [07.08.2022.]

- 27) Wenzl T, Simon R, Anklam E: Analytical methods for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in food and the environment needed for new food legislation in the European Union. *Trends in Analytical Chemistry* 25:716–25, 2006.
- 28) Wolf-Hall CE: Mold and mycotoxin problems encountered during malting and brewing. *International Journal of Food Microbiology* 119:89-94, 2007.

