

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

Glorija Marić

**POLICIKLIČKI AROMATSKI UGLJIKOVODICI U KUKURUZU KOKIČARU I
KOKICAMA**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan, 2022.

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

Diplomski sveučilišni studij Prehrambeno inženjerstvo**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija**Nastavni predmet:** Biotehnoška 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:** izv. prof. dr. sc. *Kristina Mastanjević***Komentor:** dr.sc. *Vlatko Galić*, zn. sur.**Polciklički aromatski ugljikovodici u kukuruзу kokičaru i kokicama***Glorija Marić, 0113141837***Sažetak:**

Polciklički aromatski ugljikovodici (PAH) su spojevi koji se mogu naći u okolišu, ali i hrani i piću, a neki od njih su karakterizirani kao karcenogeni. U hranu mogu dospjeti iz okoliša, ali se najvećim dijelom formiraju pri izloženosti visokim temperaturama pri postupcima kuhanja i pečenja. Cilj ovoga rada je odrediti PAH-ove u različitim hibridima kukuruza kokičara te suho prženim kokicama dobivenim iz tih hibrida te promotriti utjecaj hibrida na sadržaj PAH-ova u kokicama.

Ključne riječi: PAH; kokice; kukuruz kokičar**Rad sadrži:** 35 stranica
4 slike
4 tablice
0 priloga
24 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. doc. dr. sc. <i>Kristina Mastanjević</i> | član-mentor |
| 3. dr. sc. <i>Vlatko Galić</i> , zn.sur. | član-komentor |
| 4. 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 20, 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 28th 2022

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

Co-mentor: *Vlatko Galić*, PhD, sci. assoc.

Polycyclic aromatic hydrocarbons in popcorn maize varieties and popcorns

Glorija Marić, 0113141837

Summary:

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) are compounds that can be found in the environment, but also in food and drinks, and some of them are characterized as carcinogens. They can get into food from the environment, but they are mostly formed when exposed to high temperatures during cooking and baking. The aim of this work is to determine PAHs in different hybrids of popcorn maize and dry-fried popcorn obtained from those hybrids, and to observe the influence of the hybrid on the content of PAHs in popcorn.

Key words: PAH; popcorn; popcorn maize

Thesis contains: 35 pages
4 figures
4 tables
0 supplements
24 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>Vlatko Galić</i> , PhD | co-supervisor |
| 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 20, Osijek.

*Zahvaljujem se mentorici izv. prof. dr. sc. Kristini Mastanjević na posvećenom vremenu, trudu
i strpljenju pri izradi ovog diplomskog rada.*

Hvala mojim roditeljima i sestri na bezuvjetnoj podršci tijekom studiranja.

Hvala i svim prijateljima koji su bili uz mene na ovom putovanju.

Svima veliko hvala !

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. KUKURUZ.....	4
2.1.1. Fizikalno-kemijska svojstva kukuruza	4
2.2. KUKURUZ KOKIČAR.....	5
MEHANIZAM PUCANJA ZRNA	6
2.3. KOKICE	7
2.4. POLICIKLIČKI AROMATSKI UGLJKOVODICI	7
2.4.1. Nastajanje policikličih aromatskih ugljikovodika	9
2.4.2. Metode smanjenja policikličih aromatskih ugljikovodika u hrani	10
2.4.3. Metode određivanja policikličih aromatskih ugljikovodika u hrani	10
3. EKSPERIMENTALNI DIO	13
3.1. ZADATAK.....	14
3.2. MATERIJAL I METODE	14
3.2.1. Kokice	14
3.2.2. PAH	15
4. RASPRAVA.....	17
4.1. PAH-OVI U KUKURUZU I KOKICAMA	18
5. ZAKLJUČCI	23
6. LITERATURA	25

Popis oznaka, kratica i simbola

PTF	Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
PAH	Policiklički aromatski ugljikovodici
EFSA	Europska agencija za sigurnost hrane
IARC	Međunarodna agencija za istraživanje raka
GC	Plinska kromatografija
HPLC	Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti

1. UVOD

Kukuruz (*Zea mays* L.) spada među najvažnije žitarice zbog privrednog značaja, kapaciteta proizvodnje i prometa. Kukuruz kokičar tj. *Zea mays* ssp. *Everta* ubraja se u najstarije podvrste kukuruza i koristi se u ljudskoj prehrani. Kokice su proizvodi koji nastaju ispućavanjem zrna pri višim temperaturama. Primjena visokih temperatura može pogodavati nastanku PAH-ova.

Policiklički aromatski ugljikovodici (PAH) su spojevi koji se mogu naći u okolišu, ali i hrani i piću, a neki od njih su karakterizirani kao kancerogeni. U hranu mogu dospjeti iz okoliša, ali se najvećim dijelom formiraju pri izloženosti visokim temperaturama u postupcima kuhanja i pečenja. Zbog širokog spektra rasprostranjenosti, njihova prisutnost u hrani je od velikog interesa.

Cilj ovoga rada je odrediti PAH-ove u različitim hibridima kukuruza kokičara te suho prženim kolicama dobivenim iz tih hibrida, te promotriti utjecaj hibrida na sadržaj PAH-ova u kolicama.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. KUKURUZ

Kukuruz (*Zea mays* L.) se ubraja među najvažnije žitarice zbog privrednog značaja, kapaciteta proizvodnje i prometa. Tome pridonosi činjenica da su gotovo svi njegovi dijelovi iskoristivi tijekom industrijske prerade. Smatra se da je primjena kukuruza kao namirnice bila poznata 5 000 god. pr. nove ere te se danas najviše koristi za prehranu ljudi i ishranu životinja.

Medvecki (2015) navodi da je kukuruz, uzimajući u obzir zasijane površine, treća svjetska kultura nakon riže i pšenice. Najveće površine zasijane ovom žitaricom imaju Sjedinjene Američke Države, Brazil i Meksiko. U Republici Hrvatskoj je uz pšenicu najzastupljeniji usjev na oranicama.

Prema Jevtiću (1973) postoji nekoliko grupa proizvoda od kukuruza, u čijoj proizvodnji veliku ulogu ima kukuruz. U prehrambenoj industriji koristi se za proizvodnju kvasca, škrobnog šećera, kukuruznog škroba, kokica itd. Također se može koristiti u farmaceutskoj, tekstilnoj i građevinskoj industriji. Kukuruz se uzgaja u cijelom svijetu (od skandinavskih predjela do tropskih krajeva), zbog različite duljine vegetacije, te sposobnosti rasta i uzgoja u nepovoljnijim klimatskim uvjetima. Općenito, može se reći da su najpovoljniji uvjeti za uzgoj kukuruza područja s blagom i umjereno toplom klimom.

Podvrste kukuruza obzirom na boju i veličinu zrna su:

- Zuban,
- Tvrđunac,
- Brašnar ili mekunac,
- Kokičar,
- Šečerac.

2.1.1. Fizikalno-kemijska svojstva kukuruza

Kukuruz je jednogodišnja tropska biljka što ga čini osjetljivim na nedostatak vode i mraz. Zrno kukuruza sastoji se od endosperma, klice, ljuske i kapice. Za dobivanje proizvoda dobre kvalitete i iskorištenja značajna su fizikalno- kemijska svojstva dijelova kukuruznog zrna.

Za rast i razvoj biljke minimalna temperatura iznosi 8 °C, a u vegetaciji 12 °C. Najpogodnija tla za proizvodnju kukuruza su plodna, duboka, rastresita, propusna te tla koja zadržavaju vodu.

Ne preporuča se uzgoj na kiselom tlu (Krisle, 2009). Također, prinosi kukuruza mogu znatno varirati jer ovise o vanjskim čimbenicima kao što su: kultivar kukuruza, klima, primjena agrotehničkih mjera i slično. Endosperm čini najviši udio zrna (oko 82%) te se sastoji od dva dijela: brašnatog i staklastog endosperma. Brašnasti endosperm ima znatno veće granule škroba i tanku proteinsku mrežu. Tanka proteinska mreža puca tijekom sušenja zrna, pri čemu nastaju praznine koje ovom dijelu daju bijeli izgled, dok je proteinska mreža u staklastom endospermu deblja te ne puca tijekom sušenja, zbog čega dolazi do skupljanja mreže i pritiska na škrobne granule koje poprimaju zbijeniju strukturu.

Kemijski sastav kukuruznog zrna prikazan je **Tablicom 1.**

Tablica 1. Kemijski sastav kukuruznog zrna (Jozinović, 2022)

%	Raspon	Prosječno
Vlaga	7-23	14
Škrob	64-78	71,1
Proteini	8-14	9,91
Masti	3,1-5,7	4,45
Pepeo	1,1-3,9	1,42

2.2. KUKURUZ KOKIČAR

Zea mays ssp. Everta tj. kukuruz kokičar pripada najstarijim podvrstama kukuruza. Izdvajaju se dva tipa zrna: izduženo i okruglo. Može se reći da su sitnija osjetljivija i manjeg prinosa. Zrno se sastoji od perikarpa, klice i endosperma. Perikarp je odgovaran za puckavost kukuruznog zrna (Milković, 2019).

Od ostalih podvrsta ga razlikuje endosperm koji je caklenasti, a brašnasti dio nalazi se oko klice. Koristi se u ljudskoj prehrani. Njegovim unosom može se zadovoljiti 70% dnevnih potreba ljudskog organizma za cjelovitim žitaricama. Zbog navedenog ubraja se u zdrave grickalice.



Slika 1. Kukuruz kokičar (Web 1)

Mehanizam pucanja zrna

Različitošć kokica, sadržaj vlage u zrnu, uvjeti skladištenja, tip pakiranja i sl. utječu na kvalitetu pucanja kokica u mikrovalnim pećnicama (Ziegler i sur., 1984). Zrno puca pri temperaturama od 150 – 200 °C prilikom čega dolazi do prijelaza vode iz zrna u paru. Ona pritom stvara bijelu šupljikavu masu povećanog volumena. Pri većem tlaku, zagrijana para pretvara meki škrob u želatinozni materijal. Zbog povećanja tlaka u perikarpu dolazi do pucanja zrna. Hoseneý i sur. (1983) navode da na volumen pucavosti najveći utjecaj ima prvo pucanje. Ono se odvija pri 177 °C, a pri nižim temperaturama pucavost opada. U trenutku pucanja zrna voda je pregrijana. To svojstvo dovodi do proširenja zrna kada perikarp pukne. Klica najmanje doprinosi pucavosti zrna, te se prilikom pucanja fizikalno- kemijska svojstva klice ne mijenjaju. Na volumen ispucalog zrna nepovoljan utjecaj ima udio mekog endosperma, te oštećenje perikarpa. Naime, tijekom zagrijavanja ne dolazi do promjena u mekom endospermu. Razlog tome su zračni prostori među škrobnim zrcima koji su pogodna mjesta za paru. Optimalan udio vlage u zrnu pri pucanju iznosi od 10 do 15%. Ukoliko je udio vlage niži, u zrnu nema dovoljno vode čija para stvara tlak i na kraju dovodi do nepotpunog pucanja zrna. Pri visokom udjelu vlage perikarp slabi i uzrokuje raspucavanje

zrna prije nego što se postigne odgovarajući tlak (Talan, 2019). Maksimalan potencijal pucavosti ostvaruje se ukoliko kokičar dosegne punu zrelost, a vlaga zrna je ključna za optimalnu pucavost. Proizvod nastao ispucavanjem zrna naziva se kokica.

Volumen kokičanja izražava se kao volumen dobivenih kokica po gramu zrna kukuruza kokičara (cm^3g^{-1}). Volumen kokičanja vrlo je važan pokazatelj kvalitete kokičara, osobito značajan iz razloga što se kokičar otkupljuje prema ostvarenom prinosu u zrnu (tha^{-1}) ali prodaje kao ispucane kokice po volumenu (Mason i Waldren, 1978).

2.3. KOKICE

Važan proizvod dobiven od kukuruza kokičara su kokice i ubrajaju se među najpopularnije grickalice na svijetu. Uzgajali su ih Indijci Južne i Sjeverne Amerike, ali im se popularnost povećala tek iza 1940. Nutritivno su jedne od najboljih grickalica na svijetu te su dobre za zdravlje zubi. Najviše se konzumiraju u kinima, auditorijima, zabavama itd.

Prodaju se kao obične kokice ili kokice s dodatkom okusa, te kao ispucali ili neispucali proizvod. Pakiraju se u spremnike otporne na vlagu, varirajući od plastičnih vrećica i zatvorenih staklenki do spremnika spremnih i za konvencionalno i za mikrovalno pucanje. Okus se pojačava dodatkom soli i maslaca (Ziegler i sur., 1983). Kvaliteta kokica ovisi o čimbenicima, kao što su odabir hibrida, kondicioniranje zrna i fizikalno-kemijska svojstva zrna, te vanjskim varijablama, uključujući metodu kokičanja i aditive u sastojcima (Sweley i sur., 2012).

2.4. POLICIKLIČKI AROMATSKI UGLJKOVODICI

Policiklički aromatski ugljikovodici su spojevi koji se sastoje od dva ili više spojenih benzenskih aromatskih prstenova. Zbog svoje izrazite hidrofobnosti, ali i veoma dobre topivosti u mastima, imaju tendenciju akumulirati se u prehrambenom lancu (Babić, 2018). Biorazgradivi su i bioakumulativni. Opasni su organski zagađivači, široko rasprostranjeni u okolišu, te su kancerogeni. Mogu nastati tijekom prerade prirodnog plina, sirove nafte, prerade ugljena, smeća te ostalih organskih tvari. Često su rezultat pirolitičkih procesa, osobito nepotpunog izgaranja organskog materijala kako tijekom industrijskih, tako i tijekom ljudskih aktivnosti. Osim što PAH-ove možemo pronaći u dimu cigarete, ispušnim plinovima iz automobila, katranu ugljena, asfaltu možemo ih pronaći i u prirodnim izvorima kao što su

vulkani ili šumski požari. Možemo ih pronaći gotovo svuda: u vodi, tlu, odlagalištima otpada te hrani, zbog toga što su lipofilni i kemijski stabilni spojevi. U hrani se mogu naći u širokom rasponu namirnica kao što su začini, žitarice, kruh, povrće, meso, prerađena hrana, pivo. Zbog širokog spektra rasprostranjenosti, njihova prisutnost u hrani je od velikog interesa.

Različiti PAH-ovi imaju različita kancerogena svojstva, ali svi doprinose općoj kancerogenoj slici određene dimljene hrane. Zbog toga je Europska agencija za sigurnost hrane (EFSA) odredila da su koncentracije benzo[a]pirena i zbroj koncentracija četiri PAH (benzo[a]piren, benz[a]antracen, benzo[b]fluoranten i krizen) glavni pokazatelji toksičnosti PAH-ova u hrani. Najveće posljedice izazvane unosom PAH u organizam uključuju razvojnu i reproduktivnu toksičnost, te dovode do malignih oboljenja. Utjecaj na ljudsko zdravlje ponajprije ovisi o vremenu izloženosti te samoj toksičnosti i količini PAH-ova kojom su izloženi.

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.

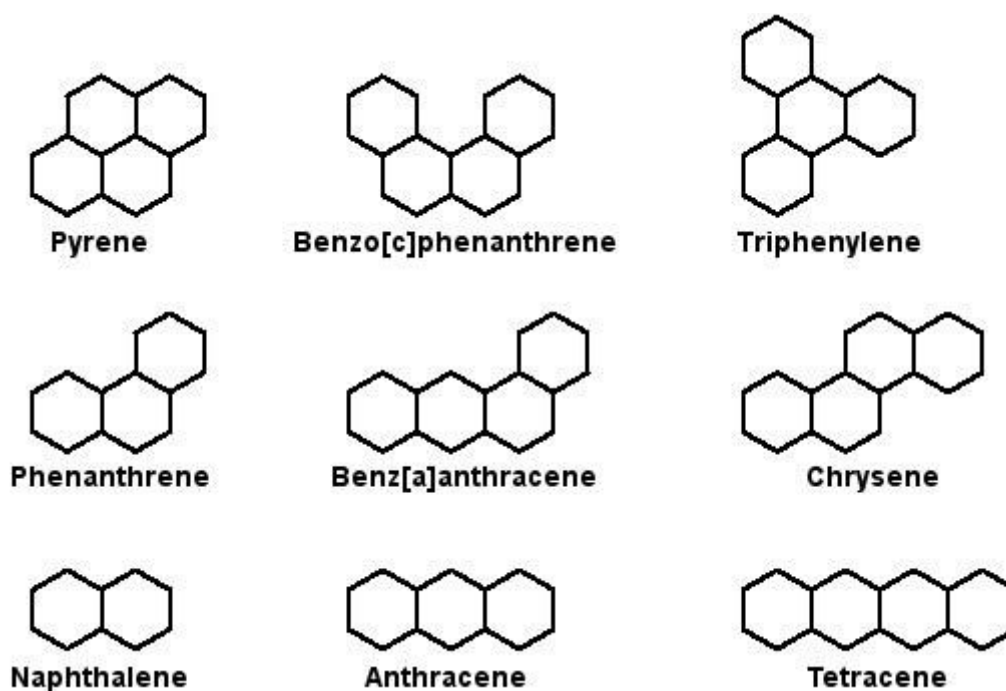
Grupa 1: benzo(a)piren (BaP).

Grupa 2A: dibenzo(a,h)antracen (DahA).

Grupa 2B: naftalen (Nap), krizen (Chry), benzo(b)fluoranten (BbF), benzo(k)fluoranten (BkF), indeno(1,2,3-cd)piren (Inp).

Grupa 3: acenaften (Ane), fluoren (Fln), fenantren (Phen), antracen (Ant), fluoranten (Flt), piren (Pyr), benzo(g,h,i)piren (BghiP).

Grupa 4: acenaftelin (Ane).



Slika 2. Policiklički aromatski ugljikovodici (Web 2)

2.4.1. Nastajanje policikličkih aromatskih ugljikovodika

Do razvijanja PAH-ova u hrani može doći tijekom dimljenja, termičke obrade pri visokim temperaturama kao što je npr. pečenje, prženje, roštiljanje itd. Tijekom termičke obrade dolazi do stvaranja PAH-ova zbog izravne pirolize hranjivih tvari i zbog izravnog taloženja PAH-ova iz dima nastalog nepotpunim izgaranjem toplinskih agensa.

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 naziva se pirosinteza (Knežević i sur., 2010).

Stvaranje PAH-ova procesom pirolize uključuje tri važna faktora: visoke temperature, smanjene razine kisika i organsku tvar što dovodi do nepotpunog izgaranja. Nastali PAH-ovi se potom akumuliraju u tlu, vodi, zraku i tako ulaze u hranidbeni lanac.

Nastaju nepotpunim izgaranjem organske tvari kondenzacijom etilenskih radikala u plinovitoj fazi te se formiraju veći policiklički spojevi. Oni koji sadrže četiri ili manje benzenskih prstenova su laki PAH (l- PAH), a oni koji imaju više od četiri benzenska prstena su teški PAH (h-PAH). H-PAH su stabilniji i toksičniji od l-PAH (Okafor i sur., 2020). Među lake PAH-ove koji su određivani svrstavaju se naftalen (NaP), acenaftilen (AnI), fluoren (FlN), antracen (Ant), fenantren (Phen), fluoranten (Flt), acenaften (Ane), piren (Pyr) i benzo(a)antracen (BaA). Teški PAH-ovi su benzo(b)fluoranten (BbF) i benzo(k)fluoranten (BkF).

PAH-ovi imaju visoku točku vrelišta i tališta, nizak tlak pare te vrlo nisku topivost u vodi. Povećanjem broja benzenovih prstena smanjuje se topljivost PAH-ova u vodi. Slabo su topivi u vodi, a topljivost u vodi pada s većom molekulskom masom, odnosno s više aromatskih prstenova u strukturi (Fernandes i Rose, 2013).

2.4.2. Metode smanjenja policikličkih aromatskih ugljikovodika u hrani

Količina nastalih PAH-ova u hrani je funkcija kemijskog sastava i temperature, pa se reguliranjem tih uvjeta njihove razine mogu značajno smanjiti u hrani (Klapec i sur., 2022). Pranjem namirnica biljnog podrijetla na kojem su dospjeli taloženjem iz zraka njihova količina se može smanjiti za 50%.

Koncentracija PAH-ova u hrani varira zbog različitih čimbenika kao što su izbor drva, tehnika dimljenja, trajanje izloženosti dimu te ovisi i o vrsti hrane. Kako bi se smanjile koncentracije PAH u hrani, Codex alimentarius preporučuje optimalnu izloženost dimu. Uz to, postoje i druge metode kojima se može postići smanjenje PAH-ova u hrani. Kod dimljenja i roštiljanja važan je i odabir drva s kojim se loži. Utvrđeno je da hrast, orah, jabuka i joha daju dim s manjim količinama PAH-ova, dok drvo zimzelenih vrsta, lješnjak, šljiva i topola proizvode velike količine PAH-ova (Klapec i sur., 2002). Preporučuje se mariniranje jer začini, češnjak, pivo i luk mogu inhibirati stvaranje PAH u mesu, zračenje, pranje te dimljenje ribe, te primjena nižih temperatura. Također, izlaganje nemasnog dijela mesa tijekom pečenja na roštilju i korištenje električnih roštilja umjesto drvenog ugljena smanjuje koncentraciju PAH-ova u hrani.

2.4.3. Metode određivanja policikličkih aromatskih ugljikovodika u hrani

Analitičke metode pomoću kojih se vrši određivanje PAH-ova su:

- Plinska kromatografija (GC),
- Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC),
- Superkrična tekućinska kromatografija (SFC) i
- Kapilarna elektroforeza (CE).

PAH-ovi u hrani su prisutni u vrlo niskim koncentracijama, te se dio organskih spojeva izdvaja zajedno s PAH-ovima. Zbog toga je analiza PAH-ova dugotrajna i osjetljiva. Najčešće korištene metode su HPLC i GC u kombinaciji sa masenom spektrometrijom.

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 (pokretna faza). Uzorak je otopljen u pokretnoj fazi (tekućina, plin, fluid pri superkričnim uvjetima) i kreće se uzduž nepokretne faze koja može biti u koloni ili na ravnoj plohi. One komponente koje stacionarna faza jače zadržava sporije prolaze kroz kolonu, dok one koje stacionarna faza slabije zadržava putuju brže (Primorac, 2009).

Plinska kromatografija (GC) je separacijska tehnika u kojoj je pokretna faza plin. Eluiranje se vrši pomoću protoka inertnog plina u plinskom kromatografu. Odvajanje sastojaka odvija se zbog razlike u njihovoj hlapivosti. Plin nosioc nema interakcije s analiziranim komponentama uzorka. Pošto je plin nosioc kemijski inertan koriste se helij, dušik i vodik.

Na određivanje PAH-ova utječu pH, temperatura, ionska jakost, topjivost u matriksu hrane. Za određivanje PAH-ova najčešće se koriste plinska i tekućinska kromatografija.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak ovog rada bio je procijeniti i kvantificirati pojavu različitih PAH-ova u kukuruзу kokičaru i kokicama izloženim različitim temperaturama sušenja tijekom varijabilnog vremenskog okvira. Ovo istraživanje se provodilo kako bi se istražilo pri kojim se uvjetima razvijaju određeni PAH-ovi u kokicama.

3.2. MATERIJAL I METODE

Hibridi kukuruza kokičara su posijani na površinama Poljoprivrednog instituta Osijek u dva ponavljanja u potpuno randomiziranom dizajnu 2020. godine.

3.2.1. Kokice

Uzorci kukuruza pripadaju hibridima:

1. Dh2xOS671
2. Dh2xOS674
3. Dh2xOS691
4. OS12xDh7-3
5. Standard – Bulut
6. Standard – OS566
7. OS20Xos691

Sjetva je provedena krajem mjeseca travnja 2020. godine. Ručna berba provedena je kada je vlaga zrna bila niža od 20% (Listopad). Uzorci su sušeni u sušari na 40°C 24 sata.

Korišteni su novi eksperimentalni hibridi PIO (1,2,3,4,7). Uz dva PIO komercijalna standarda (5 i 6).

Kokice su pripremljene iz suhog zrna (<14% vlage) u mikrovalnoj pećnici u zatvorenoj specijalnoj vrećici 120 sekundi na 700W bez uporabe ulja.

Raširena netvorena vrećica stavi se u sredinu mikrovalne pećnice na rotacijski tanjur, pritom pazeći na uputu "Ovom stranom gore". Pećnica se podesi na najjači stupanj zagrijavanja, u vremenskom rasponu 2-5 minuta. Kad se interval pucketanja produži na 2-3 sekunde,

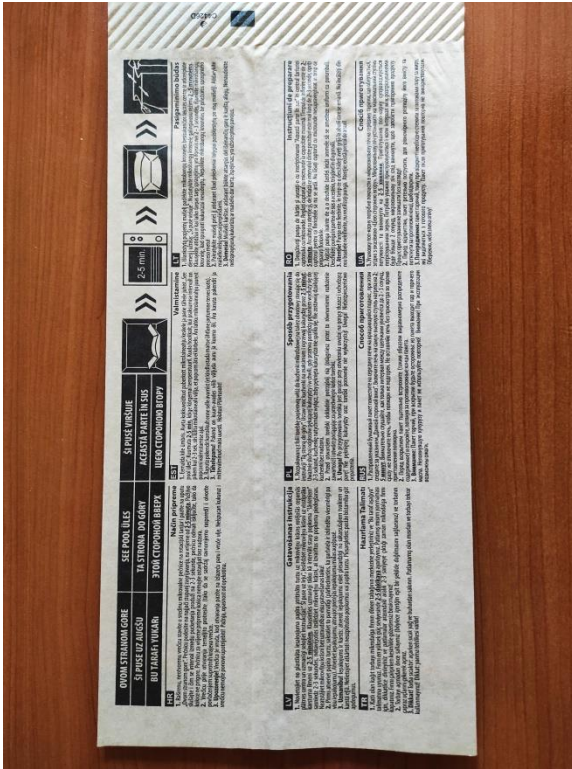
pećnica se odmah isključi, tako da kokice ne pregore. Pećnica se za vrijeme pripreme kokica ne ostavlja bez nadzora. Prije otvaranja vrećica se temeljito protrese (tako da se sadržaj ravnomjerno rasporedi) i otvori povlačenjem suprotnih krajeva vrećice, pritom pazeći na izlazeću paru. Neispucan kukuruz i vrećica se ne mogu više upotrebljavati.

3.2.2. PAH

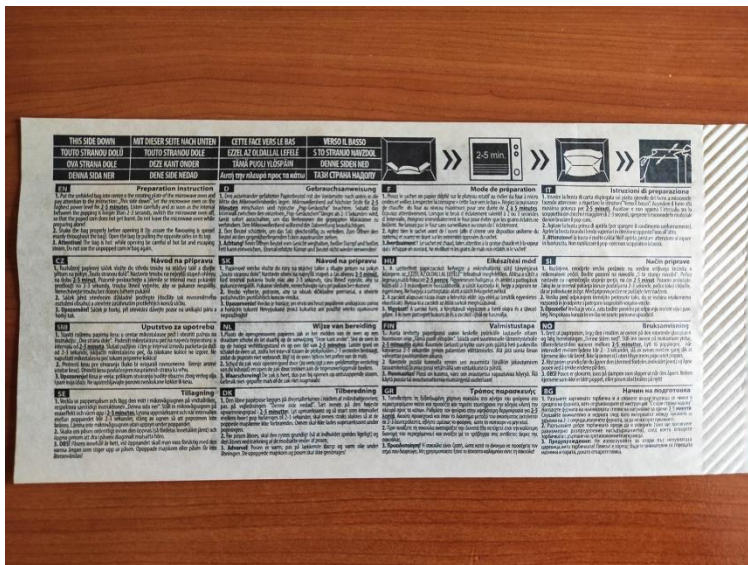
Za pripremu PAH standarda korištena je mješavina 16PAH (Ultra Scientific, North Kingstown, RI, SAD) ($500 \pm 0,2 \mu\text{g/mL}$). Prema službenoj metodi 2007.01 Udruge analitičkih zajednica (AOAC) za ekstrakciju i čišćenje, uzorci su pripremljeni kako je opisano u Novakov i sur. (2017.) i Mastanjević i sur. (2019) korištenjem višerezidualnih pripravaka (QuEChERS). Prilagođeni su GC-MS parametri. Modificirana je metoda određivanja PAH-ova prema akreditiranoj metodi ISO 17025. Kako bi se smanjila ili potpuno eliminirala interferencija s matriksom uzorka, provela se kalibracija korištenjem slijepe probe. Detaljan opis analize opisan je u preliminarnom istraživačkom radu koji je objavio Mastanjević i sur. (2019). Tablica 2 sadrži popis analiziranih PAH-ova.

Tablica 2. Popis analiziranih PAH i njihovih kratica

Policiklički ugljikovodici (PAH)	aromatski	Kratice
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



Slika 3. Vrećica za pripremu kokica (izvor: privatna arhiva)



Slika 4. Vrećica za pripremu kokica (izvor: privatna arhiva)

4. RASPRAVA

4.1. PAH-OVI U KUKURUZU I KOKICAMA

Rezultati analize pokazali su da se u kukuruзу kokičaru i kokicama može detektirati određeni tip i količina PAH-ova. Tablica 3 prikazuje koncentracije PAH-ova u kukuruзу kokičaru i iz nje je vidljivo da su količine PAH-ova u njemu ispod razine detekcije. To se vjerojatno može pripisati tvrdoj i voštanoj ovojnici zrna kukuruза na kojoj zaostaje malo PAH-ova iz okoliša (tijekom kultivacije i uzgoja). Iako nema puno sličnih istraživanja provedenih na kukuruзу kokičaru, a ni kukuruзу općenito, ovi rezultati se mogu usporediti sa istraživanjem koje u proveli Kiš i sur. (2010) u kojem nisu detektirani PAH-ovi u zrnima kukuruза prije sušenja.

Muntean i sur., (2019) su također proveli slično istraživanje, tijekom tri godine, pri čemu su oni detektirali većinom lake PAH-ove u zrnu kukuruза. Nap, Flu i Ane. Najviše koncentracija bila je zabilježena za Nap sa oko 4 µg/kg za svaku godinu. Ostali PAH-ovi bili su detektirani u niskim koncentracijama. Ipak, ukupni zbroj svih detektiranih PAH-ova iznosili su preko 7 µg/kg što je zabrinjavajuće jer su kokice dostupne svim dobnim skupinama, pa i djeci. Količina koju propisuje Uredba EU br. 835/2011 iznosi 1 µg/kg.

S druge strane, količine PAH-ova u kokicama koje smo podvrgli analizi bile su značajne za neke od PAH-ova. U Tablici 4 prikazane su količine PAH-ova u kokicama koje su ispućane u vrećici. Kako se može primijeti, neki PAH-ovi pojavljuju se u svim uzorcima: Ane, Flu, Ant, Phen, Flt, BaA, Pyr. Najviša koncentracija Phen zabilježena je u uzorku 2 (Dh2xOS674) i iznosila je gotovo 70 µg/kg, dok je u uzorku 3 (Dh2xOS691) iznosila 34,0832 µg/kg. Sljedeći PAH koji se detektirao u najvišoj koncentraciji je Ant sa 35,9331 µg/kg, u uzorku 1, odnosno liniji Dh2xOS671. Slična koncentracija je određena i u uzorku 7 (OS20Xos691) i iznosila je 33,8201 µg/kg. Iako su ove koncentracije razmjerno visoke, ipak se radi o lakim PAH-ovima koji imaju slabiji učinak na zdravlje ljudi.

Teži spojevi, kao što su benzo(b)fluoranten (BbF) te laki krizen također su detektirani u uzorcima dok benzo(k)fluoranten (BkF) i InP nisu detektirani niti u jednom uzorku. Iako je krizen zabilježen u nekoliko uzorka (Dh2xOS691, OS12xDh7-3, Bulut) i u niskim koncentracijama, pridonio je ukupnoj koncentraciji PAH4 pa je tako suma PAH4 za uzorak Dh2xOS691 iznosila preko 2 µg/kg što je preko propisane granice za žitarice (prema Uredbi Europske komisije, 2011). Ovaj podatak može biti alarmantan za konzumente i trebalo bi obratiti pažnju u smislu zakonske regulacije.

Obzirom da su kokice jako lagane, moguće je da ove vrijednosti koncentracije PAH-ova ne mogu značajno utjecati na zdravlje, ali to bi svejedno trebalo obratiti pažnju na jer su kokice raširena namirnica koju konzumiraju sve dobne skupine.

Također, ovaj eksperiment je proveden na kolicama ispucanim u vrećicama bez dodanog ulja, a obzirom na to da se kokice mogu pripremati i u posudama sa dodatkom ulja ili maslaca, te u uređajima za pripremu kokica, trebalo bi svakako ispitati utječe li način pripreme na pojavnost PAH-ova u kolicama.

Tablica 3. Koncentracije PAH-ova u analiziranim uzorcima kukuruza kokičara ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Uzorak	Nap	Anl	Ane	Flu	Ant	Phen	Flt	BaA	Pyr	Chry	BkF	BaP	BghiP	InP	PAH 4	PAH16
Dh2xOS671	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Dh2xOS674	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Dh2xOS691	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
OS12xDh7-3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Bulut	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
OS566	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
OS20Xos691	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

*nd – nije detektirano

Tablica 4. Koncentracije PAH-ova u analiziranim uzorcima kokica ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Uzorak	Nap	Anl	Ane	Flu	Ant	Phen	Flt	BaA	Pyr	Chry	BkF	BaP	BghiP	InP	PAH 4	PAH16
Dh2xOS671	nd	nd	5,2592	8,0676	35,9331	10,4180	4,0441	nd	2,2434	nd	nd	nd	nd	nd	0,2250	3,5458
Dh2xOS674	nd	nd	0,7889	1,7084	18,5831	69,3685	2,1616	0,6699	1,3410	nd	nd	nd	nd	nd	0,2688	7,6628
Dh2xOS691	17,940	8,1530	0,1308	1,0743	9,1345	34,0832	0,9599	0,3852	2,5638	0,3132	nd	0,0638	0,0648	nd	2,8290	nd
OS12xDh7-3	1,067	3,1110	0,1574	1,3711	9,0597	4,1872	1,1114	0,3889	3,1329	0,3148	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Bulut	0,266	1,0685	0,0270	0,2937	2,5972	1,0674	0,2490	0,0841	0,1896	0,0686	nd	nd	nd	nd	nd	nd
OS566	1,858	nd	2,5666	2,2979	20,7378	9,4098	3,0556	0,3622	1,9312	nd	nd	nd	nd	nd	nd	6,7430
OS20Xos691	nd	nd	1,3305	3,0835	33,8201	8,3844	4,0161	0,1252	2,2425	nd	nd	nd	nd	nd	nd	4,7028

*nd – nije
detektirano

5. ZAKLJUČCI

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

1. PAH-ovi nisu detektirani u uzorcima kukuruza.
2. U uzorcima kokica pronađeno je najviše lakih PAH-ova i najviša koncentracija zabilježena je u uzorku 2 (Dh2xOS674) i iznosila je gotovo 70 µg/kg za Phen.
3. Teži PAH-ovi i krizen zabilježeni su u nekoliko uzoraka pri čemu je u uzorku 3 koncentracija PAH4 iznosila 2,8290 µg/kg što je dvostruko više od dopuštene vrijednosti za PAH4 u žitaricama.
4. Obzirom da su kokice dostupne svim dobnim skupinama, podaci su zabrinjavajući i zahtijevaju više pozornosti legislativnih tijela i znanstvene zajednice.

6. LITERATURA

- Krisla A: Kukuruz- karakteristike i genetska modifikacija. *Završni rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2009.
- Babić J: *Ispitivanje utjecaja odabranih filtera na koncentraciju polickličkih aromatskih ugljikovodika kod proizvodnje toplo dimljenog šarana*. Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, 2018.
- Brunson AM, Richardson DL: *Popcorn*. U.S. Department of Agriculture, Washington, D.C. 1958.
- Dennis MJ , Massey RC, Cripps G, Venn I, Howarth N, Lee G: Factors affecting the polycyclic aromatic hydrocarbon content of cereals, fats and other food products, *Food additives and contaminants*, 8:517-530, 1991.
- 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.
- Fernandes A, Rose M: *Persistent Organic Pollutants and Toxic Metals in Foods*. Woodhead Publishing, 2013.
- Garcia-Pinilla S, Guitierrez-Lopez GF, Hernandez-Sanchez H, Gonzales-Barbosa JJ, Garcia-Armenta E, Alamilla-Beltran L, Dorantes-Alvarez L: 2-Dimension hot-air popcorn morphology development. *Journal of Food Engineering* 259:29-33, 2019.
- Hoseney RC, Zeleznak K, Abdelrahman A: Mechanism of popcorn popping. *Journal of Cereal Science* 1:43-52, 1983.
- IARC, Internatiol Agency for Research on Cancer: *Some non-heterocyclic polycyclic hydrocarbons and some related exposures*, IARC, Lyon, 2010.
- Jevtić S: Kukuruz – *Zea mays* (morfofiziologija, ekologija i fiziologija), Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, 1973.
- Josip T: Utjecaj različite gustoće i rasporeda sjetve na prinos i parametre kvalitete kukuruza kokičara (*Zea mays* everta Sturt.). *Završni rad*, Fakultet agrobiotehičkih znanosti, Osijek, 2020.
- Jozinović A: Škrob i sirovine za proizvodnju škroba. *Nastavni materijali*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, 2022.
- Klapec T, Šarkanj B, Marček T: Opasnosti vezane uz hranu. *Interna skripta*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, 2022.
- Knežević Z, Bilandžić N, Đokić M, Sedak M, Varenina I, Solomun B, Serdar M: Nastajanje mutagena u hrani tijekom toplinske obrade, *MESO: Prvi hrvatski časopis o mesu*, 12:237-243, 2010.

- Mafrá JB, Santos RF, Venturelli GM, Bassegio D, Coelho SRM, Simonetti APMM, Branco TM, Branco KC: Evaluation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the corn drying process. *Research, Society and Development*, 2021.
- Marija Š: Skladištenje kukuruza i proizvodnja kukuruznog brašna i krupice u PIK-u Vinkovci. *Završni rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2010.
- Mason ND, Waldren RP: Popcorn Production. University of Nebraska, Lincoln, <https://digitalcommons.unl.edu/extensionhist/745> , 1978
- Mastanjević K, Krstanović V, Kovačević D, Kartalović B, Habschied K: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Malt, *Beverages* 7:58, 2021
<https://doi.org/10.3390/beverages7030058>
- 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.
- Mateo M: Utjecaj različitih postupaka dimljenja na sadržaj policikličkih aromatskih ugljikovodika (PAH) u domaćoj dimljenoj suhoj slanini. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2021.
- Medvecki A: Agrotehnika uzgoja kukuruza kokičara. *Diplomski rad*. Poljoprivredni fakultet, Osijek, 2015.
- Muntean E, Duda M, Muntea N: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Corn Grains, Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca Food Science and Technology, 2019.
- Murray JR, Penning TM: Carcinogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Comprehensive Toxicology (Third Edition)*, 87-153, 2018.
- 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*, 10:208–215, 2017.
- Okafor VN, Uche UB, Abailim RC: Levels of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Beers: Consumption and Public Health Concerns. *Chemical Science International Journal* 29:47-59, 2020.
- Primorac, Lj: Kromatografske metode. *Nastavni materijali*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2009.
- Rey-Salgueiro L, Garcia-Falcon MS, Martinez-Carballo E, Simal-Gandara J: Effects of toasting procedures on the levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in toasted bread. *Food Chemistry* 108:607-615, 2008.

Solaimalai A, Anatharaju P, Irulandi S, Theradimani M: Maize crop, Improvement, Production, Protection and Post Harvest Technology, London, 2020.

<https://doi.org/10.1201/9781003090182>

Sweley JS, Rose DJ, Jackson DS: Quality traits and popping performance considerations for popcorn (*Zea mays* Everta), *Food Reviews International*, 29:157-177, 2013.

Web 1. <https://www.vrtlarica.hr/sadnja-uzgoj-kukuruza-kokicara/> [14.9.2022]

Web 2 <https://www.bug.hr/znanost/kemisar-u-kuci-16-opasnost-od-dima--duhanskog-i-onog-drugog-16567> [14.9.2022]

Ziegler KE, Ashman RB, White GM, Wysong DS: Popcorn production and marketing, Oklahoma Cooperative Extension Service, 1989.

Ziegler KE, Ashman RB, White GM, Wysong DS: Popcorn Production and Marketing. Cooperative Extension Service, Purdue University, West Lafayette, Indiana. National Corn Handbook, 1984.

