

# Utjecaj različitih postupaka dimljenja na sadržaj policikličkih aromatskih ugljikovodika (PAH) u Slavonskoj kobasici

---

Glavina, Vedran

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:109:193930>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-22**

REPOZITORIJ

PTFS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar  
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

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



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

Vedran Glavina

**UTJECAJ RAZLIČITIH POSTUPAKA DIMLJENJA NA SADRŽAJ  
POLICIKLIČKIH AROMATSKIH UGLJKOVODIKA (PAH) U  
SLAVONSKOJ KOBASICI**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan 2021.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

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

Diplomski sveučilišni studij: **Prehrambeno inženjerstvo**

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti

**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija

**Nastavni predmet:** Autohtoni mesni proizvodi

Utjecaj različitih postupaka dimljenja na sadržaj policikličkih aromatskih ugljikovodika

**Tema rada:** (PAH) u Slavonskoj kobasici

**Mentor:** Izv.prof.dr.sc. Krešimir Mastanjević

**Pomoć pri izradi:**

**Utjecaj različitih postupaka dimljenja na sadržaj policikličkih aromatskih ugljikovodika (PAH) u Slavonskoj kobasici**

*Vedran Glavina*

**Sažetak:** Glavni cilj ovog istraživanja je odrediti i izmjeriti koncentracije 16 policikličkih ugljikovodika (PAH-ova) u tradicionalnoj Slavonskoj kobasici. Mjerenja smo provodili na Slavonskoj kobasici koja se dimila na dva načina. Uzorci Slavonske kobasice dimljeni su tradicionalno (otvorena ložišta, na 2 i 3 metra udaljenosti od ložišta) i industrijski (pomoću dimogeneratora sa zagrijanom pločom). Također, uzorci su punjeni u umjetne (kolagenske) i prirodne (tanko svinjsko crijevo) ovitke. U ovom istraživanju PAH-ovi su određivani nakon faze dimljenja i na kraju procesa proizvodnje Slavonske kobasice. Najviše koncentracije PAH-ova imali su uzorci Slavonske kobasice dimljeni s otvorenim ložištima, punjeni u prirodne ovitke s 2 metra udaljenošću od ložišta. (509 µg/kg nakon faze dimljenja i 679 µg/kg na kraju procesa proizvodnje). S druge strane, kod Slavonske kobasice koja je bila punjena u kolagenski ovitak i dimljena s dimogeneratorom sadržavala je najmanji udio PAH-ova (114µg/kg i 124 µg/kg). Također, određene koncentracije potencijalno kancerogenog benz[α] antracena određene su u uzorcima Slavonske kobasice koji su bili dimljeni s otvorenim ložištima, punjeni u prirodne ovitke. Njegova koncentracija nije prešla zakonski propisanu granicu od 30 µg/kg za skupinu kemijskih spojeva PAH4 (zbroj koncentracija benz[a]antracena, krizena, benzo[b]fluorantena i benzo[a]pirena) (EC No. XX/2019).

**Ključne riječi:** Slavonska kobasica, industrijsko dimljenje, tradicionalno dimljenje, policiklički aromatski ugljikovodici

**Rad sadrži:** 47 stranica  
12 slika  
8 tablica  
0 priloga  
14 literaturne reference

**Jezik izvornika:** hrvatski

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

- |   |               |
|---|---------------|
| 1. <i>prof. dr. sc. Dragan Kovačević</i>          | predsjednik   |
| 2. <i>izv. prof. dr. sc. Krešimir Mastanjević</i> | član-mentor   |
| 3. <i>dr. sc. Brankica Kartalović, znan. sur.</i> | član          |
| 4. <i>prof. dr. sc. Marko Jukić</i>               | zamjena člana |

**Datum obrane:** 30. rujna 2021.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek  
Faculty of Food Technology Osijek  
Department of Food Technology  
Subdepartment of meat and milk technology  
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

**Graduate program: Food Engineering**

**Scientific area:** Biotechnical sciences

**Scientific field:** Food technology

**Course title:** Indigenous meat products

Influence of different smoking procedures on the content of polycyclic aromatic

**Thesis subject:** hydrocarbons (PAH) in Slavonian sausage

**Mentor:** Krešimir Mastanjević, PhD, associate professor

**Technical assistance:**

**INFLUENCE OF DIFFERENT SMOKING PROCEDURES ON THE CONTENT OF POLYCYCLIC AROMATIC  
HYDROCARBONS (PAH) IN SLAVONIAN SAUSAGE**

*Vedran Glavina*

**Summary:** The aim of this study was to determine the content of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the traditional dry sausage Slavonska kobasica. Smoking was conducted in a traditional smokehouse (two and three-metre distances from the open fire) and in an industrial chamber. Two different casings were also applied: natural and collagen. PAHs were determined at the end of the smoking phase and at the end phase of the whole production process. The highest total content of the 16 PAHs was determined in sausages stuffed in natural casings and smoked in a traditional smokehouse (two metre distance from the open fire) at both examined periods (509 µg/kg; 679 µg/kg respectively). The use of a collagen casing and an industrial chamber resulted in the lowest content of the 16 PAHs (114 µg/kg; 124 µg/kg respectively). Possibly carcinogenic benz[a]anthracene was found in sausages stuffed in natural casings and smoked in traditional conditions, but the values remained below the legal concentration limit of 30 µg/kg for PAH4 (EC No. XX/2019).

**Key words:** *Slavonian sausage, smoking, polycyclic hydrocarbons*

**Thesis contains:** 47 pages  
12 figures  
8 tables  
0 supplements  
14 references

**Original in:** croatian

**Defense committee:**

- |  |              |
|--|--------------|
| 1. <i>Dragan Kovačević, PhD, full prof.</i>            | chair person |
| 2. <i>Krešimir Mastanjević, PhD, assistant prof.</i>   | supervisor   |
| 3. <i>Brankica Kartalović, PhD, research associate</i> | member       |
| 4. <i>Marko Jukić, PhD, associate prof.</i>            | stand-in     |

**Datum obrane:** 30<sup>th</sup> September 2021.

*Zahvaljujem se mentoru izv. prof. dr. sc. Krešimiru Mastanjević na uloženom vremenu, trudu i pomoći oko izrade diplomskog rada.*

*Zahvaljujem se svim djelatnicima Prehrambeno tehnološkog fakulteta Osijek.*

*Zahvaljujem se svojim roditeljima i cijeloj obitelji što su me bodrili i uzdržavali tijekom studiranja.*

## Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	8
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	10
<b>2.1. Slavonska kobasica</b> .....	11
<b>2.1.1. Proizvodnja Slavonske kobasice</b> .....	12
<b>2.2. Policiklički aromatski ugljikovodici</b> .....	21
<b>2.2.1. Kancerogenost policikličkih aromatskih ugljikovodika</b> .....	22
<b>2.2.2. Dopuštenost PAH-ova u hrani</b> .....	23
<b>2.2.3. Metode određivanja PAH-ova</b> .....	25
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	28
<b>3.1. Zadatak</b> .....	29
<b>3.2. Materijali i metode</b> .....	29
<b>3.2.1. Pripremanje kobasica i dimljenje</b> .....	29
<b>3.2.2. Određivanje i kvantificiranje policikličkih aromatskih ugljikovodika</b> .....	31
<b>3.2.3. Priprema uzoraka</b> .....	32
<b>3.2.4. GC-MS analiza</b> .....	34
<b>3.2.5. Validacija metode za određivanje policikličkih aromatskih ugljikovodika</b> .....	34
<b>3.2.6. Statistička analiza</b> .....	34
<b>4. REZULTATI</b> .....	36
<b>4.1. Rezultati mjerenja</b> .....	37
<b>5. RASPRAVA</b> .....	39
<b>5.1. Rasprava</b> .....	40
<b>5.1.1. Sadržaj PAH-ova u Slavonskoj kobasici nakon postupka dimljenja</b> .....	40
<b>5.1.2. Sadržaj PAH-ova u Slavonskoj kobasici na kraju proizvodnog procesa</b> .....	41
<b>6. ZAKLJUČCI</b> .....	43

<b>7. LITERATURA.....</b>	<b>45</b>
---------------------------	-----------

### **Popis oznaka, kratica i simbola:**

TS-2NC	Tradicionalno dimljenje Slavonske kobasice u prirodnom ovitku na 2 m udaljenosti od ložišta
TS-2CC	Tradicionalno dimljenje Slavonske kobasice u kolagenom ovitku na 2 m udaljenosti od ložišta
TS-3NC	Tradicionalno dimljenje Slavonske kobasice u prirodnom ovitku na 3 m udaljenosti od ložišta
TS-3CC	Tradicionalno dimljenje Slavonske kobasice u kolagenom ovitku na 3 m udaljenosti od ložišta
IS-NC	Industrijsko dimljenje Slavonske kobasice u prirodnom ovitku
IS-CC	Industrijsko dimljenje Slavonske kobasice u kolagenom ovitku
PAH	Policiklički aromatski ugljikovodici
PAH4	Zbroj koncentracija BaA, Chry, BbF i Bap
PAH16	Zbroj koncentracija Nap, Anl, Ane, Flu, Ant, Phen, Flt, BaA, Pyr, Chyr, BbF, BkF, Bap, DahA, BghiP, InP
BMV	Blijedo, mekano, vodnjikavo meso
TČS	Tamno, čvrsto, suho meso
LOD	Limit detekcije
LOQ	Limit kvantifikacije
EFSA	Europska agencija za sigurnost hrane
GC-MS	Plinska kromatografija-masena spektroskopija



## **1. UVOD**

Hrvatska, zbog svojih zemljopisnih i klimatskih specifičnosti, ima veliki broj tradicionalnih proizvoda koji bi standardizacijom kvalitete, povećanjem proizvodnih kapaciteta te zaštitom oznaka zemljopisnog podrijetla, tradicije ili izvornosti, trebala postati hrvatski izvozni *brand* – naročito u turističkoj ponudi. Konzumacija takvih tradicionalnih proizvoda, vezanih za određeno podneblje, privlači sve više potrošača velike kupovne moći. Europska unija pridaje veliki značaj u proizvodnji tradicionalnih prehrambenih proizvoda jer doprinose razvoju malih sredina, posebice ruralnih.

Među mnoštvom takvih proizvoda, svoje mjesto pronalazi i Slavonska kobasica. Slavonska kobasica je trajna kobasica koja se proizvodi posebice u Slavoniji i Baranji, prateći tradicionalnu recepturu i tehnologiju (Kovačević, 2015). Ona se proizvodi od svinjskog mesa punjenog u različite ovitke, gdje i dalje dominira tanko svinjsko crijevo kao prirodni ovitak, ali sve više i više ljudi okreće se proizvodnji takvih proizvoda u kolagenskim ovitcima, koji pokazuju iznimno dobre karakteristike. Ovitci se pune svinjskim mesom, prethodno mljevenim uz eventualni dodatak leđne slanine. Također, u nadjev s kojim se pune ovitci, dodaje se kuhinjska sol koja uz poboljšanje organoleptičkih karakteristika proizvoda služi i za konzerviranje mesa. Uz sol se dodaju još i začini: češnjak, paprika i papar. Tako dobivena mješavina nadjeva se u prirodna ili kolagena crijeva te podvrgava procesu dimljenja i zrenja, gdje prirodna fermentacija daje kobasici specifične arome.

U ovom radu će se usporediti procesi dimljenja Slavonske kobasice dvama postupcima – u industrijskoj pušnici i tradicionalnoj pušnici. Također, kobasice će biti nadijevane u dva različita ovitka, od kojih je jedan prirodni (svinjsko tanko crijevo), a drugi kolagensko crijevo. Tako odimljenim kobasicama odrediti će se sadržaj policikličkih aromatskih ugljikovodika i napraviti će se usporedba iz koje će se izvući određeni zaključci.

## **2. TEORIJSKI DIO**

## 2.1. Slavonska kobasica

Slavonska kobasica je trajna fermentirana kobasica proizvedena od usitnjenog svinjskog mesa i slanine (udio mesa iznosi najmanje 70%) uz dodatak kuhinjske soli i začina (usitnjene slatke i ljute crvene paprike i češnjaka), a koja se nadijeva u svinjsko tanko crijevo. Proizvodni proces traje najmanje 60 dana tijekom kojeg se nadjeveno svinjsko tanko crijevo (sirova Slavonska kobasica) sukcesivno podvrgava procesima fermentacije, dimljenja, sušenja i zrenja. Proizvodi se tijekom cijele godine. (Ministarstvo Poljoprivrede, 2020).

Slavonska kobasica proizvodi se od usitnjenog svinjskog mesa i slanine koji se dobivaju klanjem utovljenih svinja starih najmanje 12 mjeseci i najmanje mase 140 kg. Također proizvode se i od mesa krmača izlučenih iz rasploda, starih najmanje 12 mjeseci i najmanje mase 140 kg. (Ministarstvo Poljoprivrede, 2020). Dozvoljava se i korištenje mesa i slanine autohtonih pasmina, poput crne slavonske svinje te drugih plemenitih pasmina i njihovih križanaca.

Takav proizvod, vidljiv na **Slici 1**, je izduženog valjkastog oblika, duljine minimalno 35 cm te presjeka 2 do 3 cm. Ovitak je tamnosmeđe do crvenkaste boje bez mrlja, nabora, oštećenja ili površinske plijesni. Tekstura je čvrsta i elastična, ali ne smije biti gumenasta. Dobro se reže, ne drob se prilikom rezanja i lako se žvače. Presjek nadjeva je smeđe do tamnocrvene boje osim masnog tkiva koje može biti bijele do narančaste boje (Ministarstvo poljoprivrede, 2020).

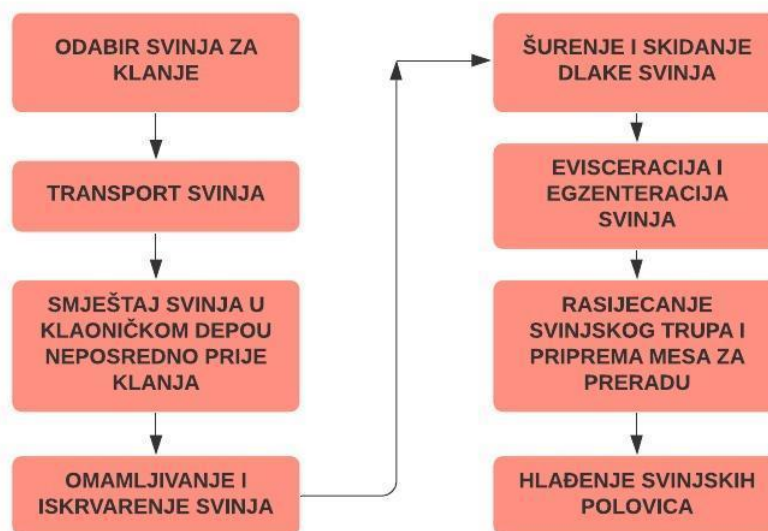


*Slika 1 Tradicionalna Slavonska kobasica (Ministarstvo Poljoprivrede, 2020)*

## 2.1.1. Proizvodnja Slavonske kobasice

### 2.1.1.1. Klanje, obrada trupa svinje i priprema mesa

Klanje i obrada svinjskog trupa provodi se u registriranim klaonicama (mesna industrija) ili u seoskim domaćinstvima (na tradicionalan način) i uključuje sljedeće korake:



**Slika 2** Shematski prikaz tehnologije klanja i obrade svinjskog trupa (Kovačević, 2015)

#### Odabir svinja za klanje

Svinje koje se koriste u tradicionalnoj proizvodnji Slavonske kobasice uzgajaju se u seoskim domaćinstvima primjenom otvorenog, poluotvorenog i zatvorenog načina držanja. U takvom uzgoju prevladavaju dvopasminski i tropasminski križanci velikog jorkšira, švedskog landrasa i duroka te autohtona pasmina fajferica. U industrijskoj proizvodnji koristi se meso svinja uzgojenih na farmama vrlo često manjih završnih težina i mesnatih pasmina sklonih stresu (Kovačević, 2015).

#### Transport svinja

Nepravilan transport utječe na opće stanje svinja, pa time i na kvalitetu mesa. Tijekom transporta životinje ne smiju biti izložene prekomjernom stresu, maltretiranju i fizičkim naporima. Istraživanja pokazuju da je duljina transporta proporcionalna stresu stoga je vrlo bitno osigurati najkraći i najmanje invazivan način transporta svinje. U tradicionalnoj proizvodnji, transport se najčešće obavlja pomoću prilagođenih traktorskih prikolica ili sanduka. Takav način transporta može djelovati stresno i pogodovati nastanku BMV i TČS mesa. BMV meso je izrazito blijede boje, podložnije nastanku sivih ili zelenkasto-sivih diskoloracija tijekom hlađenja te je kiselkastog okusa nalik na ribu. Takvo meso otpušta vlagu te dovodi do gubitka sočnosti. TČS meso je ima vrlo dobru sposobnost zadržavanja vode, ali tamna boja takvog mesa djeluje odbojno krajnjim potrošačima (Karolyi, 2004). Oba tipa mesa su nepoželjna u proizvodnji. Transport svinja u industrijskoj proizvodnji reguliran je različitim pravilnicima, sve sa ciljem smanjenja mogućnosti nastanka BMV i TČS mesa uz humano ponašanje prema životinji (Kovačević, 2015).

#### Smještaj svinje u klaoničkom depou neposredno prije klanja

U tradicionalnoj proizvodnji svinje se u proizvodni pogon dovode neposredno prije klanja te se kraće zadržavaju u prijevoznom sredstvu. Voda se uskraćuje 2 sata prije klanja dok hrana 18 sati prije klanja kako bi se spriječila prepunjenost crijeva. U industrijskoj proizvodnji, životinje se nakon transporta smještaju u klaonički depo radi odmora i pripreme za klanje te se izdvajaju bolesne ili ozlijeđene svinje (Kovačević, 2015).

#### Omamljivanje i iskrvarenje svinja

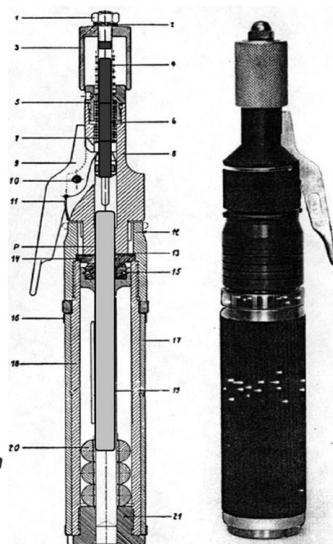
Omamljivanje u industrijskoj proizvodnji je operacija kojom se smanjuje bol i mučenje životinja, postiže sigurnost radnika od povrede pri klanju te povećava krvni tlak svinja, čime se pospješuje iskrvarenje. Tri su načina omamljivanja:

- Mehanički – probijanjem čeone kosti i oštećenjem mozga koji rezultira gubitkom svijesti, padom životinje i prestankom disanja,
- Električni – elektrošokom koji rezultira gubitkom svijesti, padom i grčenjem mišića,
- Pomoću argona/CO<sub>2</sub> – najefikasniji, oduzima se kisik potreban za disanje koji rezultira nesvjesticom i anestezijom.

Prilikom iskrvarenja iz trupa životinje istječe oko 50 % krvi.

U tradicionalnoj proizvodnji, svinje se najčešće omamljuju mehanički, pomoću Schermerova aparata (Slika 3) (Kovačević, 2015).

- P - naboj*
- 1 - matica udarne igle*
- 2 - podloška*
- 3 - zaštitna kapa*
- 4 - povratna opruga*
- 5 - vodilica*
- 6 - udarna igla*
- 7 - udarna opruga*
- 8 - poklopac glave kućišta*
- 9 - okidač*
- 10 - zatik*
- 11 - opruga*
- 12 - spojnica*
- 13 - udarač*
- 14 - ležište (disk) naboja*
- 15 - držač opruge*
- 16 - držač gumenog plašta*
- 17 - gumeni plašt*
- 18 - vodilica sa završnim prstenom*
- 19 - udarni klin*
- 20 - gumeni prsten*
- 21 - usmjerivač udarnog klina*



**Slika 3** Schermerov aparat (<https://docplayer.gr/docs-images/66/55394419/images/173-0.jpg>)  
(preuzeto: 22.3.2021., 11:50))

### Šurenje i skidanje dlake

U industriji i u tradicionalnoj proizvodnji, najčešće se šurenje provodi potapanjem trupa svinje u vruću vodu, dok se prskanje svinjskog trupa vrućom vodom, iako higijenski ispravniji postupak, slabije provodi zbog svoje neekonomičnosti i slabijeg uklanjanja dlake s glave. Temperatura vode za šurenje iznosi 60-65 °C, a trup se u vodi zadržava 5-6 min. Skidanje dlake se u tradicionalnoj proizvodnji uklanja tzv. glocknama (Slika 4), dok se u industriji ono provodi mehaničkim uređajima s gumenim valjcima (Kovačević, 2015).



**Slika 4** Glokna (<http://www.messar.rs/image/cache/data/ostalo/90006150-500x500.jpg> (preuzeto: 22.3.2021., 11:56))

#### Evisceracija i egzenteracija svinja

Obavlja se na kolosjeku (u industriji) ili na vješalima (u domaćinstvu) nakon potupnog čišćenja i završnog pranja. Trup se otvara u tri faze: otvaranje zdjelične, trbušne i prsne šupljine, te se odstranjuju svi unutarnji organi trupa (Kovačević, 2015).

#### Rasijecanje svinjskog trupa i priprema mesa za preradu

Trup se nakon evisceracije rasijeca na polovice po dužini, zajedno s glavom pomoću električne ili mehaničke pile. Nakon odstranjivanje repa, ostatka dijafragme i pranja krvavih djelova, polovice se transportiraju u hladnjaču (industrijska proizvodnja) (Kovačević, 2015).

#### Hlađenje svinjskih polovica

Polovice se moraju ohladiti prije nego se pristupa ostalim operacijama. U industrijskoj proizvodnji hlade se u hladnjačama do +4 °C, a u tradicionalnoj se hlade na atmosferskom zraku (u slučaju da vanjska temperatura to dopušta (Kovačević, 2015).

### **2.1.1.2. Pregled svinjskog mesa na trihinelu**

Trihinelozna je zoonoza, bolest od koje obolijevaju podjednako i ljudi i životinje, a uzrokuje ju parazit *Trichinella spiralis*. Trihinela je mali valjkasti crv koji ulazi u organizam kada čovjek ili životinja pojedu meso u kojem se nalaze ućahurene larve trihinela. One se pod utjecajem sokova digestivnog trakta oslobađaju svojih ćahura i brzo rastu te mogu uzrokovati



degeneraciju mišićnih vlakana. Simptomi se manifestiraju povišenom temperaturom, bolovima u mišićima, edemom vjeđa, povraćanjem itd.

Trihineloskopski pregled mora se, sukladno propisima, obavljati metodom umjetne probave koja se provodi u laboratorijima simulacijom probave želuca u uvjetima povišene temperature. Uzorci se nakon digestije podvrgavaju pregledu pod mikroskopom (Kovačević, 2015).

### 2.1.1.3. Usitnjavanje, miješanje i začinjavanje mesa

Usitnjavanje, miješanje i začinjavanje mesa uključuje sljedeće korake:



**Slika 5** Shematski prikaz tehnologije miješanja, usitnjavanja i začinjavanja mesa (Kovačević, 2015)

#### Usitnjavanje i miješanje namrznutog mesa i slanine

Ohlađeno meso usitnjava se u stroju za mljevenje mesa s perforacijama promjera 8-10 mm. Važno je održavati nisku temperaturu mesa tijekom usitnjavanja kako bi se olakšalo usitnjavanje i spriječila denaturacija proteina zbog povišene temperature (trenje) te izbjeglo oslobađanje intramuskularne masti iz mesa.

Namrznuta slanina se, nakon skidanja kože, usitnjava u stroju za mljevenje mesa s perforacijama 6 mm.

Na **slici 6** vidljiv je jedan industrijski stroj za usitnjavanje mesa.



**Slika 6** Uređaj za usitnjavanje mesa (Kovačević, 2015)

#### Dodavanje kuhinjske soli i začina

Usitnjeno meso i slanina se važu, miješaju u omjeru (omjer slanine do max. 30 %) te im se mjeri pH. Nakon toga dodaju se kuhinjska sol i začini. Kuhinjska sol i začini najčešće se dodaju u omjeru prikazanom u **tablici 1**.

**Tablica 1** Receptura za začinjavanje Slavonske kobasice (Kovačević, 2015)

Začin	Masa izražena kao % od ukupne mase nadjeva
Kuhinjska sol	1,8 – 2 %
Slatka paprika	0,6 %
Ljuta paprika	0,4 %
Češnjak	0,25 %

#### Miješanje nadjeva

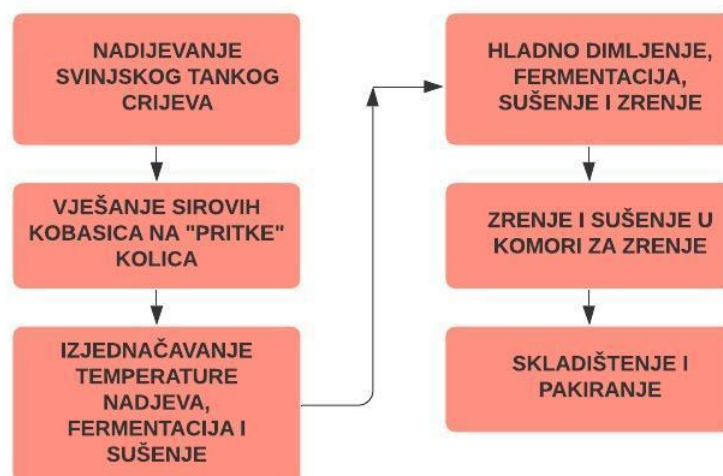
Nadjev od usitnjenog mesa i slanine, kuhinjske soli i začina miješa se u miješalicama s posudom za miješanje pod nagibom od 60°, mješaćem u obliku lopatice te brzinom okretaja

od maksimalno 30 min<sup>-1</sup>. Temperaturu smjese treba održavati između 0-4 °C, a pH vrijednost nadjeva ispod 5,7. Ukoliko je pH vrijednost nadjeva veća, treba u nadjev dodati 4 g/kg glukoza ili nekog drugog šećera. Razgradnjom šećera nastaje mliječna kiselina koja zakiseljava smjesu i omogućuje fermentaciju (Kovačević, 2015).

Nije neobično da se u tradicionalnoj proizvodnji u domaćinstvima, nadjev miješa ručno. Takva praksa nije preporučljiva zbog loših higijenskih uvjeta te moguće kontaminacije nadjeva.

#### 2.1.1.4. Nadijevanje svinjskog tankog crijeva, dimljenje, fermentacija, sušenje i skladištenje

Nadijevanje svinjskog tankog crijeva, dimljenje, fermentacija, sušenje i skladištenje uključuje sljedeće korake:



**Slika 7** Shematski prikaz tehnologije nadijevanja svinjskog tankog crijeva, dimljenja, fermentacije, sušenja i skladištenja (Kovačević, 2015)

#### Nadijevanje svinjskog tankog crijeva

Nadjev za Slavonske kobasice se puni u svinjska tanka crijeva ili kolagena crijeva. Punjenje je najučinkovitije ako se koriste vakuum punilice jer se sprječava nastajanje „zračnih džepova“, mogućnost kontaminacije mikroorganizmima te posljedično, razvoj nepoželjne boje i mirisa.

Pravilno konzervirana crijeva treba odsoliti u toploj vodi pomiješanoj s lukom radi uklanjanja neugodnih mirisa (ako je riječ o svinjskom tankom crijevu) te ih dobro ocijediti i osušiti.

Postoji više vrsta punilica koje su u pravilu razlikuju prema kapacitetu i vrsti pogona (mehanički ili hidraulični), a na **slici 8** prikazana je jedna izvedba vakuum punilice (Kovačević, 2015).



**Slika 8** Vakuum punilica – Vacuum filler F-line F260 (Kovačević, 2015)

#### Vješanje sirovih kobasica na „pritke“ kolica

Nadjevne kobasice se vješaju na „pritke“ kolica (u industriji) ili pritke fiksirane u prostoriji za zrenje ili pušnici (u domaćinstvima) (Kovačević, 2015).

#### Izjednačavanje temperature nadjeva, fermentacija i sušenje

Izjednačavanje temperature nadjeva se provodi u komorama za zrenje i optimalno traje dva dana. Cilj je izjednačiti temperaturu nadjeva, započeti sušenje površine ovitka te osigurati optimalne uvjete za početak procesa fermentacije. Temperatura bi u ovom stadiju trebala iznositi oko 20 °C. To omogućava razmnožavanje bakterija mliječne kiseline koje razgrađuju šećere do mliječne kiseline (Kovačević, 2015).

#### Hladno dimljenje, fermentacija, sušenje i zrenje

U ovoj fazi se dimljenjem postiže specifičan ugodni miris i okus kobasice, tamnosmeđa boja i povećava se trajnost kobasice zbog baktericidnog djelovanja dima. Također, dimljenje utječe na mikroklimu u pušnici i sprječava zamrzavanje kobasice te osigurava nastavak fermentacije.

Dimljenje pospješuje i sušenje pri čemu se maseni udio vode smanjuje do konačnih 30 %. Provodi se dva tjedna po 3-4 sata dnevno. Prevelika ili predugačka izloženost dimu nije poželjna jer on može nadvladati specifičnu aromu kobasice ili nepotrebno isušiti proizvod. Hladno dimljenje, pri temperaturi do 20 °C, koristi se kako pri dimljenju i sušenju nebi došlo do smanjivanja propusnosti ovitka i zadržavanja vlage u unutrašnjosti.

Tijekom dimljenja kobasice se ne smiju međusobno dodirivati, a za proizvodnju dima koriste se tvrde vrste drveta poput jasena, graba ili bukve te piljevina od istih.

U industriji se koriste automatizirane komore i generatori za proizvodnju dima koji osiguravaju niske temperature tinjanja i stvaranja poželjnih aroma drveta. U seoskim domaćinstvima koriste se nekoliko metara visoke pušnice sa unutarnjim ili vanjskim ložištima (Kovačević, 2015).



**Slika 9** Pogled na unutrašnjost pušnice (<http://www.glas-slavonije.hr/Slike/2019/01/398295.jpg>) (preuzeto: 22.3.2021., 12:31))

### Zrenje i sušenje u komori za zrenje

Nakon dimljenja kobasice se, ovješene na „pritke“, dopremaju u komore za zrenje u kojima se suše i zriju. U komorama se mora osigurati ventiliranje, strujanje zraka i dima, hlađenje i ovlaživanje zraka. Temperatura bi trebala biti oko 16 °C, relativna vlažnost zraka 75-85 %, a brzina strujanja zraka 0,05 do 0,1 m/s. Svi od navedenih parametara bi se trebali moći kontrolirati u industrijskim uvjetima.

U seoskim domaćinstvima, svi od navedenih parametara ovise o mikroklimatskim uvjetima odnosno o godišnjem dobu (Kovačević, 2015).

### Skladištenje i pakiranje

Uz primjenu optimalnih tehnoloških parametara zrenja, kobasica se može skladištiti gotovo neograničeno. Prije isporuke kupcu kobasica se može pakirati u papirnate te propusne omotače, ukrasne kutije, PE vrećice punjene inertnim plinom (Kovačević, 2015).

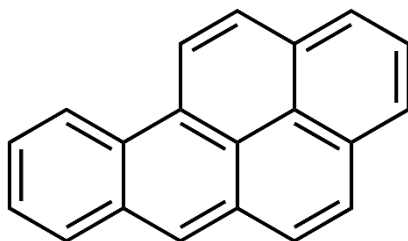
## **2.2. Policiklički aromatski ugljikovodici**

Policiklički aromatski ugljikovodici predstavljaju veliku skupinu organskih spojeva koji uglavnom nastaju procesom izgaranja goriva. U tu skupinu možemo ubrojiti oko 200 organskih spojeva koji se sastoje od dva ili više kondenziranih benzenskih prstenova, a prirodno se nalaza u sastavu fosilnih goriva poput ugljena, sirove nafte i benzina.

PAH-ovi su sveprisutni. Mogu se pronaći u vodi, zraku, zemlji, ali i u različitim namirnicama koje svakodnevno konzumiramo. Na sobnoj temperaturi su u čvrstom agregatnom stanju, uglavnom bezbojni, bijeli ili blijedo žuti. Imaju visoku točku tališta i vrelišta, lipofilni su i hidrofobni. Hidrofobnost je proporcionalno izraženija povećanjem broja kondenziranih benzenskih prstenova.

Zbog svoje izrazite hidrofobnosti, ali i veoma dobre topivosti u mastima, imaju tendenciju akumulirati se u prehrambenom lancu (Babić, 2018). Kao krajnji konzument mnogih proizvoda animalnog podrijetla, glavina unosa PAH-ova kod čovjeka dolazi iz hrane, upravo iz razloga navedenog iznad.

U namirnicama biljnog podrijetla PAH-ovi mogu dospjeti ako su takve namirnice (sirovine) uzgajane u blizinu industrijskih postrojenja ili velikih prometnica.



**Slika 10** Benzo[ $\alpha$ ]piren, najkancerogeniji policiklički aromatski ugljikovodik

### 2.2.1 Kancerogenost policikličkih aromatskih ugljikovodika

Maligni tumori u svijetu predstavljaju značajnu opasnost po ljudske živote i u današnje vrijeme ima ih sve više. Na to ukazuje činjenica o stalnom porastu oboljelih i umrlih od ovih bolesti. Tumori su glavne ubojice odmah nakon bolesti srca i krvožilnog sustava. Pušenje, infekcije i prehrana smatraju se trima najvažnijim čimbenicima koji dovode do nastanka i razvoja malignih bolesti (Babić, 2018).

Tumori dišnog sustava, prostate, jajnika, gušterače i dojki najčešće kao uzrok imaju prehranu koja sadrži kancerogene agense. Postoje procjene da je prehrana dovela do otprilike 80% poznatih slučajeva tumora dišnog sustava.

Zagađivači hrane predstavljaju spojeve (ili predmete) koji nenamjerno završe u hrani i na taj način ju kontaminiraju. Zagađivači mogu završiti u hrani tijekom brojnih operacija uključenih u proizvodni lanac ili lanac opskrbe. Kancerogeni zagađivači završavaju u hrani tijekom operacija dimljenja ili direktnog sušenja, sagorijevanjem drveta ili fosilnih goriva. Neki od moguće prisutnih kontaminanata koji dospiju u hranu tijekom tih procesa su: policiklički aromatski ugljikovodici, dioksini, formaldehid, dušik i sumporov dioksid (Babić, 2018).

Konkretno, policiklički aromatski ugljikovodici predstavljaju najveću skupinu kemijskih spojeva koji dokazano dovode do razvoja malignih oboljenja. Utjecaj takvih spojeva ovisi od duljine i načina izloženosti, koncentracije, zdravstvenog stanja čovjeka, ali ponajviše o samom spoju kojem je čovjek izložen.

PAH-ovi u organizam ulaze konzumacijom hrane i metaboliziraju se kroz jetru, bubrege i pluća, a deponiraju se u masnom tkivu – zbog svoje izrazite lipofilnosti i hidrofobnosti. Mogu se izlučiti kroz žuč, urin ili majčino mlijeko. Većina tih spojeva nije u velikoj mjeri toksična sama po sebi, ali njihovi metaboliti reagiraju sa DNK i na taj način pokazuju genotoksičan efekt.

US-EPA klasificirala je PAH-ove u 5 različitih skupina, ovisno o njihovom kancerogenom djelovanju (**Tablica 2**):

- 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 nekancerogeni spojevi (Babić, 2018).

**Tablica 2** Najpoznatiji policiklički aromatski ugljikovodici i njihov stupanj kancerogenosti (Babić, 2018)

Policiklički aromatski ugljikovodik	IARC grupa kancerogenosti
Benzo[a]piren	1
Dibenz[a,h]antracen	2A
Ciklopenta[c,d]piren	
Dibenzo[a,l]piren	
Naftalen	2B
Benz[a]antracen	
Krizen	
Benzo[k]fluoranten	
Indeno[1,2,3-cd]piren	
Dibenzo[a,i]piren	
Acenaften	3
Fluoren	
Fenantren	
Antracen	
Piren	
Benzo[c]fluoren	
Acenaftilen	4

### 2.2.2. Dopuštenost PAH-ova u hrani

Uredbom Europske komisije iz 2006. godine određen je najveći dopuštene sadržaj benzo( $\alpha$ )piren-a u različitim vrstama hrane. Benzo( $\alpha$ )piren spada u skupinu policikličkih aromatskih ugljikovodika i koristi se kao marker za prisutnost i učinak kancerogenih PAH-ova u hrani na temelju mišljenja bivšeg znanstvenog odbora za prehranu. Međutim, države članice nisu bile sigurne je li moguće zadržati benzo( $\alpha$ )piren kao jedini marker za PAH u hrani ili proširiti tu skupinu na neke nove spojeve.

2008. godine EFSA (*European Food and Safety Authority*) je zaključila kako benzo( $\alpha$ )piren nije odgovarajući marker za prisutnost PAH-ova u hrani i da bi sustav od četiri ili osam specifičnih tvari bio najprikladniji pokazatelj PAH-ova u hrani. Također su zaključili kako im sustav s osam tvari ne bi osigurao veliku dodatnu vrijednost u usporedbi sa sustavom sa četiri tvari.



Takav sustav bi osigurao da vrijednost PAH-ova u hrani bude unutar razine sigurne po zdravlje, čak i u onim uzorcima u kojima nije moguće potvrditi benzo( $\alpha$ )piren, a u kojem su prisutni drugi PAH-ovi (Službeni list Europske Unije, 2011).

Odvojeni najveći dopušteni sadržaj benzo( $\alpha$ )pirena se zadržava kako bi se osigurala usporedba s prethodnim i budućim podacima. U pogledu zbroja četiri tvari (PAH4 - benzo( $\alpha$ )piren, benzo( $\alpha$ )antracen, benzo( $\beta$ )fluoranten i krizen), koncentracije na donjoj granici potrebno je koristiti kao temelj odluke o sukladnosti.

Novi podaci o prisutnosti PAH-ova pokazuju da su prirodne koncentracije niže nego se smatralo ranije, za neke vrste hrane. Najveći dopušteni sadržaj benzo( $\alpha$ )pirena je stoga bio prilagođen (snižen) kada su se uzele u obzir niže, prirodne koncentracije (Službeni list Europske Unije, 2011).

Hrana poput dimljenog mesa i ribe, kokosovog ulja, kakao maslaca sadrži veći sadržaj PAH-ova, dok povrće i žitarice sadrže prilično niske koncentracije.

**Tablica 3** Trenutne najveći dopušteni sadržaj za benzo( $\alpha$ )piren i PAH4 (Službeni list Europske Unije, 2011)

Hrana	Najveći dopušteni sadržaj( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	
	Benzo( $\alpha$ )piren	Zbroj benzo( $\alpha$ )pirena, benzo( $\alpha$ )antracena, benzo( $\beta$ )fluorantena i krizena
<b>Ulja i masti (osim kakao maslaca i kokosovog ulja) za izravnu prehranu ljudi ili kao sastojak u hrani</b>	2,0	10,0
<b>Kakao zrna i proizvodi od njih</b>	5,0	30,0
<b>Kokosovo ulje za izravnu prehranu ljudi ili kao sastojak u hrani</b>	2,0	20,0
<b>Dimljeno meso i dimljeni mesni proizvod</b>	2,0	12,0
<b>Mišićno meso dimljene ribe i dimljeni proizvodi ribarstva</b>	2,0	12,0
<b>Školjkaši (dimljeni)</b>	6,0	35,0
<b>Prerađena hrana na bazi žitarica i hrana za dojenčad i malu djecu</b>	1,0	1,0

### 2.2.3. Metode određivanja PAH-ova

Analiziranje PAH-ova vrši se primjenom nekoliko analitičkih metoda kao što su:

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

Obzirom da su koncentracije PAH spojeva u uzorcima hrane najčešće male, preporuka je da se koriste metode kod kojih je specifičnost i osjetljivost velika i zadovoljava potrebe analize. Najrašireniju primjenu u analizi PAH-ova imaju HPLC i GC kromatografije u kombinaciji s masenim detektorima, a zbog veće selektivnosti i osjetljivosti prednost se u pravilu daje plinskoj kromatografiji (GC).

#### 2.2.3.1. Plinska kromatografija (GC)

Plinska kromatografija je metoda razvijena oko 1950. godine koja kao pokretnu fazu u procesu koristi neki od plinova. Uvijek se provodi u koloni, a odvajanje komponenata u uzorku uvjetovano je njihovom razlikom u hlapivosti. Obzirom na fizikalno stanje nepokretne faze razlikujemo:

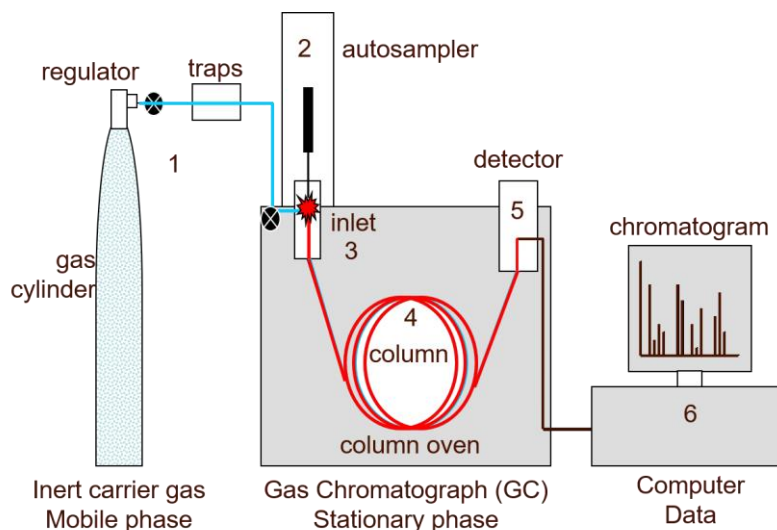
- Plinsko-tekućinsku kromatografiju (GLC),
- Plinsko-čvrstu kromatografiju (GSC).

GC je veoma osjetljiva metoda kojom se ispitivanja mogu provoditi veoma brzo, a količine uzoraka potrebnih za ispitivanja su veoma male (<10 mL). Koristi se za spojeve koji se bez degradacije mogu prevesti u plinovito stanje. Pokretna faza je istovremeno i nosač, a najčešće se koriste inertni plinovi (argon, helij) ili plin koji ne reagira s uzorkom (dušik). Stacionarna faza je mikroskopski sloj tekućine ili krutine na inertnoj čvrstoj podlozi, postavljena je u koloni. Ispitivani uzorak je otopljen u mobilnoj fazi te se kreće kroz nepokretnu, stacionarnu fazu. Različite komponente uzoraka imaju različiti afinitet prema stacionarnoj fazi. Svaka komponenta ispitanog uzorka se distribuira između pokretne i stacionarne faze kako bi se uspostavila dinamička ravnoteža koja je definirana koeficijentom raspodjele (K) (Babić, 2018).

$K = \text{molarna koncentracija u stacionarnoj fazi} / \text{molarna koncentracija u pokretnoj fazi}$

Nakon toga, analit dolazi do detektora koji je povezan s računalom na čijem se monitoru dobije kromatogram. Iz kromatograma se kvalitativno i kvantitativno određuje sadržaj i vrsta analita (Babić, 2018).

Kritična točka procesa, gdje može doći do grešaka je priprema uzorka.



**Slika 11** Shematski prikaz postupka plinske kromatografije (<https://cdn.technologynetworks.com/tn/images/body/figure1gc1590068202170.png> (preuzeto: 23.3.2021. 11:18))

### 2.2.3.2. Masena spektrometrija

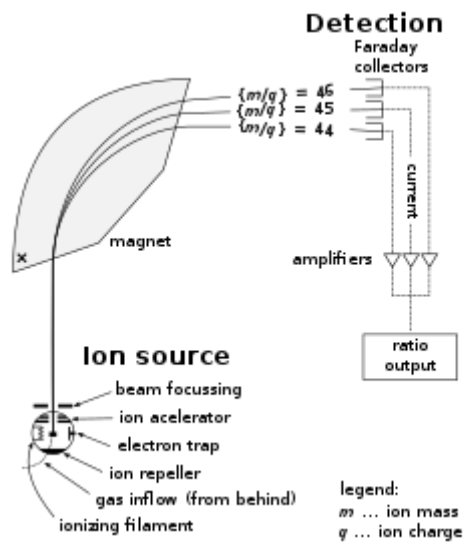
Masena spektrometrija je analitička metoda koja zbog svoje brzine, osjetljivosti i granice detekcije zauzima vodeće mjesto ispred ostalih analitičkih metoda. Nalazi široku primjenu u poljima organske i anorganske kemije, medicine, farmaceutske industrije i organometalne industrije.

Maseni spektrometar je analitički instrument koji se sastoji od sistema za uvođenje uzorka, izvora iona, masenog analizatora i detektora (Babić, 2018).

On razdvaja nabijene čestice prema odnosu mase i naboja i u njemu se odvijaju sljedeći procesi:

- Nastanak iona iz uzorka kao posljedica djelovanja ionizatora,

- Razdvajanje iona prema njihovom odnosu mase i naboja ( $m/z$  vrijednost) u masenom analizatoru,
- Fragmentiranje selektivnih iona i analiziranje fragmenata u drugom analizatoru,
- Detektiranje iona i mjerenje njihovih intenziteta detektorom koji konvertira ione u električni signal (Babić, 2018),
- Određivanje signala iz detektora koji su preneseni u računalo i kontrola instrumenta kroz povratne informacije



**Slika 12** Shematski prikaz postupka masene spektrometrije

([https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fen.wikipedia.org%2Fwiki%2FMass\\_spectrometry&psig=AOvVaw3f\\_yHIM2UHTjuyT82Mb6I9&ust=1616585813819000&source=images&cd=vfe&ved=0CAIQjRxqFwoTCPiG7sqpxu8CFQAAAAAdAAAAABAD](https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fen.wikipedia.org%2Fwiki%2FMass_spectrometry&psig=AOvVaw3f_yHIM2UHTjuyT82Mb6I9&ust=1616585813819000&source=images&cd=vfe&ved=0CAIQjRxqFwoTCPiG7sqpxu8CFQAAAAAdAAAAABAD) (preuzeto: 23.3.2021. 13:40))

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

### 3.1. Zadatak

Ciljevi ovog istraživanja bili su:

1. Identificirati vrste i odrediti koncentracije 16 PAH spojeva (naftalen, acenaftilen, acenaften, fluoren, antracen, fenantren, fluoranten, benz[a]antracen, piren, krizen, benzo[b]fluoranten, benzo[k]fluoranten, benzo[a]piren, dibenzo[a,h]antracen, benzo[g,h,i]perilen, indeno[1,2,3-cd]piren) u uzorcima Slavonske kobasice

- a) Dimljenim s otvorenim ložištima na različitim udaljenostima od ložišta (2 i 3 m), punjenim u kolagenska i prirodna crijeva
- b) Dimljenim s dimogenatorom sa zagrijanom pločom punjenim u kolagenska i prirodna crijeva.

### 3.2. Materijali i metode

#### 3.2.1. Pripremanje kobasica i dimljenje

Punjenje kobasice pripremalo se po tradicionalnoj recepturi:

- Svinjsko meso I. i II. kategorije (30 : 70 %): 80 %,
- Slanina svinjskih leđa: 20 %,
- Češnjak: 0,2 %,
- Crvena mljevena paprika (ljuta): 0,4 %,
- Crvena mljevena paprika (slatka): 0,6 %,
- Kuhinjska sol: 2 %.

Meso i slanina usitnili su se koristeći stroj za mljevenje mesa (Catering AQUIPMENT Alumen, Hrvatska) s perforacijama promjera 6 mm. Tako mljeveno meso i slanina miješalo se u miješalici (MŠ 6 CR-KIP, Oprema Kranjc, Slovenija) 5 minuta na 30 okr/min, zajedno sa začinima kako stoji u receptu.

Nakon toga, nadjev je napunjen u prirodni ovitak (svinjsko tanko crijevo, duljine 500 mm, promjera 38-42 mm) ili u ovitak od kolagena (duljine 500 mm, promjera 40 mm) i tako sirove kobasice bile su podijeljene u 6 skupina.

Kod tradicionalnog dimljenja, kobasice su postavljene na dvije različite visine: 2 m i 3 m od ložišta. Dim je proizveden izgaranjem tvrdih vrsta drveta – grab, bukva i bukvin piljevina. Dimljene se provodilo svaki drugi dan, 3-4 sata u trajanju od sveukupno 12 dana. To upućuje da su kobasice 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 (prosječna temperatura = 8,1 °C), a relativna vlažnost od 63,1 do 95,7 % (prosječna vlažnost = 86,3 %).

Industrijsko dimljenje provedeno se u industrijskoj pušnici (Maurer-Atmos Middleby GmbH, Reichenau, Savezna Republika Njemačka), u kojoj se dim proizvodio pomoću dimogentora 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).

Nakon dimljenja, sve su se kobasice postavile u komoru za dozrijevanje (Euclid, Hrvatska) s automatiziranom kontrolom procesnih parametara, sve do 45. dana proizvodnje. Sušenje i zrenje se odvijalo pri prosječnoj temperaturi od 15,1 °C i prosječnoj relativnoj vlažnosti od 75,8 %.

Uzorkovanje se provodilo nakon postupka dimljenja i na samom kraju proizvodnog procesa. Nakon svake od faza izuzelo se po 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.

**Tablica 4** Uvjeti dimljenja za određene šarže kobasica

Šarža	Uvjeti dimljenja	Trajanje dimljenja (dani)	Trajanje proizvodnje (dani)
TS-2NC	Tradicionalno dimljenje u prirodnom ovitku na 2 m udaljenosti od ložišta	12	45
TS-2CC	Tradicionalno dimljenje u kolagenom ovitku na 2 m udaljenosti od ložišta	12	45
TS-3NC	Tradicionalno dimljenje u prirodnom ovitku na 3 m udaljenosti od ložišta	12	45
TS-3CC	Tradicionalno dimljenje u kolagenom ovitku na 3 m udaljenosti od ložišta	12	45
IS-NC	Industrijsko dimljenje u prirodnom ovitku	4	45
IS-CC	Industrijsko dimljenje u kolagenom ovitku	4	45

### 3.2.2. Određivanje i kvantificiranje policikličkih aromatskih ugljikovodika

Pripremljena je standardna otopina PAH-ova s mješavinom PAH-ova koja uključuje 16 različitih policikličkih aromatskih ugljikovodika (Ultra Scientific, North Kingstown, RI), koncentracije  $500 \pm 0.2 \mu\text{g/mL}$ . Da bi se eliminirale eventualne netočnosti provedena je kalibracija GC-MS uređaja sa slijepom probom. Retenciona vremena pikova dobivena standardnom otopinom koristila su se kao referentna točka za određivanje PAH-ova u uzorcima.



**Tablica 5** Nazivi i kratice 16 prioritetnih PAH-ova koje smo određivali u ovom istraživanju

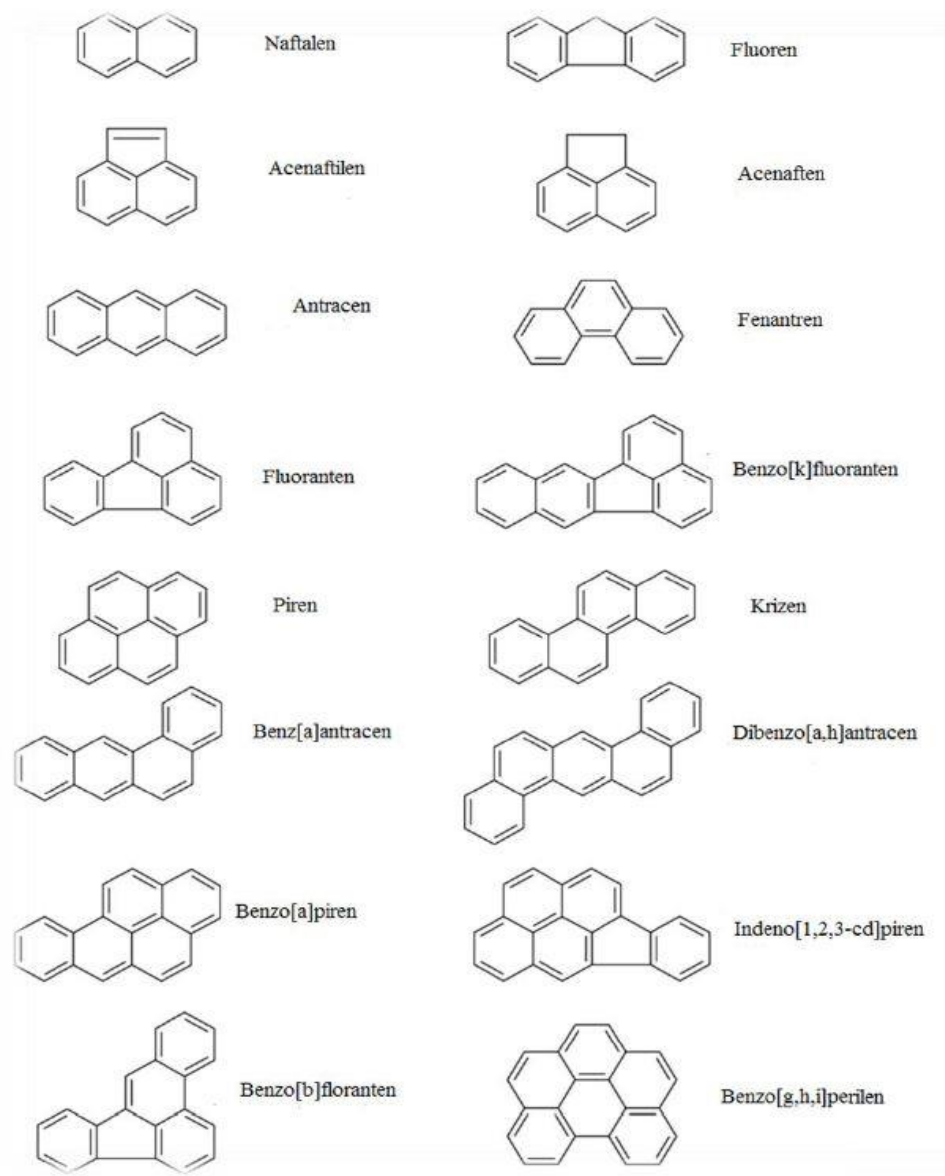
<b>PAH-ovi</b>	<b>Kratice</b>
<b>Naftalen</b>	Nap
<b>Acenaftilen</b>	Anl
<b>Acenaften</b>	Ane
<b>Fluoren</b>	Flu
<b>Antracen</b>	Ant
<b>Fenantren</b>	Phen
<b>Fluoranten</b>	Flt
<b>Benz[a]antracen</b>	BaA
<b>Piren</b>	Pyr
<b>Krizen</b>	Chry
<b>Benzo[b]fluoranten</b>	BbF
<b>Benzo[k]fluoranten</b>	BkF
<b>Benzo[a]piren</b>	Bap
<b>Dibenzo[a,h]antracen</b>	DahA
<b>Benzo[g,h,i]perilen</b>	BghiP
<b>Indeno[1,2,3-cd]piren</b>	InP

### 3.2.3. Priprema uzoraka

Uzorci su pripremljeni koristeći QuEChERS (metoda ekstrakcije u čvrstoj fazi koja se koristi za potvrđivanje ostataka pesticida u hrani. Ime je portmanteau riječ nastala od: Qu-brzo, E-lako, Ch-jeftino, E-učinkovito, R-robusno, S-sigurno) metodu ekstrakcije i pročišćavanja (Novakov i sur., 2017). Ukratko, metoda uključuje ekstrakciju pomoću acetonitrila uz prisutnost bezvodnog magnezij sulfata i bezvodnog natrij acetata. 3 g uzorka preneseno je u kivetu za centrifugu i dodana je mješavina 3 mL acetonitrila i 3 mL vode. Nakon intenzivnog miješanja na vorteksu (1 min) dodano je 3 g bezvodnog magnezij sulfata i 1 g bezvodnog natrij acetata. Uzorak se tada centrifugirao 5 minuta na 3000 okr/min.

Gornji sloj volumena 1 mL, koji je sadržavao ekstrakt u acetonitrilu, prenesen je u kivetu od 5 mL koja je sadržavala 150 mg bezvodnog magnezij sulfata i 100 mg primarnog i sekundarnog amina (PSA) (Merck) i 50 mg C18 (Merck).

Sadržaj se opet podvrgnuo centrifugiranju u trajanju od 5 minuta pri 3000 okr/min, a to je osiguralo čisti i bistri ekstrakt. Alikvotni dio od 5 mL ekstrakta se tada upario u atmosferi dušika i otopio u heksanu te je naš uzorak bio spreman za analizu na GC-MS uređaju (Agilent 7890B/5977A, Santa Clara, CA, USA).



**Slika 13** Strukturne formule 16 prioriternih PAH-ova koje smo određivali (Mastanjević i sur., 2020)

### 3.2.4. GC-MS analiza

Prilikom analize na GC-MS uređaju, za razdvajanje različitih molekula PAH-ova, korištena je DB-5MS kolona. Uzorak volumena 4  $\mu$ L injektiran je pri konstantnom tlaku od 11,36 psi i konstantnom protoku plina nosača od 1,2 mL/min, kroz kolonu.

Kvantifikacija PAH-ova provedena je u SIM modu, a dobiveni podaci procesirani su koristeći Mass Hunter Software. Standardna otopina PAH-ova korištena je kao referenca za kvantifikaciju PAH-ova iz uzoraka.

### 3.2.5. Validacija metode za određivanje policikličkih aromatskih ugljikovodika

Metoda određivanja PAH-ova modificirana je prema akreditiranoj metodi – ISO 17025. Kriteriji izvedbe metode analize PAH-ova usklađeni su s uredbom Europske Komisije - No.836/2011. Četiri PAH-a na koje se ta uredba odnosi su BaP, BaA, BbF i Chry i za sve njih je izračunata HorRat vrijednost.

Validacija se odnosi na izračun preciznosti, reproducibilnosti, točnosti, linearnosti, granice kvantifikacije (LOQ), granice detekcije (LOD) i mjerne nesigurnosti. Vrijednosti su dane u **tablici 6** u nastavku teksta.

### 3.2.6. Statistička analiza

Podaci dobiveni eksperimentalno analizirani su analizom varijance (ANOVA) i Fisher-ovim LSD testom „najmanje značajne razlike“ (*least significant difference*) sa značajnošću definiranom na  $p < 0,05$ . Statistička analiza provedena je u programu Statistica 12,7.

**Tablica 6** Prosječne vrijednosti za preciznost, reproducibilnost, točnost, linearnost, granica kvantifikacije (LOQ) i granica detekcije (LOD) za validaciju metode određivanja PAH-ova

PAH-ovi	Preciznost (%)	Reproducibilnost (%)	Točnost (%)	Linearnost ( $r^2$ ) <sup>a</sup>	LOQ (µg/kg)	LOD (µg/kg)
<b>Nap</b>	11,3	6,33	95,0	0,99	1,20	0,30
<b>Anl</b>	7,91	7,82	99,0	0,99	1,30	0,29
<b>Ane</b>	8,52	8,32	99,3	0,99	1,05	0,32
<b>Flu</b>	2,82	10,2	100	0,99	1,11	0,30
<b>Ant</b>	3,53	3,73	98,7	0,99	1,10	0,30
<b>Phen</b>	4,31	11,4	85,9	0,99	1,18	0,35
<b>Flt</b>	3,61	3,72	95,3	0,99	1,15	0,30
<b>BaA</b>	9,44	8,6	89,7	0,99	1,30	0,37
<b>Pyr</b>	4,74	6,91	91,1	0,99	1,21	0,32
<b>Chyr</b>	5,33	8,20	92,5	0,99	1,13	0,34
<b>BbF</b>	8,52	14,3	86,4	0,99	1,30	0,36
<b>BkF</b>	3,51	3,32	94,3	0,99	1,21	0,32
<b>Bap</b>	3,23	3,81	96,8	0,99	2,00	0,52
<b>DahA</b>	8,72	11,3	91,2	0,99	1,99	0,51
<b>BghiP</b>	9,71	11,3	81,5	0,99	1,90	0,45
<b>InP</b>	9,51	10,3	85,3	0,99	1,91	0,53
<b>min</b>	2,82	3,32	81,5	0,99	1,05	0,30
<b>max</b>	11,3	14,3	100	0,99	1,81	0,50

## **4. REZULTATI**

## 4.1. Rezultati mjerenja

Rezultati istraživanja sadržaja policikličkih aromatskih ugljikovodika (PAH) u Slavonskoj kobasici nakon procesa dimljenja prikazani su u **tablici 7**.

**Tablica 7** Sadržaj PAH-ova ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) u Slavonskoj kobasici na kraju procesa dimljenja

PAH-ovi	TS-2NC	TS-2CC	IS-NC	TS-3NC	TS-3CC	IS-CC
<b>Nap</b>	70,2 <sup>a</sup> $\pm$ 1,23	29,3 <sup>c</sup> $\pm$ 1,70	20,5 <sup>d</sup> $\pm$ 1,19	37,2 <sup>b</sup> $\pm$ 0,15	9,30 <sup>e</sup> $\pm$ 0,83	6,51 <sup>f</sup> $\pm$ 0,10
<b>Anl</b>	105 <sup>a</sup> $\pm$ 3,64	80,4 <sup>b</sup> $\pm$ 1,52	56,3 <sup>c</sup> $\pm$ 3,84	40,6 <sup>d</sup> $\pm$ 0,94	34,2 <sup>e</sup> $\pm$ 2,68	23,9 <sup>f</sup> $\pm$ 0,66
<b>Ane</b>	60,7 <sup>a</sup> $\pm$ 1,15	15,0 <sup>c</sup> $\pm$ 0,15	10,5 <sup>de</sup> $\pm$ 0,54	38,0 <sup>b</sup> $\pm$ 1,19	12,4 <sup>d</sup> $\pm$ 0,38	8,70 <sup>e</sup> $\pm$ 0,83
<b>Flu</b>	58,0 <sup>a</sup> $\pm$ 2,77	35,3 <sup>b</sup> $\pm$ 0,20	24,7 <sup>d</sup> $\pm$ 0,98	32,8 <sup>bc</sup> $\pm$ 2,19	36,6 <sup>b</sup> $\pm$ 3,43	25,6 <sup>cd</sup> $\pm$ 1,53
<b>Ant</b>	136 <sup>a</sup> $\pm$ 5,61	128 <sup>b</sup> $\pm$ 2,15	89,9 <sup>c</sup> $\pm$ 1,15	57,1 <sup>d</sup> $\pm$ 0,84	51,8 <sup>d</sup> $\pm$ 0,81	36,2 <sup>e</sup> $\pm$ 0,58
<b>Phen</b>	55,1 <sup>a</sup> $\pm$ 4,06	32,7 <sup>b</sup> $\pm$ 3,66	22,9 <sup>c</sup> $\pm$ 1,45	36,9 <sup>b</sup> $\pm$ 0,57	14,7 <sup>d</sup> $\pm$ 1,01	10,3 <sup>d</sup> $\pm$ 0,40
<b>Flt</b>	15,2 <sup>a</sup> $\pm$ 0,14	13,5 <sup>b</sup> $\pm$ 0,16	9,50 <sup>c</sup> $\pm$ 0,20	4,43 <sup>d</sup> $\pm$ 0,20	4,50 <sup>d</sup> $\pm$ 0,14	3,10 <sup>e</sup> $\pm$ 0,31
<b>BaA</b>	8,80 <sup>a</sup> $\pm$ 0,03	< LOQ	< LOQ	6,71 <sup>b</sup> $\pm$ 0,81	< LOQ	< LOQ
<b>Pyr</b>	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
<b>Chyr</b>	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
<b>BbF</b>	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
<b>BkF</b>	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
<b>Bap</b>	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
<b>DahA</b>	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
<b>BghiP</b>	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
<b>InP</b>	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
<b><math>\Sigma\text{PAH4}</math></b>	8,82 <sup>a</sup>	< LOQ	< LOQ	6,71 <sup>b</sup>	< LOQ	< LOQ
<b><math>\Sigma\text{PAH16}</math></b>	509 <sup>a</sup> $\pm$ 11,10	335 <sup>b</sup> $\pm$ 5,34	234 <sup>d</sup> $\pm$ 3,48	254 <sup>c</sup> $\pm$ 3,26	163 <sup>e</sup> $\pm$ 2,44	114 <sup>f</sup> $\pm$ 2,28

Prikazani rezultati su srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija; razlike vrijednosti unutar retka označene istim slovom (a-e) nisu statistički značajne ( $p < 0,05$ ).

Rezultati istraživanja sadržaja policikličkih aromatskih ugljikovodika (PAH) u Slavonskoj kobasici na kraju proizvodnog procesa prikazani su u **tablici 8**.

**Tablica 8** Sadržaj PAH-ova ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) u Slavonskoj kobasici na kraju proizvodnog procesa

PAH-ovi	TS-2NC	TS-2CC	IS-NC	TS-3NC	TS-3CC	IS-CC
<b>Nap</b>	82,5 <sup>a</sup> ±0,51	42,7 <sup>c</sup> ± 0,29	22,0 <sup>d</sup> ±0,24	45,3 <sup>b</sup> ±0,13	11,4 <sup>e</sup> ± 0,11	8,40 <sup>f</sup> ± 0,15
<b>Anl</b>	163 <sup>a</sup> ±0,25	163 <sup>a</sup> ± 0,17	58,1 <sup>b</sup> ±0,59	56,3 <sup>c</sup> ±0,56	42,7 <sup>d</sup> ± 0,57	25,8 <sup>e</sup> ± 0,27
<b>Ane</b>	81,5 <sup>a</sup> ±0,38	81,3 <sup>a</sup> ± 0,30	14,8 <sup>d</sup> ±0,11	49,5 <sup>b</sup> ±0,35	33,5 <sup>c</sup> ± 0,45	12,9 <sup>e</sup> ± 0,87
<b>Flu</b>	69,8 <sup>a</sup> ±0,43	49,4 <sup>b</sup> ± 0,57	30,4 <sup>e</sup> ±0,16	39,9 <sup>d</sup> ±0,76	42,5 <sup>c</sup> ± 0,31	25,8 <sup>f</sup> ± 0,28
<b>Ant</b>	183 <sup>a</sup> ±3,23	183 <sup>a</sup> ± 0,37	92,9 <sup>d</sup> ±1,23	166 <sup>b</sup> ±2,67	97,6 <sup>c</sup> ± 2,21	36,3 <sup>e</sup> ± 1,10
<b>Phen</b>	89,3 <sup>b</sup> ±1,24	89,6 <sup>b</sup> ± 0,31	62,7 <sup>c</sup> ±0, 71	108 <sup>a</sup> ±1,51	49,1 <sup>d</sup> ± 0,46	14,6 <sup>e</sup> ± 0,31
<b>Flt</b>	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
<b>BaA</b>	9,90 <sup>a</sup> ±0,40	< LOQ	< LOQ	8,78 <sup>b</sup> ±0,30	< LOQ	< LOQ
<b>Pyr</b>	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
<b>Chyr</b>	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
<b>BbF</b>	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
<b>BkF</b>	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
<b>Bap</b>	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
<b>DahA</b>	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
<b>BghiP</b>	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
<b>InP</b>	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
<b>ΣPAH4</b>	9,90 <sup>a</sup> ±0,40	< LOQ	< LOQ	8,78 <sup>b</sup> ±0,30	< LOQ	< LOQ
<b>ΣPAH16</b>	679 <sup>a</sup> ±2,53	609 <sup>b</sup> ± 1,32	281 <sup>d</sup> ±1,24	474 <sup>c</sup> ±0,89	277 <sup>e</sup> ± 2,18	124 <sup>f</sup> ± 1,26

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

## **5. RASPRAVA**



## 5.1. Rasprava

### 5.1.1. Sadržaj PAH-ova u Slavonskoj kobasici nakon postupka dimljenja

Rezultati istraživanja udjela PAH-ova u Slavonskoj kobasici na kraju postupka dimljenja i na kraju proizvodnje prikazani su u tablicama 7 i 8. Potvrđena je prisutnost 8 (Nap, Anl, Ace, Flu, Phen, Ant, Flt i BaA) od 16 ispitivanih policikličkih aromatskih ugljikovodika.

Prema aktualnoj legislativi o maksimalnim razinama PAH-ova u hrani, najveća dopuštena koncentracija BaP u mesnim proizvodima iznosi 2 µg/kg, a zbroj koncentracija PAH4 ne smije prelaziti 12 µg/kg. (Uredba EU br. 835/2011). Iznimno, za tradicionalno dimljene mesne proizvode, koncentracija BaP iznosi 5 µg/kg, a zbroj koncentracija PAH4 ne smije prelaziti 30 µg/kg.

Ovi rezultati se poklapaju s rezultatima prijašnjih studija u kojima se istraživao sadržaj PAH-ova u Španjolskoj (Lorenzo i sur., 2010; 2011), Portugalskoj (Gomes i sur., 2013; Roserio i sur., 2011) i Srpskoj kobasici (Škaljac i sur., 2014; 2018).

PAH-ovi utvrđeni u Slavonskoj kobasici nakon postupka dimljenja su Naftalen, Acenaftena, Acenaftilena, Fluorena, Fenantrena, Antracena, Fluorentena i Benzo[a]pirena dok je ostalih 8 sa EPA liste bilo ispod razine kvantifikacije (LOQ).

Ant je pronađen u najvećoj koncentraciji u svim uzorcima, a koncentracija se kretala između 36,2 µg/kg (IS-CC) i 136 µg/kg (TS-2NC) uz statistički značajnu razliku ( $p < 0,05$ ) između svih grupa kobasica, osim TS-3NC i TS-3CC.

Sadržaj Anl-a bio je između 23,9 µg/kg (IS-CC) i 105 µg/kg (TS2-NC) uz statistički značajnu razliku ( $p < 0,05$ ) između svih grupa kobasica.

Sadržaj Nap-a bio je između 6,51 µg/kg (IS-CC) i 70,2 µg/kg (TS-2NC) uz statistički značajnu razliku ( $p < 0,05$ ) između svih grupa kobasica.

Sadržaj Anl-a bio je između 8,7 µg/kg (IS-CC) i 60,7 µg/kg (TS-2NC) uz statistički značajnu razliku ( $p < 0,05$ ) između svih grupa kobasica, osim IS-NC i IS-CC.

Sadržaj Flu-a bio je između 24,7 µg/kg (IS-NC) i 58,0 µg/kg (TS-2NC) uz statistički značajnu razliku ( $p < 0,05$ ) između svih grupa kobasica, osim sadržaja TS-3NC i TS-3CC te sadržaja IS-NC i IS-CC.

Sadržaj Phen-a bio je između 10,3 µg/kg (IS-CC) i 55,1 µg/kg (TS-NC) uz statistički značajnu razliku ( $p < 0,05$ ) između svih grupa kobasica, osim sadržaja TS-3CC i IS-3CC

Sadržaj Flt-a bio je između 3,10 µg/kg (IS-CC) i 15,2 µg/kg (TS-2NC) uz statistički značajnu razliku ( $p < 0,05$ ) između svih grupa kobasica, osim sadržaja TS-3NC i TS-3CC.

Zbroj koncentracija PAH16 iznosio je između 114 µg/kg za uzorke nadijevane u crijeva od kolagena do 509 µg/kg za uzorke nadijevane u prirodan ovitak i dimljene na 2 m visine od ložišta u tradicionalnoj pušnici. Razlika između svih ispitivanih grupa kobasica opet je bila statistički značajna ( $p < 0,05$ ).

### **5.1.2. Sadržaj PAH-ova u Slavonskoj kobasici na kraju proizvodnog procesa**

Sadržaj PAH16 na kraju proizvodnje ne odudara previše od sadržaja na kraju dimljenja. Pronađeni su samo lagani PAH-ovi (Naftalen, Acenaftena, Acenaftilena, Fluorena, Fenantrena, Antracena i Benzo[a]pirena). U najvećoj koncentraciji nađen je Antracen, čiji sadržaj je varirao između 36,3 µg/kg i 183 µg/kg, uz statistički značajnu razliku ( $p < 0,05$ ) između svih grupa kobasica.

Sadržaj Anl-a bio je između 25,8 µg/kg (IS-CC) i 163 µg/kg (TS-2NC i TS-2CC), uz statistički značajnu razliku ( $p < 0,05$ ) između svih grupa kobasica, osim između TS-2NC i TS-2CC.

Sadržaj Nap-a bio je između 8,40 µg/kg (IS-CC) i 82,5 µg/kg (TS-2NC), uz statistički značajnu razliku ( $p < 0,05$ ) između svih grupa kobasica..

Sadržaj Ane-a bio je između 12,9 µg/kg (IS-CC) i 81,5 µg/kg (TS-2NC), uz statistički značajnu razliku ( $p < 0,05$ ) između svih grupa kobasica, osim između TS-2NC i TS-2CC.

Sadržaj Flu-a bio je između 25,8 µg/kg (IS-NC) i 69,8 µg/kg (TS-2NC), uz statistički značajnu razliku ( $p < 0,05$ ) između svih grupa kobasica.

Sadržaj Phen-a bio je između 14,6 µg/kg (IS-CC) i 108 µg/kg (TS-2CC), uz statistički značajnu razliku ( $p < 0,05$ ) između svih grupa kobasica, osim između TS-NC i TS-2CC.

Usporedbom sadržaja pojedinih PAH-ova u Slavonskoj kobasici nakon postupka dimljenja i na kraju proizvodnog procesa potvrđeno je kako je jedino Flt bio prisutan u Slavonskoj kobasici nakon procesa dimljenja, ali nije bio prisutan na kraj proizvodnog procesa.

Sadržaj svih određenih PAH-ova iz uzoraka na kraju procesa proizvodnje bio je nešto viši u odnosu na koncentracije određene iz uzoraka na kraju postupka dimljenja. Razlog tome

vjerojatno leži u manjem masenom udjelu vode u uzorcima Slavonske kobasice na kraju procesa proizvodnje u odnosu na one uzorke kobasice uzete na kraju postupka dimljenja.

Sadržaj Bap-a u svim uzorcima Slavonske kobasice nakon postupka dimljenja bio je ispod granice kvantifikacije (LOQ). Sadržaj Bap-a u srpskoj Petrovskoj klobasi bio ispod granice detekcije (LOD) (Škaljac i sur., 2014). Tradicionalno dimljene portugalske, talijanske i španjolske kobasice imale su veći sadržaj Bap-a (García-Falcón i sur., 2005; Gomes i sur., 2013; Purcaro i sur., 2009; Santos i sur., 2011). U uzorcima Slavonske kobasice na kraju proizvodnog procesa sadržaj Bap-a bio je ispod granice detekcije (LOD).

Sadržaj PAH4 u svim ispitivanim uzorcima bio je ispod zakonski propisne granice od 30 µg/kg (Uredba EU br. 835/2011).

Više razine PAH-ova u kobasicama punjenih u prirodne ovitke, vjerojatno leži u činjenici da se PAH-ovi najbolje otapaju u mastima. Dokazano je da manji sadržaj masti u umjetnim ovitcima stvara svojevrsnu barijeru za PAH-ove. Sve studije, uključujući i ovo istraživanje, ukazuju na to da kolageni ovitci predstavljaju bolju barijeru za PAH-ove od svinjskog tankog crijeva.

## **6. ZAKLJUČCI**

Svi ispitivani uzorci Slavonske kobasice sadržavali su Nap, Anl, Ane, Flt, Ant i Phen.

Potencijalno kancerogeni BaA potvrđen je samo u uzorcima Slavonske kobasice koji su dimljeni s otvorenim ložištima, ali su njegove koncentracije bile niže od zakonski propisanih.

Koncentracije Pyr, Chry, Bbf, BaP, DahA, BghiP i InP u svim ispitivanim uzorcima Slavonske kobasice bile su ispod razine kvantifikacije (LOQ).

Naviše vrijednosti koncentracije PAH16 (679  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) imali su uzorci Slavonske kobasice dimljeni s otvorenim ložištima na kraju procesa proizvodnje.

Najniže koncentracije PAH16 (124  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) imali su uzorci napunjeni u kolagenske ovitke i dimljeni pomoću dimogeneratora sa zagrijanom pločom (industrijsko dimljenje).

Određene koncentracije potencijalno kancerogenog BaA-a određene su uzorcima Slavonske kobasice koja su bili dimljeni s otvorenim ložištima, punjeni u prirodne ovitke s 2 i 3 metra udaljenošću od ložišta (9,90 i 8,78  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), ali te koncentracije nisu prelazile zakonski propisane razine od 30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

Rezultati ovog istraživanja upućuju na zaključak da konzumacija Slavonske kobasice (dimljena na industrijski ili tradicionalni način) ne predstavlja veliki rizik za zdravlje potrošača.

## **7. LITERATURA**

Babić J: Ispitivanje utjecaja odabranih filtera na koncentraciju policikličnih aromatskih ugljikovodika kod proizvodnje toplo dimljenog šarana. *Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine*, 2018

García-Falcón MS, Simal-Gándara J, Simal-Gándara J: Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoke from different woods and their transfer during traditional smoking into chorizo sausages with collagen and tripe casings. *Food Additives & Contaminants* 22,1:1-8, 2005.

Gomes A, Santos C, Almeida J, Elias M, Roseiro LC: Effect of fat content, casing type and smoking procedures on PAHs contents of Portuguese traditional dry fermented sausages. *Food and Chemical Toxicology* 58:369-374, 2013

Kovačević D: Tehnologija kulena i drugih fermentiranih kobasica. *Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek*, 2015

Lorenzo JM, Purriños L, Bermudez R, Cobas N, Figueiredo M, García Fontán MC: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in two Spanish traditional smoked sausage varieties: "Chorizo gallego" and "Chorizo de cebolla". *Meat Science* 89,1:105-109, 2011

Lorenzo JM, Purriños L, Fontán MCG, Franco D: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in two Spanish traditional smoked sausage varieties: "Androlla" and "Botillo". *Meat Science* 86,3:660-664, 2010

Mastanjević K, Kartalović B, Petrović J, Novakov N, Puljić L, Kovačević D, Jukić M, Lukinac J, Mastanjević K: Polycyclic aromatic hydrocarbons in the traditional smoked sausage Slavonska kobasica, *Journal of Food Composition and Analysis* 83:103282, 2019

Purcaro G, Moret S, Conte LS: Optimisation of microwave assisted extraction (MAE) for polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) determination in smoked meat. *Meat Science* 81:275-280, 2009

Roseiro LC, Gomes A, Santos C: Influence of processing in the prevalence of polycyclic aromatic hydrocarbons in a Portuguese traditional meat product. *Food and Chemical Toxicology* 49, 6:1340-1345, 2011

Santos C, Gomes A, Roseiro LC: Polycyclic aromatic hydrocarbons incidence in Portuguese traditional smoked meat products. *Food and Chemical Toxicology* 49: 2343–2347, 2011

Škaljac S, Jokanović M, Tomović V, Ivić M, Tasić T, Ikonić P, Šojić B, Džinić N, Petrović L: Influence of smoking in traditional and industrial conditions on colour and content of polycyclic aromatic hydrocarbons in dry fermented sausage "Petrovská klobása". *LWT* 87:158-162, 2018

Škaljac S, Petrović L, Tasić T, Ikonić P, Jokanović M, Tomović V, Džinić N, Šojić B, Tjapkin A, Škrbić B: Influence of smoking in traditional and industrial conditions on polycyclic aromatic hydrocarbons content in dry fermented sausages (Petrovská klobása) from Serbia. *Food Control* 40:12-18, 2014.

Udruga Čuvari slavonske tradicije: Slavonska kobasica, Zaštićena oznaka zemljopisnog podrijetla (ZOZP). *Ministarstvo Poljoprivrede*, 2020

Uredba komisije (EU) br. 835/2011, o izmjeni Uredbe (EZ) br. 1881/2006 u pogledu najvećih dopuštenih koncentracija za policikličke aromatske ugljikovodike u hrani. *Službeni list Europske Unije*, 2011