

# Policiklički aromatski ugljikovodici u minimalno procesiranom krumpiru prženom u dubokom ulju suncokreta

---

Solarić, Tea

Master's thesis / Diplomski rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:612996>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom](#).

Download date / Datum preuzimanja: **2024-06-30**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

# DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2017.

Tea Solarić  
740/PI

**POLICIKLIČKI AROMATSKI  
UGLJKOVODICI U MINIMALNO  
PROCESIRANOM KRUMPIRU  
PRŽENOM U DUBOKOM ULJU  
SUNCOKRETA**

Rad je izrađen u Kabinetu za tehnološko projektiranje na Zavodu za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Sandre Balbino te uz pomoć mag. ing. Ane-Matije Mijatović.

Najljepše se zahvaljujem svojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Sandri Balbino na velikom razumijevanju, susretljivosti, strpljivosti, pomoći i savjetima kojima je pratila izradu ovog diplomskog rada.

Posebno se zahvaljujem prof. dr. sc. Dubravki Škevin koja mi je bila velika potpora i poticatelj tijekom studiranja, bez njezine pomoći ovog diplomskog rada ne bi bilo.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo  
Kabinet za tehnološko projektiranje

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti

**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija

### POLICIKLIČKI AROMATSKI UGLJIKOVODICI U MINIMALNO PROCESIRANOM KRUMPIRU PRŽENOM U DUBOKOM ULJU SUNCOKRETA

*Tea Solarić 740/PI*

**Sažetak:** Razvijena je i validirana HPLC metoda za određivanje policikličkih aromatskih ugljikovodika (PAH) u jestivom ulju izoliranih na DACC (eng. donor-acceptor complex chromatography) koloni i analiziranih HPLC sustavom s fluorescentnim detektorom. Ulje je ekstrahirano iz ploški prženog krumpira, a krumpir je prije termičke obrade bio minimalno-procesiran, tretiran 1 %-tnom otopinom natrijeva klorida ili 2 %-tnom otopinom natrijeva askorbata, pakiran u uvjetima modificirane atmosfere i vakuuma te pržen 2., 4., i 8. dan skladištenja. Cilj rada bio je odrediti kako navedeni uvjeti utječu na količinu apsorbiranog ulja u krumpiru nakon prženja pri 180 °C te na formiranje PAH-ova. Nema velikih razlika u udjelu apsorbiranog ulja s obzirom na navedene uvjete. Mnogi PAH-ovi su ispod limita detekcije i limita kvantifikacije razvijene metode, a određene koncentracije su vrlo niske. ANOVA je pokazala da postoji statistički signifikantan utjecaj samo za različite tretmane (NaCl i Na-ask.) na udjel fluorena  $p < 0,05$ .

**Ključne riječi:** *policiklički aromatski ugljikovodici, krumpir, prženje, minimalno procesiranje, HPLC/DACC.*

**Rad sadrži:** 53 stranice, 16 slika, 13 tablica, 44 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u:** Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** *Izv.prof.dr.sc. Sandra Balbino*

**Pomoć pri izradi:** *Ana-Matija Mijatović, mag. ing.*

**Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:**

1. Prof.dr.sc. *Branka Levaj*
2. Izv.prof.dr.sc. *Sandra Balbino*
3. Prof.dr.sc. *Dubravka Škevin*
4. Izv.prof.dr.sc. *Ksenija Marković* (zamjena)

**Datum obrane:** 27. rujna 2017.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb  
Faculty of Food Technology and Biotechnology  
Department of Food Engineering  
Section for Food Plant Design

Scientific area: Biotechnology  
Scientific field: Food Technology

### POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS IN MINIMALLY PROCESSED POTATOES FRIED IN DEEP SUNFLOWER OIL

*Tea Solarić 740/PI*

**Abstract:** *HPLC method for determining polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in edible oil on a DACC (donor-acceptor complex chromatography) column and HPLC system with a fluorescence detector has been developed and validated. The oil was extracted from fried potato slices and prior to thermal treatment potatoes were minimally processed, treated with 1 % sodium chloride solution or 2 % sodium ascorbate solution, packed under modified atmosphere and vacuum, fried on 2<sup>nd</sup>, 4<sup>th</sup> and 8<sup>th</sup> day of storage. The aim of this work was to determine how these conditions affect the amount of absorbed oil in the potatoes after frying at 180 °C and the formation of PA. There were no major differences in the proportion of absorbed oil with respect to the stated conditions. Many PAHs were below the detection limit and the quantification limit of the developed method and certain concentrations were very low. ANOVA has shown that there is statistically significant effect only for different treatments (NaCl and Na-ask.) on fluorene  $p < 0.05$ .*

**Keywords:** *polycyclic aromatic hydrocarbons, potato, frying, minimal processing, HPLC/DACC.*

**Thesis contains:** 53 pages, 16 figures, 13 tables, 44 references

**Original in:** Croatian

**Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) version is deposited in:** Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb.

**Mentor:** *Sandra, Balbino, Full professor*

**Technical support and assistance:** *Ana-Matija, Mijatović, mag. ing.*

**Reviewers:**

1. PhD. *Branka Levaj*, Full professor
2. PhD. *Sandra Balbino*, Associate professor
3. PhD. *Dubravka Škevin*, Full professor
4. PhD. *Ksenija Marković*, Associate professor (substitute)

**Thesis defended:** 27<sup>th</sup> September 2017.

<b>1. UVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO .....</b>	<b>2</b>
2.1. Policiklički aromatski ugljikovodici (PAH –ovi).....	2
2.1.1. Toksičnost PAH-ova .....	3
2.1.2. Utjecaj prženja na nastanak PAH – ova u hrani .....	3
2.1.3. Analize PAH – ova.....	4
2.1.4. Zakonski propisi.....	5
2.2. Minimalno procesiranje hrane.....	6
2.2.1. Konzerviranje hlađenjem .....	7
2.2.2. Modificirana atmosfera (MA) .....	7
2.2.3. Pakiranje u vakuumu.....	8
2.3. Krumpir ( <i>Solanum tuberosum L.</i> ) .....	8
2.3.1. Kemijski sastav krumpira .....	9
2.3.2. Prženi krumpir.....	12
2.3.2.1. PAH – ovi i prženje .....	12
2.3.2.2. Akrilamid.....	14
2.3.3. Minimalno procesirani krumpir .....	15
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO.....</b>	<b>16</b>
3.1. Materijal.....	16
3.1.1. Standardi i reagensi .....	17
3.1.2. Oprema.....	18
3.2. Metoda rada.....	18
3.2.1. Ekstrakcija ulja iz uzorka .....	19
3.2.2. Izolacija i HPLC analiza policikličkih aromatskih ugljikovodika .....	19
3.2.3. Kvantifikacija.....	20
3.2.4. Validacija .....	21
3.2.5. Statistička obrada podataka .....	21
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA.....</b>	<b>22</b>
4.1. Kalibracija i validacija metode.....	23
4.2. Validacija .....	32
4.3. Utjecaj minimalnog procesiranja na udjel PAH-ova u prženom krumpiru .....	34
<b>5. ZAKLJUČCI.....</b>	<b>48</b>
<b>6. LITERATURA.....</b>	<b>49</b>



# 1. UVOD

Prevladava trend ubrzanog načina života zbog kojeg nedostaje vremena za kvalitetnu pripremu namirnica. To je posebno izraženo u zapadnim zemljama svijeta. Zato se često poseže za polu-gotovom ili brzo pripremljenom hranom koja najčešće uključuje prženje namirnica u dubokom ulju. Ovdje se skriva opasnost zbog visokog sadržaja ulja u takvoj hrani, koriste se visoke temperature pri kojima se razvijaju mnogi, nedovoljno istraženi nus-produkti. Isto ulje se često koristi više puta nego što bi se trebalo. Uz razvijenu svijest o zdravoj prehrani i visoko uznapredovalu medicinu, nikada u ljudskoj povijesti nije bilo više oboljelih od mnogih vrsta raka, kardio-vaskularnih bolesti, pretilosti. Uzrok tome je sve veće zagađenje okoliša i akumulacija toksina u ekosustavu, stres, nepravilna prehrana.

Policiklički aromatski ugljikovodici su toksični, kancerogeni i mutageni spojevi. Nastaju nepotpunim sagorijevanjem organske tvari te su zbog kruženja tvari u prirodi široko rasprostranjeni u okolišu. Lipofilnog su karaktera te ih se može naći u višim koncentracijama u namirnicama s višim udjelom masti i ulja. Njihova prisutnost u hrani može potjecati iz okoliša ili kao posljedica prerade npr. prženje, pečenje, dimljenje. Zakonom su regulirane dozvoljene granice za PAH-ove prisutne u hrani.

Krumpir, povrće s „novog“ kontinenta mnogo je puta spasio ljude od smrti uzrokovane glađu. Danas je treći po redu po zastupljenosti u ljudskoj prehrani, koristi se na mnoge načine diljem svijeta. Najpoznatiji proizvodi koji se dobivaju prženjem krumpira su čips koji se najčešće konzumira industrijski proizveden i prženi krumpirići koji se u velikoj mjeri pripremaju u restoranima i kućanstvima. Mnoga istraživanja dokazala su određen iznos „lakih“ i „teških“ frakcija PAH-ova koji su se razvili tijekom prženja u dubokom ulju, ovisno o primijenjenoj temperaturi.

Kako bi se olakšala i ubrzala priprema hrane, industrije na tržištu nude minimalno procesirane proizvode (eng. fresh cut) voća i povrća. To je npr. oguljen, opran i narezan sirovi krumpir koje je spreman za termičku obradu. Zapakiran je u plastičnu ambalažu u modificiranoj atmosferi (MAP) ili pod vakuumom te skladišten hlađenjem kako bi mu se produžila trajnost.

Cilj rada je odrediti utječe li način tretiranja te skladištenja minimalno procesiranog krumpira na formiranje PAH-ova u prženom krumpiru. Odnosno, hoće li biti razlika u količini apsorbiranog ulja u krumpiru koji je tretiran s NaCl, Na-askorbatom, pakiran u MAP ili vakuum, skladišten različiti broj dana.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. POLICIKLIČKI AROMATSKI UGLJIKOVODICI (PAH – OVI)

Policiklički aromatski ugljikovodici su velika skupina ubikvitarnih i toksičnih kontaminanata prerađene hrane i okoliša. PAH – ovi nastaju nepotpunim sagorijevanjem ili pirolizom organske tvari, geološkim, industrijskim procesima i aktivnošću ljudi. Sastoje od dva ili više spojena aromatska prstena. Prema broju kondenziranih aromatskih prstenova mogu se klasificirati kao „laki“ sa 2-3 prstena ili „teški“ sa 4-6 prstena benzena. Teški PAH – ovi su stabilniji i toksičniji od lakih. Ne pronalaze se sami, već su sastojci kompleksne mješavine tisuća spojeva (Purcaro i sur., 2013).

Mnoga istraživanja dokazala su prisutnost 16 glavnih PAH- ova u skoro svim izvorima hrane. Postoji nekoliko glavnih puteva kojima PAH- ovi mogu kontaminirati hranu. Uzgojem voća i povrća na kontaminiranom tlu, konzumacijom morskih plodova iz mora i oceana koja su kontaminirana sirovim uljem. Pripremom hrane kao što je npr. dimljenje, roštiljanje, pečenje, prženje. Kako bi se odredilo koliko PAH – ova nastaje termičkom obradom hrane prvo treba odrediti da li je i koliko tog toksikanta sadržavala namirnica prije obrade (Stadler i Lineback, 2009).

Prekursori nastanka PAH – spojeva su svi sastojci koji sadrže vodik i ugljik, a izloženi su visokoj temperaturi (500-700 °C). Djelomično su polomljeni na manje nestabilne fragmente (piroliza), to su uglavnom radikali koji daju relativno stabilne PAH-ove pirosintezom tj. rekombinacijom (Purcaro i sur., 2013). PAH- ovi se oslobađaju u atmosferu i ulaze u prehrambeni lanac izgaranjem ugljena, šuma, nafte i proizvoda od nafte, proizvodnjom koksa, spaljivanjem otpada, nastajanjem ispušnih plinovi motornih vozila, vulkanskom aktivnošću, curenjem nafte (Bansal i Kim, 2015).

Većina PAH- ova su lipofilni i slabo topljivi u vodi, nestabilni i imaju veliku tendenciju apsorpcije na male organske tvari (< 2,5 µm) kao što su pepeo i čađa. Čestice koje sadrže PAH – ove padaju iz atmosfere kao primarni izvor kontaminacije tla, kiša ih ispere u podzemne i površinske vode, kumuliraju se u riječnim i morskim sedimentima. Kao posljedica toga, žitarice i povrće koje raste na kontaminiranom području apsorbirat će PAH-ove zbog njihovih lipolitičkih svojstava. PAH- ovi se kumuliraju u tlu. U nekim dijelovima svijeta, kao rezultat visoke kontaminacije tla može se naći visoka koncentracija PAH- ova u kori povrća (Stadler i Lineback, 2009).

### 2.1.1. Toksičnost PAH-ova

Genotoksičnost i mutagenost dokazana je brojnim PAH-ovima. Drugi PAH-ovi kojima nije dokazano kancerogeno djelovanje mogu djelovati kao sinergisti (Purcaro i sur., 2013). Pretpostavlja se da su među glavnim faktorima koji pridonose razvoju raka pluća i kože (Bansal i Kim, 2015). PAH-ovi sami po sebi nisu toksični. Aktiviraju se metaboličkim reakcijama kojima organizam nastoji eliminirati ksenobiotike iz tijela na način da im poveća polarnost adicijom polarnih grupa. Najvažniji metabolit benzo(a)pirena (BaP) je BaP-7,8-diol-9,10-epoksid. On ima najveću sposobnost izazivanja raka zato što se veže s proteinima ili DNA.

Inhalacijom, preko kože i probavnog sustava glavni su načini izloženosti čovjeka PAH-ovima. U kojoj mjeri će se adsorbirati preko pluća zavisi o strukturi PAH-a, kemijskoj prirodi i veličini čestica. U plinovitoj fazi (zraku) prisutni su samo „laki“ PAH-ovi, dok na čestice mogu biti adsorbirani „laki“ i „teški“. Dokazano je da čovjek u svoj organizam najviše PAH-ova unese hranom i vodom (Purcaro i sur., 2013).

### 2.1.2. Utjecaj prženja na nastanak PAH – ova u hrani

Postupci kojima se priprema hrana mogu uzrokovati povećanje koncentracije PAH-ova. Prženje je postupak termičke obrade kojim se hrana uranja u vruće biljno ulje ili mast. Taj je proces pripreme hrane puno brži od roštiljanja i pečenja zato što se toplina s vrućeg ulja prenosi cijelom površinom tretirane hrane. Prisutnost PAH-ova u biljnom ulju koje se koristi za prženje ovisi o načinu na koji je ulje proizvedeno. Postupci sušenja sjemenja iz kojih se proizvodi ulje, tj. produkti sagorijevanja plinova mogu doći u kontakt sa sjemenjem i kontaminirati ih PAH-ovima. Pregrijanom ulju i ulju koje je mnogo puta korišteno može se u procesu prženja dogoditi piroliza koja uzrokuje akumulaciju PAH-ova u parama ili ulju. Kao posljedica toga je prijenos PAH-ova u kuhinjski zrak i prženu hranu (Stadler i Lineback, 2009).

Prženjem se poboljšava miris i okus ali nastaju i spojevi koji negativno utječu na njezinu kvalitetu. Stvaranje tih spojeva ovisi o mnogo čimbenika npr. vrsta ulja ili masti, temperatura prženja, metoda prženja (kontinuirana ili diskontinuirana), vrsti posuđa za prženje. Za potrebe proizvodnje velikih kapaciteta koristi se kontinuirano prženje te je tada proces obično automatiziran. U posudu u kojoj se hrana prži, svježe ulje se dodaje kontinuirano dok se hrana kroz ulje pomiče transporterom. Temperatura ulja regulira se termostatom, a potrebno ga je stalno zagrijavati kako se ne bi ohladilo dodatkom hrane ili

svježeg ulja. Ulje je stalno u cirkulaciji, dijelovi hrane koji izgore kontinuirano se izdvajaju filtracijom. Diskontinuirano prženje se primjenjuje za manje količine hrane. Tada se ulje dodaje periodički, a zagoreni dijelovi duže ostaju u ulju jer se ono filtrira samo jednom na kraju radnog dana (Purcaro i sur., 2006).

Uljne pare nastaju u procesu obrade hrane pri visokim temperaturama, mješavine su produkata složenih kemijskih reakcija između sastojaka hrane i jestivog ulja. Dokazano je da se prženjem u dubokom ulju, prženjem na tavi, pečenjem na roštilju stvara velika količina štetnih komponenata, npr. hlapljive organske, karbonilne komponente, PAH – ovi. Uljne kuhinjske pare najvažniji su izvor unutarnjeg zagađenja zraka. Jako je važna kvaliteta zraka u zatvorenom prostoru jer tamo veliki dio populacije provodi više od 80 % svojeg vremena. Znanstveno je dokazano da žene koje su izložene uljnim parama u kuhinji imaju veći rizik obolijevanja od raka pluća. To je posebno izraženo u Kini gdje se u njihovoj tradicionalnoj kuhinji često prži u dubokom ulju, a imaju lošu ventilaciju u kuhinji (Yao i sur., 2015).

### 2.1.3. Analize PAH – ova

Izbor metode za ekstrakciju PAH-ova iz hrane ovisi o njezinoj vrsti. Za krutu hranu koristi se ekstrakcija organskim otapalima i saponifikacija s ekstrakcijom tekuće-tekuće, za tekuće uzorke se koristi ekstrakcija tekuće-tekuće. Glavne tehnike za pročišćavanje tj. izolaciju PAH-ova od interferirajućih tvari su: kromatografija na koloni, SPE (eng. solid phase extraction), GPC (eng. gel permeation chromatography).

Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC) u kombinaciji s fluorescentnim detektorom i plinska kromatografija-masena spektrometrija (GC-MS) dvije su glavne analitičke metode za određivanje PAH-ova u koncentracijama u kojima se inače nalaze u hrani. Zbog slabe selektivnosti i osjetljivosti, metode koje su se prije često koristile: HPLC s UV ili PDA (eng. photo-diode-array) detektorom i GC sa plameno-ionizacijskim detektorom zamijenjene su boljim metodama. On-line metode čine analitički postupak analize PAH-ova bržim i jednostavnijim. U toj metodi se ekstrakt uzorka injektira u DACC kolonu (eng. donor-acceptor complex chromatographic column) koja je povezana on-line na kolonu s HPLC- sustavom i fluorescentnim detektorom (EFSA, 2008). Metoda se temelji na svojstvu PAH-ova koji su elektron-donori i stvaraju jake interakcije s stacionarnom fazom kolone koja je elektron-akceptor. Posljedica toga je zadržavanje PAH – ova na koloni i ispiranje interferirajućih komponenata npr. ulja (Van Stijn i sur., 1996).

GC-MS metoda počela se često upotrebljavati za analizu PAH-ova u hrani. Razlog tome je selektivnosti detektora masenog spektrometra, uporabe masenog spektra za pouzdano

potvrđivanje PAH – ova i mogućnosti korištenja PAH-ova koji su označeni izotopima kao interni standardi (EFSA, 2008).

#### 2.1.4. Zakonski propisi

U Europi zakonska regulativa o dozvoljenim koncentracijama i metodama detekcije PAH - ova dugo nije bila usklađena. Glavni pokretač je bio incident 2001. u Češkoj s visoko kontaminiranim maslinovim uljem. Sustavom brzog uzbunjivanja (eng. Rapid Alert System for Food and Feed, RASFF) koji dijeli informacije među članicama Europske unije spriječena je distribucija opasnog proizvoda za zdravlje ljudi (Purcaro i sur., 2013).

Mnoge organizacije provodile su istraživanja na PAH – ovima. Znanstveni odbor za hranu (eng. Scientific Committee on Food) SCF, 2002. na temelju rezultata istraživanja na životinjama *in vivo* došli su do saznanja da benzo(a)antracen, benzo(b)fluoranten, benzo(j)fluoranten, benzo(k)fluoranten, benzo(g,h,i)perilen, benzo(a)piren, ciklopenta(c,d)piren, krizen, dibenzo(a,h)antracen, dibenzo(a,e)piren, dibenzo(a,h)piren, dibenzo(a,i)piren, indeno(1,2,3-c,d)piren, dibenzo(a,l)piren i 5-metilkrizen uzrokuju mutagenost/genotoksičnost. Kancerogeni učinak ima i benzo(g,h,i)perilen. SCF je predložio da njih 16 predstavljaju prioritetnu grupu PAH - ova u procjeni rizika. Dugoročnim unošenjem mogu genotoksično i kancerogeno utjecati na ljude.

Predložili su i korištenje benzo(a)pirena kao marker pojavljivanja i kancerogenog učinka PAH – ova u hrani. Novijim istraživanjima koje je objavila EFSA 2008., dokazano je da je benzo(a)piren detektiran samo u 50 % ispitivanih uzoraka. U oko 30 % svih uzoraka nije dokazana prisutnost ali su bili prisutni drugi genotoksični i kancerogeni PAH – ovi, od kojih je najčešći bio krizen. Benzo(a)piren je proglašen neprikladnim markerom za dokazivanje prisutnosti PAH – ova u hrani. Iste godine PAH – ovi su podijeljeni u tri skupine. Grupirani su kako bi se provjerilo koje njihove sume bolje prikazuju pojavljivanje genotoksičnih i kancerogenih PAH-ova u različitim kategorijama hrane.

PAH8 čine benzo(a)antracen, benzo(b)fluoranten, benzo(k)fluoranten, benzo(g,h,i)perilen, dibenzo(a,h)antracen, indeno(1,2,3-c,d)piren, krizen, benzo(a)piren. EFSA- in panel za kontaminante u lancu hrane 2008., CONTAM Panel (eng. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain) usuglasio se da su upravo PAH8 jedini indikatori kancerogenog potencijala PAH – ova koje možemo naći u hrani bilo da su u kombinaciji ili pojedinačno. U grupu PAH4 ubrajaju se benzo(a)piren, krizen, benzo(b)fluoranten,

benzo(a)antracen, a u PAH2 benzo(a)piren, krizen. PAH8 i PAH4 prihvatljiviji su indikatori PAH – ova u hrani (EFSA 2008).

Zadnje mišljenje EFSE stupa na snagu 2012. kao Regulativa (Reg. 835/2011) kada su određene nove granice za koncentraciju benzo(a)pirena i zbroj PAH4. Ustanovljeno je da neke skupine namirnica imaju niže koncentracije PAH – ova nego što je prethodno izvješteno te su za njih određene granice (Purcaro i sur., 2013).

Europska unija donošenjem Regulative 208/2005 postavila je maksimalnu granicu od  $2 \mu\text{g kg}^{-1}$  za benzo(a)piren u uljima i mastima za direktnu konzumaciju ili za uporabu kao sastojak hrane (Hao i sur., 2016). Regulativom (EU) No. 835/2011 određena je i maksimalna koncentracija sume benzo(a)pirena, benzo(a)antracena, benzo(b)fluorantena i krizena od  $10 \mu\text{g kg}^{-1}$  (Zelinkova i Wanzl, 2015).

## **2.2. MINIMALNO PROCESIRANJE HRANE**

Povrće i voće koje je oprano, oguljeno, očišćeno, svježe narezano minimalno procesirano, pakirano i skladišteno hlađenjem. Proizvodi su sirovi, spremni za jelo, termičku obradu, potpuno su upotrebljivi – bez stvaranja otpada. Ne treba ih zamrzavati, tretirati toplinom, aditivima ili konzervansima kako bi im se produžila trajnost. Potrošačima pružaju praktičnost, prehranu s očuvanim nutritivnim sastojcima i proizvodima zadržane svježine (Beaulieu i Gorny, 2016).

Voće i povrće nakon odvajanja od biljke na kojoj je raslo nastavlja metaboličke reakcije. Ono diše (respiracija): koristi kisik iz zraka, oslobađa  $\text{CO}_2$  i toplinu, transpiracijom se otpušta voda. U fazi rasta, zrenja i dozrijevanja sintetizira se biljni hormon – etilen. Zbog toga što hlađenje usporava te procese, jedna je od metoda konzerviranja koje se najviše i najčešće primjenjuje (Lovrić i Piližota, 1994).

Kombinacijom hlađenja pakovina u modificiranoj atmosferi ili primjenom vakuuma postiže se duža trajnost proizvoda. Prethodno je potrebno spriječiti degradaciju boje voća i povrća. Za svijetlo (bijelo) voće ili povrće koje je svježe ili djelomično obrađeno, savjetuje se da se prije pakiranja tretira sredstvom koje će spriječiti posmeđivanje uzrokovano oksidativnim i enzimskim reakcijama. To su sredstva koja se koriste u prehrani ili su prirodni sastojci voća i povrća, npr. askorbinska, limunska kiselina, kuhinjska sol, spojevi koji sadrže sumpor, npr. sulfid, bisulfid, metabisulfid. Zato se nakon primarne obrade, npr. guljenja cijelo

voće ili povrće 1-5 min uranja u 0,5 %, 1 %, 1,25 % vodene otopine tih sastojaka. Time se zadržavaju organoleptička i mehanička svojstva (Lovrić i Piližota, 1994).

### 2.2.1. Konzerviranje hlađenjem

Hlađenjem namirnica najmanje se mijenjaju njihova izvorna svojstva. Trajnost voća i povrća može se produljiti na kratko vrijeme ali postoje razlike među vrstama i sortama. Snižanjem temperature usporava se kvarenje koje uzrokuju bakterije, gljivice i kvasci, usporavaju se mnogi negativni procesi metabolizma, smanjuje se gubitak vode te oslobađanje topline kao posljedica disanja. Također se usporava klijanje i dozrijevanje svježeg voća ili povrća (Lovrić i Piližota, 1994).

### 2.2.2. Modificirana atmosfera (MA)

Najčešće se primjenjuje u malim jediničnim pakovinama ili spremnicima. Prije primjene sirovinu treba pripremiti tj. minimalno procesirati. Modificirana atmosfera postiže se pakiranjem proizvoda u ambalažu od polimernih filmova selektivne propusnosti (permeabilnosti) kod kojeg je promijenjen sastav atmosfere u kojem se inače proizvod nalazi. Snižava se udio O<sub>2</sub>, a podiže udio CO<sub>2</sub> i/ili N<sub>2</sub>. Trajnost takvog svježeg proizvoda može se produžiti 2-10 puta, bez primjene topline ili kemijskih sredstava. Promjenom sastava atmosfere smanjuje se aktivnost mikroorganizama, usporavaju biokemijski procesi u voću ili povrću, starenje i kvarenje. Modificirana atmosfera (MA) postiže se ubrizgavanjem smjese plinova prije zatvaranja ambalaže zbog čega se usporavaju procesa disanja voća i povrća unutar pakovine.

Sastav modificirane atmosfere ovisi o svojstvima plastičnih filmova koji se koriste kao ambalaža, njihovoj propusnosti za plinove i vodu (vlagu) u pakovanje i iz pakovanja, vrsti sirovine (intenzitetu disanja), stupnju obrade sirovine prije pakiranja, temperaturi okoliša, površini filma po jedinici mase zapakiranog proizvoda.

Općenito, odabir i vrsta ambalažnog materijala vrlo je važna u održavanju kvalitete i trajnosti proizvoda. On štiti namirnicu od gubitka prehrambene vrijednosti, mikrobiološkog onečišćenja, raznih drugih onečišćenja i pada kakvoće kao posljedica fizikalno-kemijskih i biokemijskih procesa. Poželjna svojstva ambalaže su: prozirna, inertna, netoksična folija, spojiva toplinskim zavarivanjem, podnosi niske temperature, nepropusna za vodenu paru, propusna za plinove O<sub>2</sub> i CO<sub>2</sub>. Najčešće se koristi polietilenska folija (PE) debljine 0,01 - 0,25 mm (Lovrić i Piližota, 1994).

### 2.2.3. Pakiranje u vakuumu

Namirnice pakirane u vakuumu bolje su kakvoće i imaju dužu trajnost zato što je u velikoj mjeri štetan utjecaj atmosferskog kisika na proizvod isključen. Pozitivan učinak je još veći ako se proizvod skladišti na temperaturi od 0 °C do 5 °C. Plastične folije koje se koriste kao ambalaža moraju biti djelomično propusne za plinove kako ne bi došlo do razvoja anaerobnih mikroorganizama. To su uglavnom kompleksne folije i laminati koji se sastoje od dva ili više slojeva različitih svojstava koja se odnose na propusnost za vlagu i pojedine plinove koji ulaze u pakovinu i iz nje izlaze. Istiskivanjem zraka iz ambalaže folija se čvrsto stisne iz proizvod, zato je ova tehnika prikladna samo za voće i povrće čvrste teksture kao što su npr. jabuke ili krumpir (Lovrić i Piližota, 1994).

## 2.3. KRUMPIR (*Solanum tuberosum* L.)

Domovina krumpira je zapadni dio Južne Amerike koje pokrivaju današnji teritoriji države Perua, Čilea, Bolivije i Ekvadora. U tim zemljama postoje tragovi da se krumpir uzgajao nekoliko tisuća godina prije Krista, bio je glavni izvor hrane Indijanskih plemena koja su nastanjivale područje Anda. Španjolski kolonijalisti, sredinom 16. st. donijeli su gomolje krumpira u Europu, prvo u Englesku od kuda se brzo proširio cijelim kontinentom. Početkom 17. st. krumpir se posluživao kraljevima kao skupa i fina hrana, do tada je uzgajan kao cvijeće i lijek. Na prijelazu 17. st. krumpir je prenesen iz Europe u britanske kolonije u Sjevernoj Americi, današnji teritorij države SAD i Kanade gdje je tlo također bilo prikladno za uzgoj.

Velika proizvodnja krumpira u Europi počela je nakon izbijanja velike gladi, što se dogodilo nekoliko puta u povijesti, a velika proizvodnja u Sjevernoj Americi 1820-ih godina. Krumpir je prozvan „kruh za siromašne“, donosi bolji urod od žitarica i spasio je tisuće ljudi od gladi (Lisińska i Leszczyński, 1989).

Danas krumpir daje sve veći doprinos svjetskoj sigurnosti hrane i ima veliku ulogu u borbi protiv gladi u zemljama u razvoju. Zamjenjuje ili nadopunjuje prehrambene proizvode na bazi žitarica u zemljama gdje je smanjena dostupnost riže, pšenice, kukuruza ili je cijena žitarica postala jako visoka. Nakon riže i pšenice, krumpir je treći po redu po udjelu u prehrani ljudi. Kukuruz se više koristi za proizvodnju bio-goriva i prehranu stoke (Camire i sur., 2009).



Prema podacima FAOSTAT-a za 2014. godinu, najveći svjetski proizvođač krumpira je Kina sa proizvedenih 95 515 000 t, zatim India 46 395 000 t, Rusija 31 501 354 t, Ukrajina 23 693 350 t, SAD 20 056 500 t, Njemačka 11 607 300 t (FAOSTAT, 2017).

Bioraznolikost krumpira jako je velika, poznato je oko 5000 vrsta. Većina sorti koje su kultivirane pripadaju vrsti *Solanum tuberosum* i prilagođene su umjerenim klimatskim uvjetima. Kultivirano je 10 drugih *Solanum* vrsta, a zabilježeno je i 200 divljih (Burlingame i sur., 2009). Predviđaju se globalne klimatske promjene u razdoblju od 2010. – 2039. koje uključuju povišenje temperature, a uzrokovale bi preokret u mnogim poljoprivrednim kulturama pa tako i kod uzgoja krumpira što uključuje smanjenje bioraznolikosti. Potrebne su velike prilagodbe kultura na vrijeme sadnje i izbor kultivara tj. sorti otporne na visoke temperature (Camire i sur., 2009).

Vrste krumpira mogu se svrstati po mnogim kriterijima. Zajednička klasifikacija temelji se na broju dana od sadnje do dospijea. Tako je: vrlo rani krumpir (65-70), rani (70-90), sredinom sezone (90-100), kasni (110-130) i vrlo kasni (>130). Mogu biti klasificirani prema kvaliteti gomolja, odnosno prikladnosti prema termičkoj obradi za kuhanje, prženje, pečenje, sušenje. Sorte za prženje se mogu podijeliti na one za čips (okrugli) ili pržene krumpiriće (izduženi gomolji). Postoji i klasifikacija sorti prema trajnosti. Pojedine sorte se moraju konzumirati ili preraditi odmah nakon vađenja gomolja iz zemlje, dok druge duže zadržavaju škrob tijekom skladištenja. Škrob se može konvertirati u reducirajuće šećere tijekom skladištenja ili produljenog skladištenja te karamelizirati tijekom prženja. Za prehrambenu industriju su povoljniji kultivari koji se mogu dulje skladištiti.

Krumpiri se razlikuju i po boji periderme (kore) i mesa. Najčešća boja kore je smeđa, crvena, bijela, žuta s bijelim ili žutim mesom. Divlje vrste iz Južne Amerike različitih su paleta boja tj. pigmentacije (Camire i sur., 2009).

### 2.3.1. Kemijski sastav krumpira

Širom svijeta krumpir se koristi na mnogo načina kao glavna i osnovna namirnica, a mnogi potrošači nisu svjesni njegovih povoljnih utjecaja na zdravlje. Ima više suhe tvari i proteina po jedinici površine uzgoja od žitarica. U usporedbi s ostalim izvorima ugljikohidrata kao što je riža ili tjestenina, potrošači vjeruju da krumpir sadrži mnogo više kalorija i masti. Ta pretpostavka je pogrešna jer krumpir sadrži zanemariv udio masnoća (Tablica 1), a niska energetska gustoća je slična onoj koje imaju mahunarke. U mnogim dijelovima svijeta, krumpir se najčešće jede kuhan i neoguljen. Prehrambena **vlakna**, koja su najzastupljenija u kori koja čini 1-2 % gomolja imaju ulogu u reduciranju razine kolesterola.

Glavni ugljikohidrat u krumpiru je **škrob**, služi mu kao rezerva energije. Nalazi se u granulama koje sadrže amilozu i amilopektin u omjeru 1 : 3. Na kristalnu strukturu svježeg (sirovog) krumpira ne mogu djelovati amilolitički probavni enzimi. Nakon termičke obrade, kristalna forma želatinizira, škrob postane topljiv i probavljiv. Krumpir koji sadrži više amiloze u škrobu smanjuje penetraciju ulja pa je takav krumpir prikladniji za proizvodnju „sneck“ proizvoda jer se na taj način potrošači smanjuju unos masnoća.

Najzastupljeniji disaharid je saharoza, monosaharidi glukoza i fruktoza. Tijekom skladištenja mijenja se omjer škroba i slobodnih šećera što utječe na preradu. Prženjem krumpir posmeđi kada ima previše reducirajućeg šećera npr. glukoze i fruktoze (Camire i sur., 2009).

Tablica 1. Prosječan kemijski sastav u 100 grama: (A) cijelog gomolja (kora + meso) sirovog krumpira, (B) čips od krumpira, običan, neslan, (C) smrznuti krumpir žutog mesa, nepripremljen, (D) kockice, Del Monte – konzerva u slanom naljevu (USDA, 2016)

	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>
<b>Voda</b>	79,25 g	1,90 g	65,05 g	/
<b>Energetska vrijednost</b>	77 kcal	536 kcal	162 kcal	41 kcal
<b>Proteini</b>	2,05 g	7,00 g	2,47 g	0,82 g
<b>Lipidi (ukupni)</b>	0,09 g	34,60 g	5,84 g	0,00 g
<b>Ugljikohidrati</b>	17,49 g	52,90 g	25,01 g	9,84 g
<b>Prehrambena vlakna</b>	2,1 g	4,8 g	2,2 g	0,8 g
<b>Ukupni šećeri</b>	0,82 g	0,22 g	0,37 g	0,00 g

Od svih vitamina, krumpir sadrži najviše **vitamina C** (Tablica 2), 84 – 145 mg/ 100 g suhe tvari ovisno o sorti, vrsti tla, uvjetima skladištenja. Važan je za osiguravanje dostupnosti željeza u organizmu i kao izvor vitamina C u mnogim dijelovima svijeta. Dobar je izvor pojedinih vitamina skupine B. Krumpir s korom izvor je **kalija** koji je i najzastupljeniji od svih minerala u sirovom krumpiru (Camire i sur., 2009).

Tablica 2. Prosječan sastav vitamina i minerala: (A) cijelog gomolja sirovog krumpira, (B) čips od krumpira, običan, neslan, (C) smrznuti krumpir žutog mesa, nepripremljen, (D) kockice, Del Monte – konzerva u slanom naljevu (USDA, 2016)

	mg/100 g			
<b>Minerali</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>
Kalcij, Ca	12	24	9	33
Željezo, Fe	0,81	1,63	0,48	0,30
Magnezij, Mg	23	67	/	/
Fosfor, P	57	165	/	/
Kalij, K	425	1275	447	213
Natrij, Na	6	8	300	230
Cink, Zn	0,30	1,09	/	/
<b>Vitamini</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>
Vitamin C	19,7	31,1	10,9	4,9
Tiamin B1	0,08	0,17	/	/
Riboflavin B2	0,03	0,20	/	/
Niacin B3	1,06	3,83	/	/
Piridoksin B6	0,30	0,66	/	/
Folna kiselina B9	0,015	0,045	/	/
Vitamin E	0,01	9,11	/	/
Vitamin K	0,002	0,022	/	/

Divlje američke vrste pojavljuju se s korom ljubičaste, plave boje i/ili obojenim mesom. Pigmenti krumpira su sekundarni biljni metaboliti, uključuju karotenoide, antocijane, prekursore fenola i flavonoida. To su antioksidansi, biljci služe kao obrana, a ljudima povoljno utječu na zdravlje (Camire i sur., 2009).

Biljke iz porodice *Solanaceae* sadrže spojeve s dušikom, glikoalkaloide. Uloga u krumpiru im je da štite gomolj od infekcija. Najvažniji glikoalkaloidi u krumpiru su  $\alpha$  – hakonin i  $\alpha$  – solanin, nalaze se u kori i omjer im varira. Ima ih više u zelenom (nezrelom) krumpiru. Imaju potencijalno toksičan i pozitivan učinak na zdravlje, ovisno o koncentraciji. Prijašnja istraživanja su dokazala da u koncentraciji > 3-10 mg imaju neurotoksičan učinak

zbog inhibicije aktivnosti kolinesteraze, a izaziva i upalu u probavnom sustavu, itd., u nižim koncentracijama imaju potencijalno protuupalno i antikancerogeno djelovanje (Furrer i sur., 2016).

### 2.3.2. Prženi krumpir

Tradicionalnim postupkom prženja apsorpcija ulja se povećava što je veći omjer površine/volumena, niža temperatura prženja čipsa, niži udio suhe tvari (visoki udio vode), ovisi o vrsti krumpira i zrelosti. Nije povoljan udio suhe tvari manji od 19,5 % za pržene krumpiriće (eng. French fry) i manji od 20 % za čips. Kako bi se smanjila kumulacija ulja predlažu se različite obrade krumpira prije procesa prženja. Čips koji je prije prženja bio blanširan, apsorbirao je više ulja od kontrolnog čipsa. Drugo istraživanje je pokazalo da blanširani, želatinizirani škrob na površini krumpirića stvara barijeru za vlagu. Trenutno se u industriji prženih krumpirića koristi predtretman sušenjem površine krumpira mikrovalovima ili vrućim zrakom što smanjuje apsorpciju ulja. Postoje bolje metode prženja od tradicionalnog uranjanja u vruće ulje. Na primjer, prženje pod vakuumom i centrifugalno prženje smanjuju temperaturu prženja i izdvoje više ulja nakon prženja. Razlog zašto se češće ne koriste u industrijama, a smanjuju udio ulja u prženom krumpiru je visoka cijena uređaja.

Za redukciju ulja u prženim proizvodima pokazalo se učinkovito tretiranje sirovog krumpira prije prženja kriogenim zamrzavanjem, namakanjem u otopinu soli, blanširanje infracrvenim zrakama, oblaganje materijalima koji stvaraju film. Zaštitna barijera smanjuje gubitak vode i apsorpciju masti tijekom prženja. Čips koji se prži u kućanstvima sadrži više ulja (45 %) u usporedbi s komercijalnim čipsom (36 %). Zabrinutost predstavlja količina apsorbiranog ulja tijekom prženja (Furrer i sur., 2016).

#### 2.3.2.1. PAH – ovi i prženje

Purcaro i sur. (2006) uspoređivali su prisutnost PAH-ova u ulju prije prženja i u ulju koje je ekstrahirano iz čipsa od krumpira i ekstrudiranih „snack“ proizvoda. U ekstrahiranom ulju nađena je viša koncentracija „lakih“ PAH-ova, posebno fenantrena i fluorena, u nekim slučajevima viša koncentracija „teških“. Isti autori ispitali su potencijal čipsa od krumpira na apsorpciju PAH-ova iz atmosfere. Rezultati su pokazali da čips lako apsorbira „lake“ PAH-ove, posebno ističu fenantren, fluoren, piren. Zato pretpostavljaju da je viša koncentracija PAH-ova posljedica kontaminacije iz zraka i njihovoj lipolitičkoj prirodi da se lako vežu na masne proizvode. Povrće može biti kontaminirano PAH-ovima preko zraka i

zemlje. S obzirom da se krumpir guli i pere prije upotrebe, takva vrsta kontaminacije je zanemariva.

Ekstrahirali su ulje iz 14 industrijskih „snack“ proizvoda, među kojima je i čips od krumpira, te dokazali da se ne treba brinuti zbog formiranja PAH-ova prženjem u industrijama i da biljna ulja koja su korištena za prženje velikih količina hrane imaju relativno nisku koncentraciju PAH-ova. Koncentracija PAH-ova u ulju reducira se rafinacijom.

Svi rezultati pokazuju da nemasna hrana koja je pržena u dubokom ulju, kontinuirano u industrijama ili diskontinuirano u fritezama ne predstavljaju rizik za formiranje PAH-ova u prženom proizvodu i ulju na kojem se pržilo. U ovom istraživanju nisu određivali PAH-ove iz para koja se razvijaju prženjem.

Hao i sur., (2016) ispitivali su promjene u sadržaju 16 PAH – ova u ulju repice, soje, kikirikija i masline. Pileći medaljoni i krumpir prženi su u dubokom ulju 15, 30 i 45 min. Rezultati su pokazali da su sva svježa ulja prije prženja sadržavala PAH – ove, uglavnom one s 2-4 prstena. Najmanje PAH – ova je sadržavalo ulje soje, a najviše kikirikijevo. Bez obzira koja vrsta hrane se pržila, koncentracija ukupnih PAH – ova, čak i onih sa 5 i više prstena rasla je s duljinom vremena prženja. Glavni PAH – ovi nađeni u svježem i upotrebljenom ulju sadržavali su „lake“ frakcije. U uljima kikirikija i masline koje je upotrebljeno za prženje, dominira skupina  $\Sigma$ 4PAH (benzo(a)antracen, krizen, benzo(b)fluoranten, benzo(a)piren).

U uzorcima ulja na kojima se pržilo 45 minuta, kikirikijevo ulje ima 9,2 x , maslinovo 6,8 x veću srednju koncentraciju tih četiri PAH – ova u odnosu na one koje je utvrdila i dozvolila Europska unija uredbom 835/2011 ( $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ ). Zaključili su da se isto ulje ne smije koristiti mnogo puta i da maslinovo ulje nije pogodno za prženje hrane u dubokom ulju (Hao i sur., 2016).

Yao i sur., (2015) određivali su karakteristike PAH-ova koji nastaju u uljnim parama tijekom prženja i prženja u dubokom ulju. Pržili su se pileći medaljoni, krumpir, jaja i ribu na sojinom, kikirikijevom, maslinovom i ulju uljane repice. Ova hrana i ulja najčešće se koriste u Kini. PAH – ovi su se kvantificirali HPLC metodom uz UV detektor. Rezultati pokazuju da se u parama koje se razvijaju prženjem u dubokom ulju stvara 1,3 x više PAH – ova i 10,9 x više benzo(a)pirena u odnosu na obično prženje. Razlog tomu je što se za prženje u dubokom ulju koristi više ulja i primjenjuju više temperature u odnosu na obično prženje.

Benzo(a)piren tj. B(a)P kao jedan od najtoksičnijih komponenti PAH – spojeva često se koristi kao marker ukupne izloženosti PAH- ovima u okolišu. Po kineskim standardima za

kvalitetu zraka jedino je određena koncentracija B(a)P – a. Prosječna koncentracija B(a)P – a u uljnim parama poredana je redosljedom kikirikijevo > maslinovo > repičino > sojino ulje.

Ukupno je detektirano 16 vrsta PAH- ova u obje metode prženja. Repičino ulje je emitiralo više PAH – ova od ostale tri vrste ulja (Yao i sur., 2015). Za razliku od Yao i sur. (2015) Purcaro i sur. (2006) navode kako stupanj nezasićenosti masnih kiselina pozitivno utječe na količinu i vrstu PAH-ova koji se stvaraju u parama. Sojino ulje, analizirano u ovom radu, u usporedbi s uljem repice i suncokreta imalo je najviše nezasićenih masnih kiselina i najveću količinu proizvedenih PAH-ova. Bez obzira koja se namirnica pržila i na kojem ulju, glavne PAH komponente u parama koje su se razvijale prženjem bile su s 3 i 4 benzenska prstena. Udio plinovitih PAH - ova u parama iznosi 59-96 %, a čestica PAH – ova 4 - 41 %. Frakcije para koje su sadržavale čestice bile su bogatije PAH – ovima veće molekulske mase, tj. s 5 ili 6 benzenska prstena. Ovim istraživanjem je dokazano da je prženje važan izvor PAH – ova u zatvorenom prostoru.

U odnosu na ostale ispitivane namirnice, najviše ukupnih PAH – ova razvilo se u parama prženjem krumpira u dubokom ulju repice i masline. Najviše benzo[a]pirena se razvilo u parama prženjem krumpira u dubokom ulju kikirikija, najmanje prženjem krumpira u ulju soje (Yao i sur., 2015).

#### *2.3.2.2. Akrilamid*

Akrilamid nastaje iz slobodne aminokiseline asparagina i reducirajućih šećera (npr. glukoza) uz zagrijavanje preko kompleksnog puta kemijskih reakcija koje uključuju Maillard-ove i druge reakcije. Njegov nastanak usko je povezan sa stvaranjem osnovnih karakteristika pečene hrane. Krumpiri sadrže slobodne aminokiseline asparagin i reducirajuće šećere, a koliko akrilamida će nastati ovisi o sorti. Teži se stvaranju sorti koje će sintetizirati što niže koncentracije asparagina (Stadler i Lineback, 2009).

Švedski znanstvenici 2002. dokazali su da se akrilamid može naći u mnogo vrsta hrane koja sadrži ugljikohidrate, a obrađena je temperaturom iznad 120 °C pečenjem, prženjem ili pečenjem na grilu. Akrilamid nije nađen u kuhanoj hrani. Najviše koncentracije akrilamida određene su u čipsu i prženim krumpirićima. To je potaknulo mnoga istraživanja o mehanizmu nastajanja i postupcima kojima bi se smanjilo njegovo formiranje (Stadler i Lineback, 2009).

Koncentracija šećera u krumpiru se povećava za vrijeme skladištenja na niskoj temperaturi (oko 4 °C), enzimi konvertiraju škrob u glukozu (Furrer i sur., 2016). Iako se

skladištenjem krumpira pri 12 °C mogu spriječiti velika povećanja šećera, za potrebe dugog čuvanja, najčešće se koriste kemijska sredstva. Za smanjenje nastanka akrilamida predlaže se niža temperatura i vrijeme pečenja, niži pH, ali će boja i okus biti slabije izraženi.

Najviše akrilamida unese se u organizam prženim proizvodima od krumpira (čips i prženi krumpirići), žitaricama za doručak, kruhom i pekarskim proizvodima te kavom. Klasificiran je kao spoj koji vjerojatno uzrokuje rak, pretpostavlja se da djeluje na živčani sustav. Glavni metabolit akrilamida, glicidamid odgovoran je za genotoksičnost (Stadler i Lineback, 2009).

Selekcijom se mogu dobiti sorte krumpira koje stvaraju manje prekursora za nastanak akrilamida, primjer su sorte Lady Claire i Saturna koje su namijenjene proizvodnji čipsa (Halford i Curtis, 2016).

### 2.3.3. Minimalno procesirani krumpir

Minimalno procesirani krumpir dostupan je u mnogo oblika kao npr. oguljen, narezan na kockice, ploške, štapiće, cijeli. Treba biti čvrst, bez smeđeg obojenja. U prisutnosti kisika iz zraka dolazi do nepoželjne pojave, enzimskog posmeđivanja koje se inače izbjegava potapanjem krumpira u vodu ili brzom termičkom obradom. U industriji se za cijele, oguljene krumpire u kombinaciji s modificiranom atmosferom koristi otopina 0,5 % L - cisteina i 2 % otopina citrata. Koristi se i zagrijana otopina askorbata i citrata, a potapanje u 4 % otopinu askorbata, 1 % citrata i 1 % otopinu natrij-pirofosfata znatno produžuje trajnost u usporedbi kad se krumpir potapa samo u jednu otopinu. Trajnost minimalno procesiranog krumpira se može produljiti na 3 tjedna pod uvjetima hlađenja i kontrolirane atmosfere. Posmeđivanje se neće spriječiti korištenjem samo modificirane atmosfere. Vakuum-pakiranjem minimalno procesiranog krumpira mogu se stvoriti anaerobni uvjeti koji dopuštaju rast *Clostridium botulinum* (Barth i sur., 2016). Ali se zato zadržava 89 % početne količine C vitamina i svijetla boja krumpira upotrebom vakuuma, dok se u prisutnosti kisika taj vitamin gubi (Camire i sur., 2009).

### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. MATERIJAL

Za eksperimentalni materijal korišten je žuti, konzumni krumpir sorte Birgit proizveden 2016. godine, nabavljen od kooperanata prehrambene industrije „Franck“. Skladišten je na temperaturi od 8 °C, a zadnja 3 dana prije analize na 12 °C što je standardni postupak za krumpir koji se koristi u prehrambenoj industriji. Oguljeni krumpir opran je u običnoj vodi i narezan multipraktikom (BOSCH, Slovenija) na ploške debljine 5 mm. Ploške su uranjane 3 minute u 1 % otopinu kuhinjske soli i 2 % otopinu natrijeva askorbata pri sobnoj temperaturi. Otopine su napravljene s demineraliziranom vodom, a mijenjane su nakon što su četiri uzorka uronjena u istu otopinu. Ocijeđeni krumpir je odvagano, po 300 g uzorka spremalo se u vrećice. Dio uzoraka je vakuumiran (Gorenje, VS 110 W, Slovenija), a dio spremljen u uvjetima modificirane atmosfere (Junior digit, Besser Vacuum SRL, Italija) za što je korištena kupljena mješavina plina (Messer, Hrvatska sastava 3,0 % O<sub>2</sub>, 10 % CO<sub>2</sub>, ostalo je činio N<sub>2</sub>). Tako pripremljen krumpir skladišten je na temperaturi od 10 °C. Uzorci za analizu su izuzimani odmah (bez skladištenja), 2., 4., i 8. dan skladištenja te podvrgnuti termičkoj obradi – prženju u dubokom ulju. Plan analize uzoraka prikazan je u Tablici 3.

Tablica 3. Plan analize uzoraka

Tretman	Način skladištenja	Dan skladištenja
NaCl	Kontrolni uzorak	0
	MAP	2
		4
		8
	VAC	2
		4
8		
Na-askorbat	Kontrolni uzorak	0
	MAP	2
		4
		8
	VAC	2
		4
8		



Krumpir je pržen u fritezi u 1,5 L suncokretovog ulja proizvođača Zvijezda. Pržilo se po 180 g uzorka, 5 minuta u ulju zagrijanom na 180 °C. Tako dobiveni uzorci nakon prženja stavljeni su na papirnate ručnike kako bi se upio višak ulja. Kada se krumpir ohladio na sobnu temperaturu spremljen je u plastične vrećice te zamrznut na -20 °C do daljnje analize.

### 3.1.1. Standardi i reagensi

- Mješavina 16 PAH – ova u metanolu : metil kloridu (1:1), EPA 610, Analytical standard grade (Sigma Aldrich – MERCK, St. Louis, Missouri, USA) :  
acenaften 1000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , acenaftilen 2000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , antracen 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , benzo(a)antracen 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , benzo(b)fluoranten 200  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , benzo(k)fluoranten 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , benzo(g,h,i)perilen 200  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , benzo(a)piren 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , krizen 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , dibenzo(a,h)antracen 200  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , fluoranten 200  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , fluoren 200  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , indeno(1,2,3-c,d)piren 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , naftalen 1000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , fenantren 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , piren 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .
- Standardi pojedinačnih PAH – ova (Sigma Aldrich – MERCK, St. Louis, Missouri, USA ) korišteni za potvrđivanje retencijskih vremena:
  - Fenantren 200  $\mu\text{g mL}^{-1}$  u metilen kloridu, Certificirani, referentni materijal,
  - Fluoranten 200  $\mu\text{g mL}^{-1}$  u metilen kloridu, Certificirani, referentni materijal,
  - Krizen 200  $\mu\text{g mL}^{-1}$  u metilen kloridu, Analitički stupanj čistoće,
  - Benzo(a)piren 200  $\mu\text{g mL}^{-1}$  u metilen kloridu, Analitički stupanj čistoće,
  - Indeno(1,2,3 – c,d)piren 200  $\mu\text{g mL}^{-1}$  u metanolu, Certificirani, referentni materijal.
- Heksan, Analitički stupanj čistoće (Fisher Chemical, UK)
- Diklormetan, ACS – za analize (Carlo Erba Reagents, Francuska)
- Acetonitril, HPLC stupanj čistoće (Fisher Chemical, UK)
- Izopropanol (propan-2-ol), HPLC stupanj čistoće (Fisher Chemical, UK)
- Cikloheksan, Analitički stupanj čistoće (Fisher Chemical, UK)
- Natrijev askorbat (Nutrimea, Hrvatska)
- Natrijev klorid (Solana Tuzla, BiH)
- H<sub>2</sub>O (demineralizirana, laboratorijska)

### 3.1.2. Oprema

- Multipraktik (Multitalent, MCM62020, BOSCH, Slovenija)
- Stroj za zavarivanje folije i vakuumsko pakiranje (Gorenje, VS 110 W, Slovenija)
- Vrećice za vakuumiranje poliamid/polietilen (PA/PE), (FoodSaver, Italija)
- Mješavina plinova 10 % CO<sub>2</sub>, 3,0 % O<sub>2</sub>, ostalo N<sub>2</sub> (Messer, Hrvatska)
- Uređaj za pakiranje u modificiranoj atmosferi (model Junior digit, Besser Vacuum SRL, Italija)
- Vrećice za pakiranje u modificiranoj atmosferi poliamid/polietilen (PA/PE), (Dora-Pak, Hrvatska)
- Friteza (Tefal Versalio 7 in 1, F21-RCS1, Kina)
- Rotavapor (BÜCHI R-205 i vodena kupelj BÜCHI B-490, Švicarska)
- Komprimirani N<sub>2</sub> (Messer, Hrvatska)
- HPLC pumpa (Pharmacia LKB Bioteknologija Gradient Pump 2249, Uppsala, Švedska)
- Kolona (Agilent Chrom Spher Pi 80 x 3,0 mm, Nizozemska)
- HPLC sustav: Varian 9010 gradijentna pumpa, Varian Pro Star 363 fluorescentni detektor (Varian, Sint-Katelijn-Waver, Belgija)
- Kolona (Agilent Pursuit 5 PAH 250 x 4,6 mm, Nizozemska)
- Ultrazvučna kupelj (Bandelin electronic, Njemačka)

HPLC pumpa za nanošenje uzorka na HPLC kolonu opremljena je petljom od 20 µL. HPLC pumpa koja je korištena za razdvajanje ulja od PAH-a preko DACC kolone ima volumen petlje 200 µL. Analitičke kolone održavane su na sobnoj temperaturi.

### 3.2. METODA RADA

Metoda korištena u ovom radu temelji se na DACC (eng. donor-acceptor complex chromatography) metodi koju su razvili Van Stijn i sur. (1996). Razlika je u tome što postupak razdvajanja PAH-ova od ulja i analiza PAH-ova nije međusobno povezana, odnosno provodi se off-line na način da se DACC kolona koristi u svrhu ekstrakcije na čvrstoj fazi. DACC je tehnika kojom se PAH-ovi izdvajaju iz različitih smjesa spojeva. PAH-ovi su donori

elektrona te se zadržavaju na stacionarnoj fazi kolone koja je akceptor elektrona, dok se ostale komponente ulja eluiraju s kolone.

Korištena je HPLC jedinica koja se sastoji od pumpe koja dovodi injektirani uzorak na DACC kolonu s koje se izopropanolom u otpad prvo ispire ulje. Zatim se nakon okretanja kolone, diklormetanom ispiru PAH-ovi. Odvojeni PAH-ovi pripreme se za injektiranje u HPLC gdje se kvantificiraju fluorescentnim detektorom.

### 3.2.1. Ekstrakcija ulja iz uzorka

Reprezentativni primjerak svakog prženog uzorka (oko 50 g) usitni se pistilom u tarioniku u pire. U Erlenmeyerovu tikvicu od 100 mL stavi se 10 g tako pripremljenog uzorka i 30 ml heksana te se ekstrahira jedan sat uronjeno u ultrazvučnu kupelj. Dobivena smjesa profiltrira se kroz naborani filter papir, a otapalo ispari pomoću s rotacijskog vakuum isparivača pri 90 okretaja po minuti i 40 °C (Purcaro, 2006).

Ekstrahirano ulje propuše se dušikom (Messer, Hrvatska) i izvaže, te se pripremi otopina tog ulja u cikloheksanu. Za pripremu uzorka za HPLC analizu uzme se oko 0,4 g ulja te se volumen cikloheksana izračunava preko omjera, tako da se za 0,4 g uzorka ulja doda 0,6 mL otapala.

Za pripremu standardnih otopina željene koncentracije, mješavina standarda 16 PAH-ova razrijeđena je s cikloheksanom. U svrhu kalibracije pripremane su različite koncentracije standarda. Svaki uzorak pripremljen je u dvije paralele.

### 3.2.2. Izolacija i HPLC analiza policikličkih aromatskih ugljikovodika

Razrijeđeno ulje ručno se injektira u sustav, a HPLC pumpa opremljena petljom od 200 µL nanosi uzorak mobilnom fazom na DACC kolonu Agilent Chrom Spher Pi 80 x 3,0 mm (Nizozemska). Kroz pumpu se prvo propušta izopropanol 11,5 minuta pri protoku od 0,35 mL min<sup>-1</sup>, kojim se s kolone odvaja ulje. Potom se zaustavi protok mobilne faze i zamijeni drugom mobilnom fazom odnosno diklormetanom. DACC kolona se okrene te se s nje 10 min eluiraju PAH – ovi diklormetanom pri protoku od 0,35 mL min<sup>-1</sup>. Prije svake analize kolona se ispire izopropanolom 10 minuta pri protoku 0,35 mL min<sup>-1</sup>. Uzorak se uparuje na rotavaporu do suha pri 90 okretaja/min i temperaturi vodene kupelji od 40°C.

Dobiveni upareni sadržaj PAH – ova (rezidue) otapaju se u 100 µL acetonitrila i injektiraju u HPLC sustav (Moret i Conte, 2002) koji je opremljen injektorom volumena 20 µL, gradijentnom pumpom i fluorescentnim detektorom. Kolona za razdvajanje PAH-ova je Agilent Pursuit 5 PAH 250 x 4,6 mm (Nizozemska). Obje kolone održavane su na sobnoj

temperaturi. Parametri gradijenta za eluciju HPLC dani su u Tablici 4. Eluirani PAH-ovi detektirani su fluorescentnim detektorom uz programiranu promjenu valne duljine ekscitacije i emisije prema optimalnom odzivu za pojedini spoj. Prikaz valnih duljina ekscitacije i emisije prikazan je u Tablici 5.

Tablica 4. Parametri gradijenta za eluciju PAH – ove pumpe

Vrijeme (min)	Protok (mL min <sup>-1</sup> )	% A (Voda)	% B (Etilacetat)	% C (Acetonitril)
0	0,50	35	0	65
25,00	0,50	35	0	65
40,00	0,71	10	0	90
60,00	1,0	3	0	97
73,00	1,0	0	0	100

Tablica 5. Program fluorescentnog detektora za određivanje pojedinačnih PAH- ova

Vrijeme (minute)	Ekscitacija (nm)	Emisija (nm)	Detektirani PAH - ovi
0,0 - 30,9	270	323	Naftalen, Acenaften, Fluoren, Fenantren
30,9 – 34,0	252	370	Antracen
34,0 – 35,7	252	402	Fluoranten
35,7 – 37,3	280	460	Piren
37,3 – 49,5	270	390	Benzo(a)antracen, Krizen
49,5 – 67,5	290	410	Benzo(b)fluoranten, Benzo(k)fluoranten, Benzo(a)piren, Dibenzo(a,h)antracen, Benzo(g,h,i)piren
67,5 - 73	290	500	Indeno(1,2,3-c,d)piren
73	290	500	-

### 3.2.3. Kvantifikacija

Za kvantifikaciju je kao standard korištena različita razrjeđenja 16 PAH-ova, ali je kalibracija izrađena za 15 spojeva jer acenaftilen nije moguće detektirati uporabom fluorescentnog detektora.

### 3.2.4. Validacija

Za određivanje limita detekcije (LOD) i limita kvantifikacije (LOQ) mješavina PAH standarda injektirana je sedam puta pri najnižoj koncentraciji kalibracije za svaki PAH (0,0625 - 0,625  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ). LOD i LOQ je izračunat tako da se standardne devijacije rezultata pojedinih injektiranja za svaki PAH iz mješavine pomnože s 3,3 i 10 te podijele s nagibom regresijske linije.

Točnost metode ispitana je injektiranjem mješavine PAH standarda koncentracija 6,30 - 31,50  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , a preciznost je određena kao relativna standardna devijacija (RSD%) iste koncentracije mjerena u sedam ponovljenih injektiranja tijekom istog dana.

### 3.2.5. Statistička obrada podataka

Rezultati injektiranih uzoraka izraženi su kao srednja vrijednost i standardna devijacija dva ili više paralelnih mjerenja, računati su računalnim programom Microsoft Excel 2007 (Microsoft, Redmond, SAD). Analiza varijance tj. ANOVA korištena je kao analitički model za statističku analizu rezultata. To je postupak kojim se može potvrditi ili odbaciti pretpostavljena hipoteza tj. povezanost između različitih čimbenika. Statistički značajan utjecaj ( $p < 0,05$ ) utvrđen je jedino za različite tretmane i udjel fluorena.

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

Prženi krumpir u posljednje je vrijeme postao vrlo često konzumirana hrana, a ponekad zamjenjuje i cijeli uravnoteženi obrok. Unosom pržene hrane općenito u organizam se unosi i značajna količina ulja/masti, ali je isto tako moguć unos povećanih količina kontaminanata poput akrilamida i PAH-ova. PAH-ovi su spojevi lipofilnog karaktera te se najčešće i u najvišim koncentracijama nalaze u uljima i mastima i u proizvodima koji sadrže ulja i masti u visokih udjelima.

Štetno djeluju na ljudsko zdravlje te je zbog toga zakonom regulirana najviša dozvoljena koncentracija PAH-ova u prehrambenim proizvodima (Martorell i sur. 2010). Izvori kontaminacije hrane mogu biti iz kontaminiranog okoliša ili iz procesa obrade hrane pri visokim temperaturama npr. prženje, pečenje, roštiljanje na što je moguće utjecati optimizacijom procesnih parametara (Hao i sur. 2016, Purcaro i sur. 2013, Yao i sur. 2015).

Lee i suradnici (2016) značajno su smanjili sumu PAH<sub>4</sub> u mesu pečenom na roštilju na način da su spriječili izgaranje mesa i masti koje kapa na direktan izvor topline (smanjenje 48-89 %) te direktno dimljenje po mesu (smanjenje 41-74 %). Time su još jednom potvrdili da velika količina PAH-ova, među kojima su i oni vrlo toksični nastaju pod vrlo visokim temperaturama i nepotpunim sagorijevanjem organske tvari.

Obzirom na sve popularniju tehnologiju minimalnog procesiranja namirnica, koja se u posljednje vrijeme primjenjuje i na krumpiru, potrebno je ispitati u kojoj mjeri uvjeti obrade krumpira kao i skladištenje mogu utjecati na nastanak kontaminanata kao što su PAH-ovi. Stoga je cilj ovog rada bio utvrditi utjecaj postupka minimalnog procesiranja krumpira koje uključuje tretiranje otopinom NaCl i Na-askorbata u svrhu sprječavanja enzimskog posmeđivanja, zatime pakovanje u modificiranoj atmosferi i vakuumu te skladištenja (8 dana) na koncentraciju formiranih PAH-ova nakon prženja krumpira u dubokom ulju suncokreta.

U svrhu praćenja udjela PAH-ova u ovom radu razvijena je metoda kojom se isti određuju u prženim ploškama krumpira. Cilj rada bio je i razvoj metode kojom bi se uz što manji utrošak vremena i kemikalija došlo do željenih rezultata analize. Ulje je iz prženog krumpira ekstrahirano heksanom, a izolacija PAH – ova provedena je pomoću DACC (eng. donor-acceptor complex chromatography) kolone koja nije bila direktno spojena na analitički HPLC.

Retencijska vremena pojedinačnih PAH-ova u minutama i rasponi linearnosti metode u  $\mu\text{g kg}^{-1}$  prikazani su u Tablici 6. Baždarni pravci 15 detektiranih PAH-ova prikazani su kao Slika 1-15, kao i kromatogram standarda PAH – ova koncentracije 0,16 – 1,6  $\mu\text{g kg}^{-1}$  Slika

16. Kalibracijske krivulje i korelacije prikazane su u Tablici 7. U Tablici 8 prikazani su parametri validacije LOD i LOQ u mjernim jedinicama  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , a točnost i preciznost u postocima. Detektirani PAH-ovi izraženi su u  $\mu\text{g kg}^{-1}$  ulja ekstrahiranog iz ploški prženog krumpira i  $\mu\text{g kg}^{-1}$  prženih ploški krumpira te su prikazani u Tablici 9-12. Za usporedbu količine apsorbiranog ulja za vrijeme prženja iskorišten je udjel ulja koje je ekstrahirano iz ploški prženog krumpira prilikom provedbe analize PAH-ova i prikazan je u postocima u Tablici 13.

#### 4.1. KALIBRACIJA I VALIDACIJA METODE

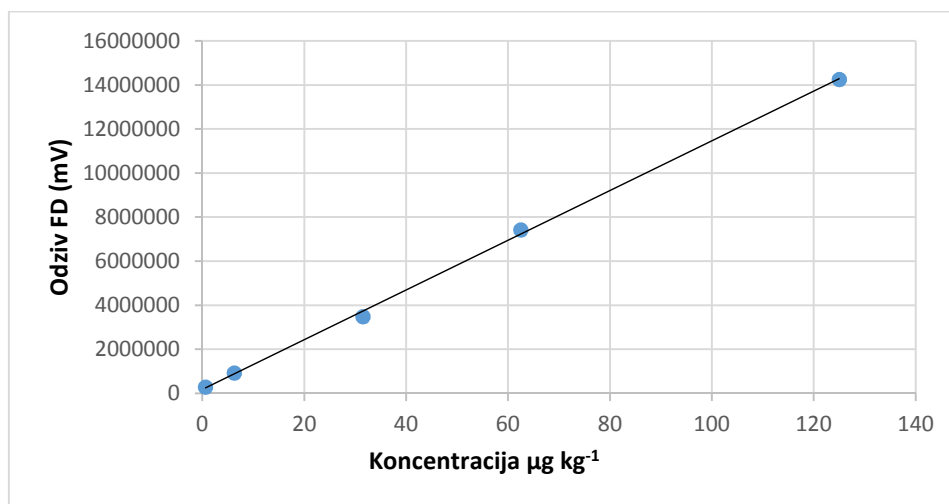
Kalibracija (umjeravanje) je najvažniji korak u analizi spojeva. Dobar postupak kalibriranja osigurava dobru točnost i preciznost analitičke metode, a cilj je da se dobiju kalibracijske krivulje dobre linearnosti odnosno da kalibracijske krivulje imaju visok koeficijent korelacije. Linearnost analitičkog postupka je svojstvo metode da unutar danog raspona daje rezultate analize koji su direktno proporcionalni koncentraciji pojedinog analita u uzorku. Za postizanje linearnosti preporučuje se pripremanje najmanje 5 različitih koncentracija iz standardnih otopina (ICH, 2005). Koncentracija analita u uzorku određuje se kao „x“ vrijednost iz jednadžbe pravca, a „y“ vrijednost je odziv uređaja za pojedinu komponentu uzorka.

$$y=ax+b$$

Za sve PAH-ove korišten je raspon od pet točaka kalibracije (Tablica 6) kako bi se formirale kalibracijske krivulje (Slike 1-15) za naftalen, acenaften, fluoren, fenantren, antracen, fluoranten, piren, benzo(a)antracen, krizen, benzo(b)fluoranten, benzo(k)fluoranten, benzo(a)piren, dibenzo(a,h)antracen, benzo(g,h,i)perilen, indeno(1,2,3-c,d)piren. Naftalen i acenaften kalibrirani su u rasponu 0,625 - 125  $\mu\text{g kg}^{-1}$  ulja, fluoren, fluoranten, benzo(b)fluoranten, dibenzo(a,h)antracen, benzo(g,h,i)perilen u rasponu 0,125 – 25  $\mu\text{g kg}^{-1}$  ulja, a fenantren, antracen, piren, benzo(a)antracen, krizen, benzo(k)fluoranten, benzo(a)piren, indeno(1,2,3-c,d)piren kalibrirani su u rasponu 0,0625 – 12,5  $\mu\text{g kg}^{-1}$  ulja.

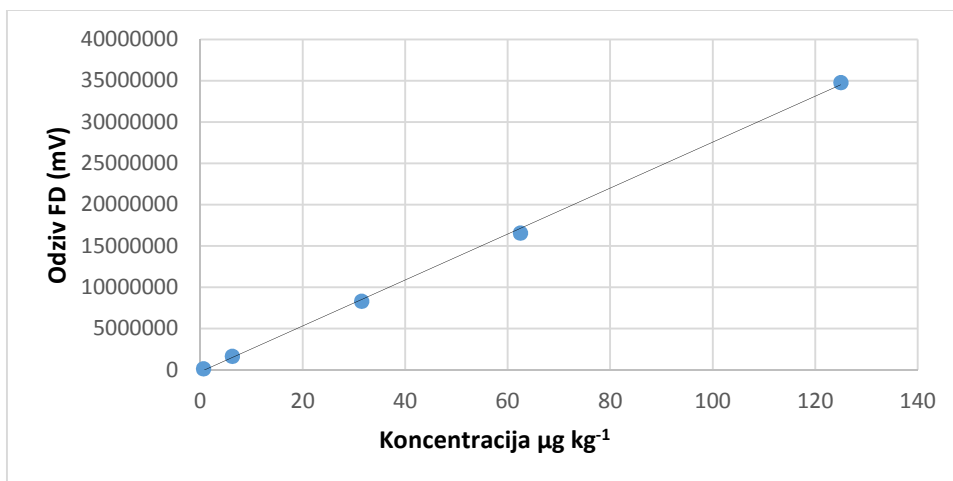
Tablica 6. Retencijska vremena pojedinih PAH standarda

PAH	Retencijsko vrijeme (min)	Raspon linearnosti metode ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )
Naftalen	17,716	0,625 - 125
Acenaften	26,333	0,625 - 125
Fluoren	27,495	0,125 - 25
Fenantren	30,568	0,0625 - 12,5
Antracen	33,014	0,0625 - 12,5
Fluoranten	34,839	0,125 - 25
Piren	36,379	0,0625 - 12,5
Benzo(a)antracen	45,244	0,0625 - 12,5
Krizen	46,639	0,0625 - 12,5
Benzo(b)fluoranten	52,087	0,125 - 25
Benzo(k)fluoranten	55,157	0,0625 - 12,5
Benzo(a)piren	57,772	0,0625 - 12,5
Dibenzo(a,h)antracen	62,752	0,125 - 25
Benzo(g,h,i)perilen	65,476	0,125 - 25
Indeno(1,2,3-c,d)piren	68,249	0,0625 - 12,5

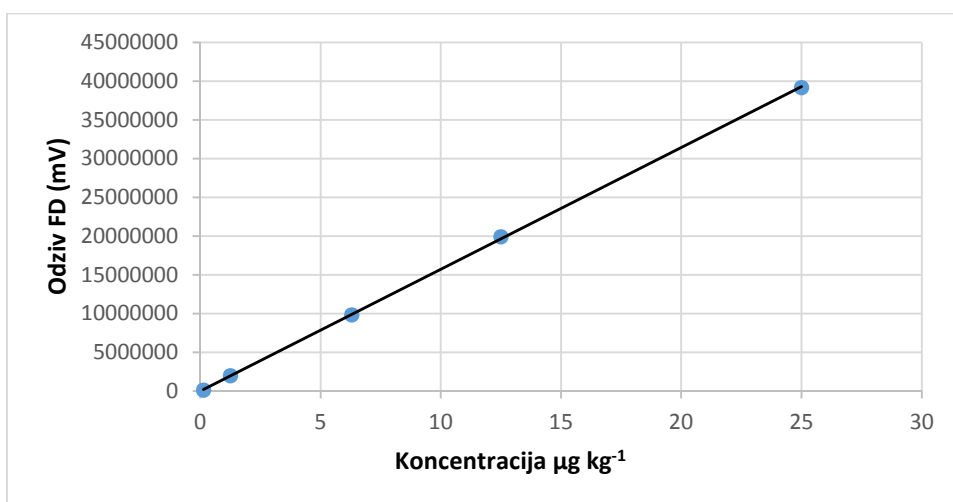


Slika 1. Baždarni pravac naftalena

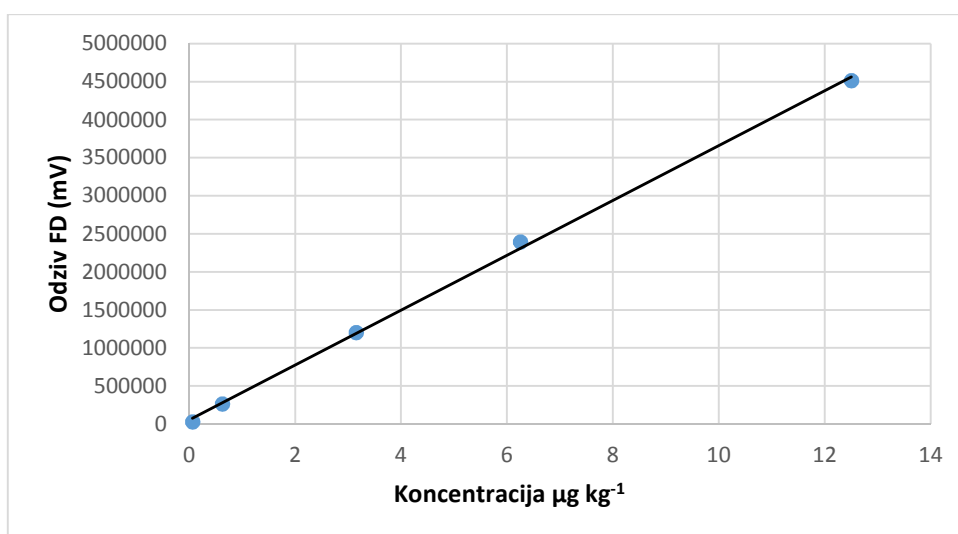




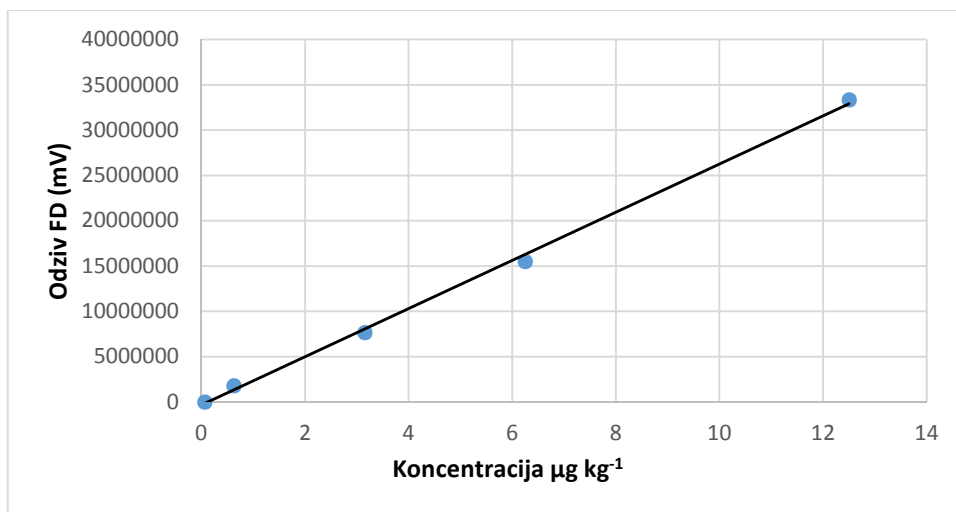
Slika 2. Baždarni pravac acenaftena



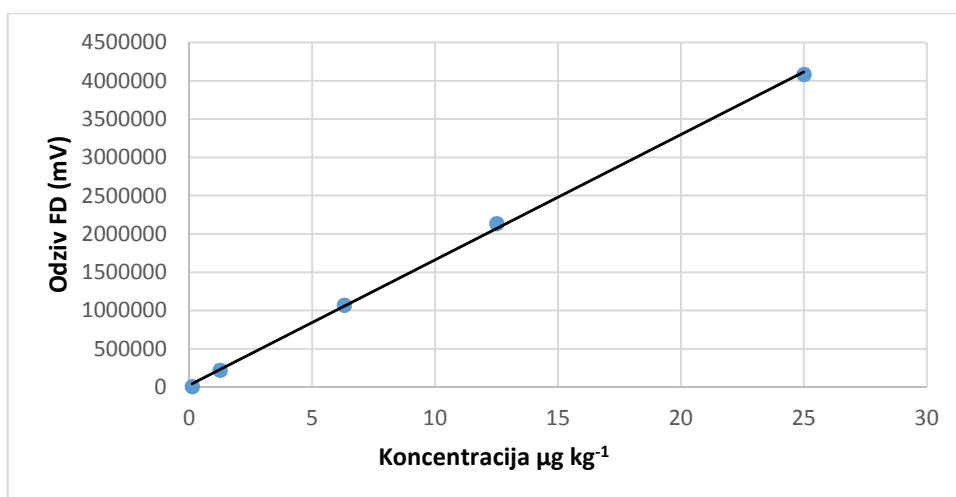
Slika 3. Baždarni pravac fluorena



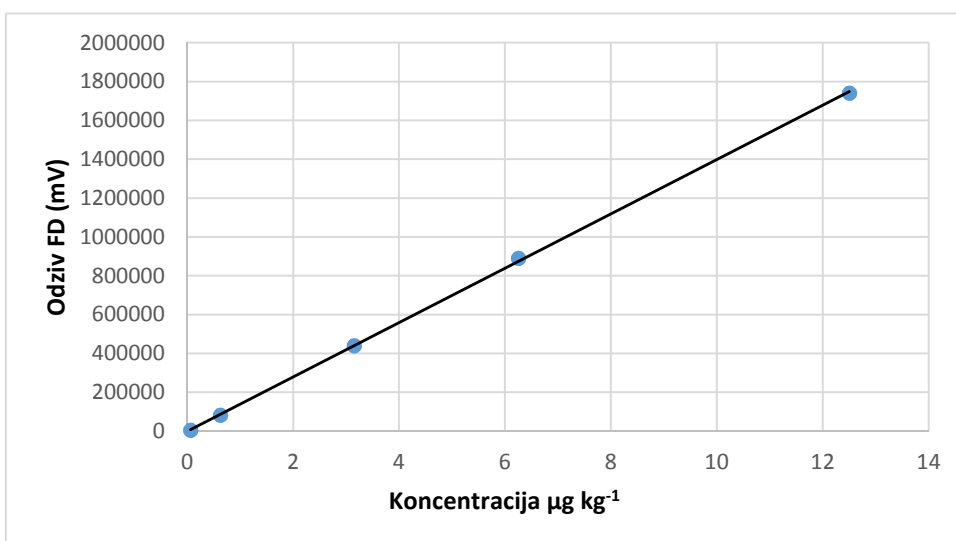
Slika 4. Baždarni pravac fenantrena



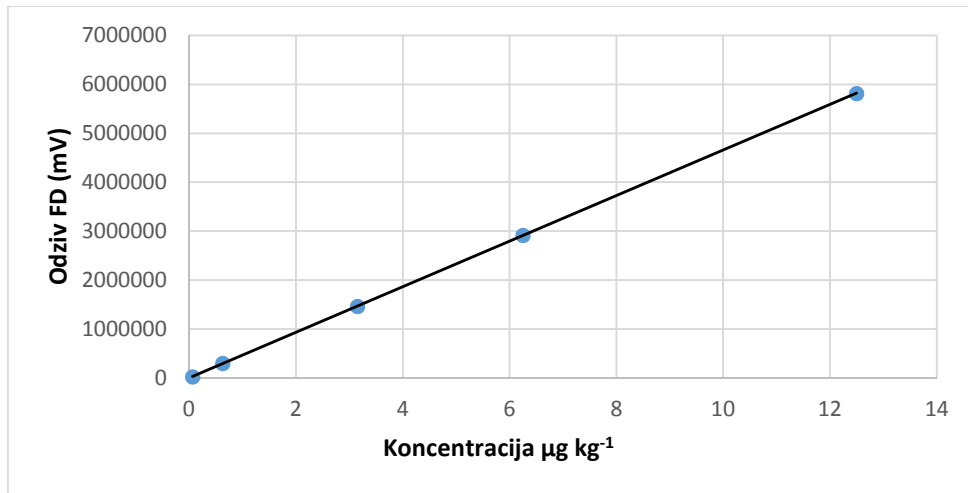
Slika 5. Baždarni pravac antracena



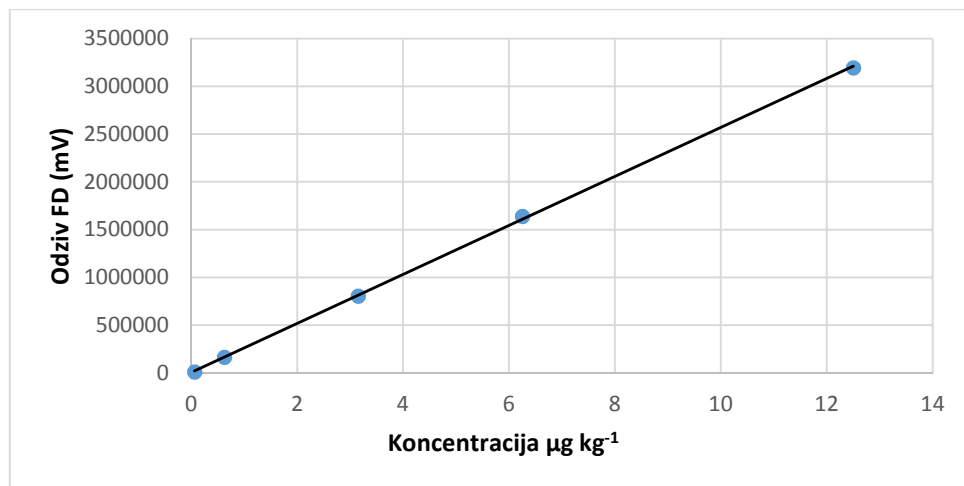
Slika 6. Baždarni pravac fluorantena



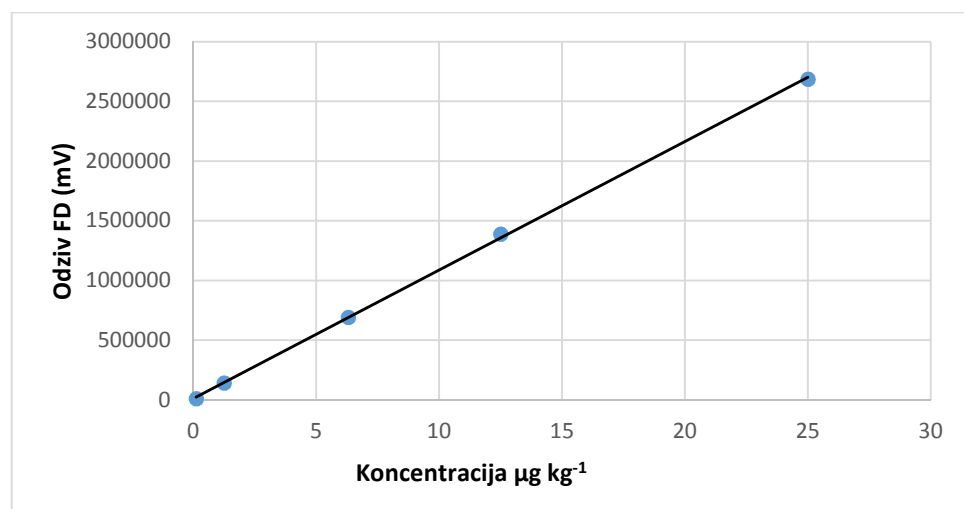
Slika 7. Baždarni pravac pirena



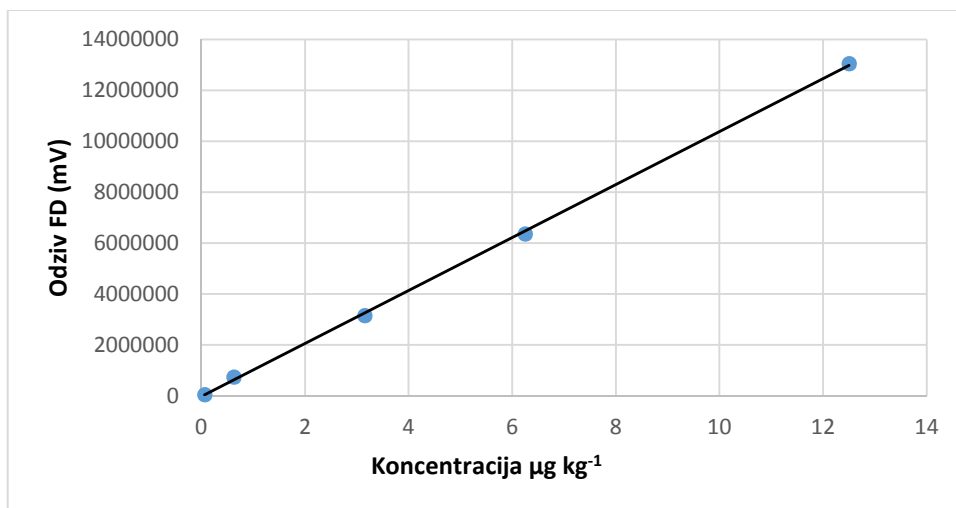
Slika 8. Baždarni pravac benzo(a)antracena



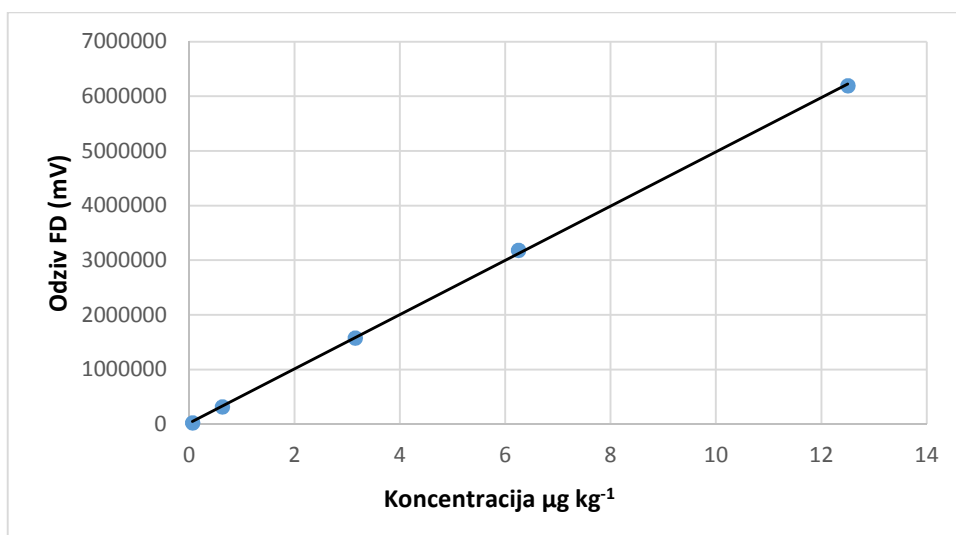
Slika 9. Baždarni pravac krizena



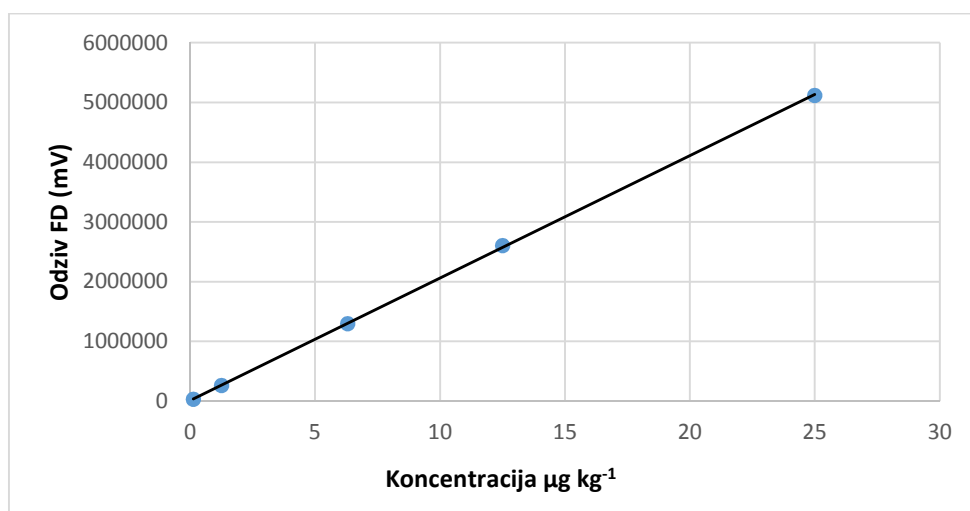
Slika 10. Baždarni pravac benzo(b)fluorantena



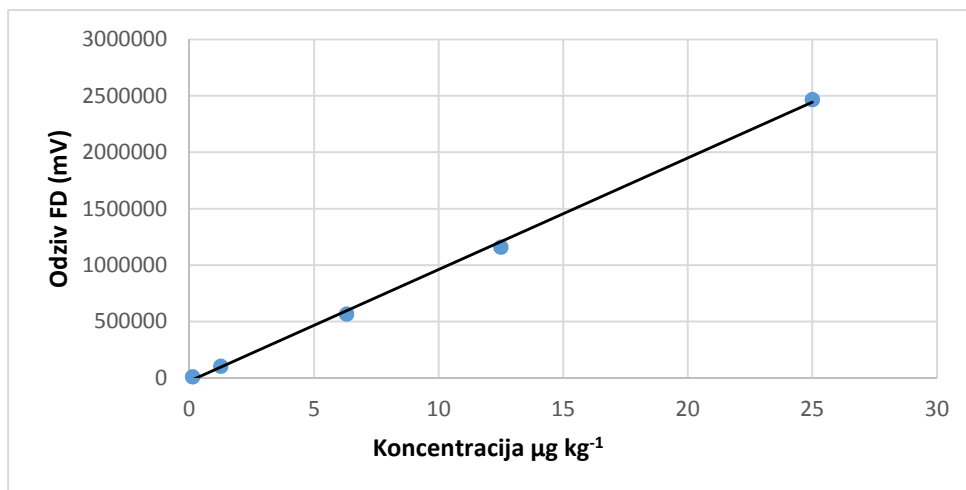
Slika 11. Baždarni pravac benzo(k)fluorantena



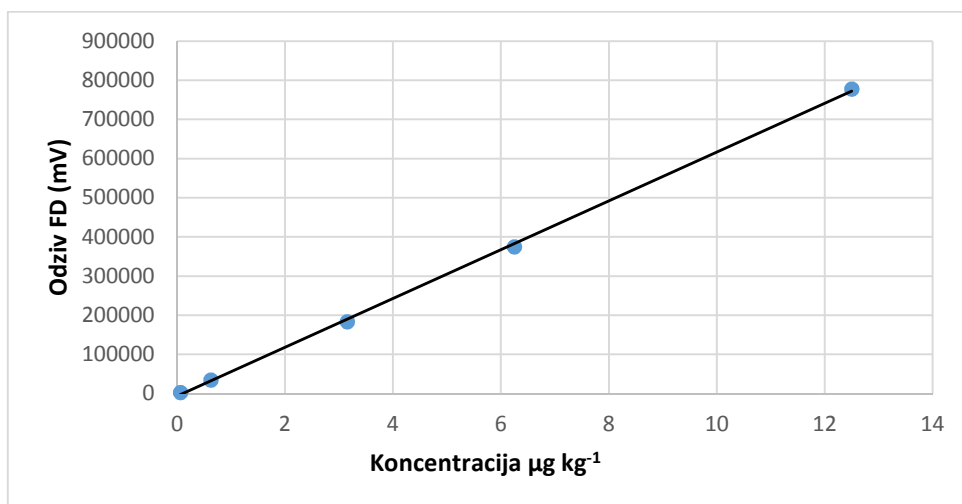
Slika 12. Baždarni pravac benzo(a)pirena



Slika 13. Baždarni pravac dibenzo(a,h)antracena



Slika 14. Baždarni pravac benzo(g,h,i)perilena



Slika 15. Baždarni pravac indeno(1,2,3-c,d)pirena

Jednadžbe kalibracijskih krivulja i koeficijenti korelacije za detektiranih 15 PAH – ova nalaze se u Tablici 7. Kalibracijske krivulje svih standarda imale su koeficijente korelacije veće od 0,999 osim za antracen i benzo(g,h,i)perilen kod kojih je iznosio 0,9984 i 0,9989.

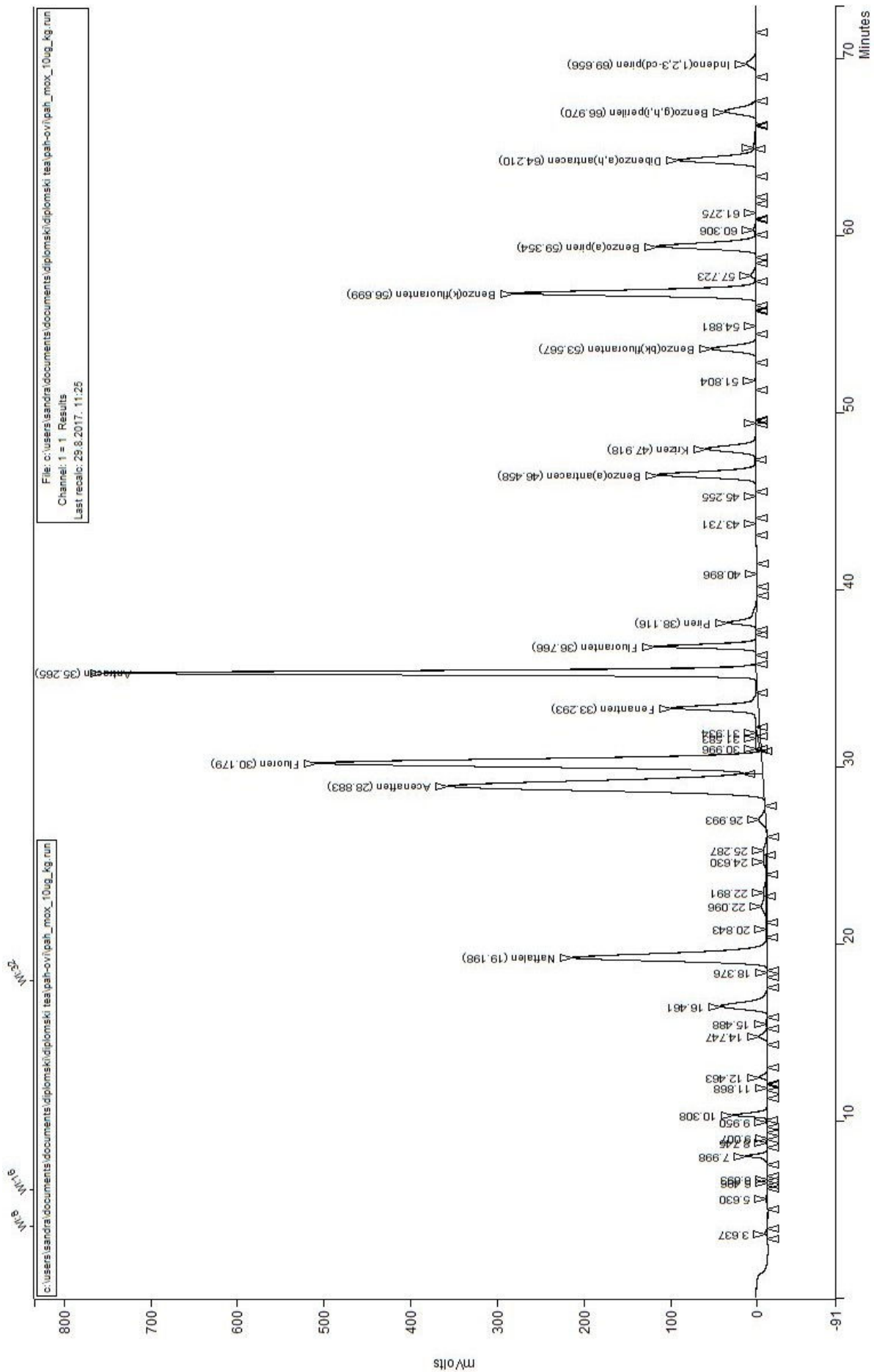
Koeficijenti korelacije za metodu koju su koristili Hao i suradnici (2016), za svih 16 ispitivanih PAH-ova bili su 0,999. Za metodu koju su koristili Yao i suradnici (2015), najniži koeficijent korelacije je 0,9990 za benzo(a)piren, a najviši 0,9999 za naftalen, fluoren, benzo(k)fluoranten. Također za 16 ispitivanih PAH-ova.

Linearnost metoda koje su koristili drugi znanstvenici za istraživanja PAH-ova iz jestivih ulja i metoda razvijena u ovom radu jednako je dobra gotovo za sve PAH-ove, jedino je za antracen i benzo(g,h,i)perilen nešto lošija.

Tablica 7. Kalibracijske krivulje i jednadžbe korelacije za 15 detektiranih PAH-ova fluorescentnim detektorom

PAH	Kalibracijske krivulje	Korelacija R <sup>2</sup>
Naftalen	$y=112891x+175803$	0,9992
Acenaften	$y=278128x-245529$	0,9994
Fluoren	$y=1572694x-6858$	0,9999
Fenantren	$y=360879x+51877$	0,9991
Antracen	$y=2660159x-339042$	0,9984
Fluoranten	$y=163858x+20895$	0,9994
Piren	$y=139902x-697,45$	0,9998
Benzo(a)antracen	$y=465564x+659$	1,0000
Krizen	$y=256292x+6374,3$	0,9998
Benzo(b)fluoranten	$y=107597x+11685$	0,9997
Benzo(k)fluoranten	$y=1040625x-22266$	0,9996
Benzo(a)piren	$y=496730x+16764$	0,9998
Dibenzo(a,h)antracen	$y=204838x+11148$	0,9999
Benzo(g,h,i)perilen	$y=98930x-30276$	0,9989
Indeno(1,2,3-c,d)piren	$y=62353x-6873$	0,9996

Na slici 16 prikazan je tipičan kromatogram mješavine standarda PAH-ova pri koncentracijama od 0,16 – 1,6  $\mu\text{g kg}^{-1}$  ovisno o pojedinačnom PAH-u.



Slika 16. Kromatogram standarda PAH-ova koncentracije 0,16 – 1,6  $\mu\text{g kg}^{-1}$

## 4.2. VALIDACIJA

Primijenjena metoda validirana je na limit detekcije (LOD), limit kvantifikacije (LOQ), točnost i preciznost.

Limit (granica) detekcije je najniža koncentracija analita koja se može detektirati u uzorku, ali ne i kvantificirati. Limit detekcije često se miješa s osjetljivošću metode koja predstavlja sposobnost metode da detektira male razlike u masi ili koncentraciji ispitivanog analita (Kalra, 2011). S druge strane limit (granica) kvantifikacije je najmanja količina analita u uzorku koja se uz odgovarajuću preciznost i točnost može kvantificirati. Jedan je od parametra kvantitativnih testova za određivanje niske razine spojeva u uzorcima. Posebno se primjenjuje za određivanje razgradnih produkata i/ili onečišćenja (Kalra, 2011; ICH, 2005).

Dobiveni rezultati validacije metode prikazani su u Tablici 8.

Tablica 8. Parametri validacije za 15 PAH spojeva (LOD – limit detekcije; LOQ – limit kvantifikacije, RSD – relativna standardna devijacija)

PAH	LOD ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )	LOQ ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )	Točnost (%)	Preciznost RSD (%)
Naftalen	0,025	0,076	94,26	4,45
Acenaften	0,004	0,013	93,82	1,83
Fluoren	0,001	0,003	99,76	6,93
Fenantren	0,010	0,030	109,01	2,68
Antracen	0,001	0,004	98,72	1,93
Fluoranten	0,028	0,085	106,54	2,29
Piren	0,025	0,074	102,12	3,42
Benzo(a)antracen	0,010	0,029	102,36	4,71
Krizen	0,010	0,029	100,03	1,72
Benzo(b)fluoranten	0,028	0,086	97,19	4,86
Benzo(k)fluoranten	0,015	0,047	97,24	4,06
Benzo(a)piren	0,016	0,049	95,94	2,48
Dibenzo(a,h)antracen	0,032	0,097	99,94	3,13
Benzo(g,h,i)perilen	0,058	0,177	100,56	5,30
Indeno(1,2,3-c,d)piren	0,095	0,288	96,57	4,67



Limit detekcije kreće se u rasponu od 0,001  $\mu\text{g kg}^{-1}$  za fluoren i antracen do 0,095  $\mu\text{g kg}^{-1}$  za indeno(1,2,3-c,d)piren, a vrijednost limita kvantifikacije u rasponu od 0,003  $\mu\text{g kg}^{-1}$  za fluoren do 0,288  $\mu\text{g kg}^{-1}$  za indeno(1,2,3-c,d)piren. Kriterije koje navodi Uredba Komisije (EU) br. 836/2011 (European Commission, 2011) za metode kojima se mogu analizirati PAH4 (benzo(a)piren, benzo(a)antracen, benzo(b)fluoranten i krizen) za vrijednost LOD iznosi manje ili jednako 0,30  $\mu\text{g kg}^{-1}$  za svaki od 4 navedena PAH-a, a za LOQ manje ili jednako 0,90  $\mu\text{g kg}^{-1}$ . Metoda koja se koristila u ovom radu zadovoljava propisane uvjete.

Točnost analitičkog postupka predstavlja blizinu referentne i pronađene vrijednosti. Točnost se može procijeniti analiziranjem uzorka poznate koncentracije (npr. certificirani referentni materijal) i usporedbom izmjerenih vrijednosti s pravom vrijednosti koncentracije certificiranog uzorka. Može se procijeniti na minimalno 9 određivanja i minimalno 3 različite koncentracije. Izražava se kao postotak oporavka. Točnost se ponekad naziva i istinitost (ICH, 2005; Kalra, 2011). Rezultati točnosti prikazani su u Tablici 8, kreću se u rasponu od 93,8 % za acenaften do 109,0 % za fenantren. Prema Uredbi Komisije (EU) br. 836/2011 određena točnost zadovoljava kriterije uredbe koja definira raspon točnosti od 50 – 120 % za metode kojima se analiziraju PAH4 (European Commission, 2011).

Preciznost analitičkog postupka predstavlja stupanj raspršenja koji nastaje između niza mjerenja istog homogenog uzorka (ili otopine), višestrukim uzorkovanjem pod propisanim uvjetima. Izražava se kao varijanca, standardna devijacija ili koeficijent varijacije niza mjerenja (ICH, 2005). U Tablici 8 prikazana je i preciznost kao relativna standardna devijacija (RSD%). Najviša vrijednost je za fluoren i iznosi 6,93 %. Prema rezultatima vidljivo je da je preciznost metode dobra.

Parametri validacije predložene metode zadovoljeni su prema navedenim kriterijima uredbe. Razvijena metoda može detektirati i kvantificirati 15 PAH – ova među kojima se nalazi skupina PAH4 u koju se ubraja benzo(a)antracen, krizen, benzo(b)fluoranten, benzo(a)piren i PAH8 koju čine benzo(a)antracen, krizen, benzo(b)fluoranten, benzo(k)fluoranten, benzo(a)piren, dibenzo(a,h)antracen, benzo(g,h,i)perilen, indeno(1,2,3-c,d)piren koji se nalaze na listi EFSA-e (2008) kao pokazatelji onečišćenja hrane PAH-ovima.

#### 4.3. UTJECAJ MINIMALNOG PROCESIRANJA NA UDJEL PAH-OVA U PRŽENOM KRUMPIRU

Izvor PAH-ova u prženom krumpiru može biti sama sirovina odnosno krumpir, ulje za prženje, a mogu nastati i u procesu prženja.

Krumpir se, kao i sjemenke uljarica, može kontaminirati PAH-ovima iz zagađenog okoliša već kod primarne odnosno poljoprivredne proizvodnje. Asraf i suradnici (2012) pronašli su PAH-ove u svim ispitivanim uzorcima svježeg povrća porijeklom iz Saudijske Arabije pri čemu je kora bila kontaminirana više od mesa. Od ukupnih ispitivanih PAH-ova najviša koncentracija određena je za benzo(e)piren u mesu sirovog krumpira i iznosila je  $2,90 \mu\text{g kg}^{-1}$  pri čemu se koncentracija PAH-ova razlikovala po stupnju zagađenosti okoliša u kojem se povrće uzgaja. Od svog analiziranog povrća krumpir je sadržavao najvišu koncentraciju ukupnih PAH-ova, pa budući da se mnogo konzumira može predstavljati značajan izvor izloženosti. Po koncentraciji ukupnih PAH-ova iza krumpira slijedi mrkva. Omjer ukupnih PAH-ova u kori i mesu iznosio je 1,4 za krumpir i 1,5 za mrkvu pa autori zaključuju da se unos PAH-ova može smanjiti uklanjanjem kore.

U sličnom istraživanju Zhong i Wang (2002) ispitivali su udjele antracena, fluorantena, benzo(a)antracena i benzo(a)pirena u svježem povrću iz sjeverne Kine. Lisnato povrće je imalo višu koncentraciju PAH-ova od plodovitog i korjenastog povrća kod kojeg je u kori nađena viša ukupna koncentracija PAH-ova u odnosu na meso. U kori krumpira najvišu koncentraciju  $10,2 \mu\text{g kg}^{-1}$  imao je antracen, a u mesu benzo(a)piren  $4,11 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Omjer koncentracije ukupnih PAH-ova u kori i mesu krumpira iznosi 2,7 što dokazuje da kora smanjuje prodiranje PAH-ova do mesa.

Biljna ulja mogu se kontaminirati PAH-ovima iz okoliša prilikom uzgoja i primarne prerade uljarica, a kontaminaciji može doprinijeti i proces proizvodnje te skladištenje. Prema istraživanjima brojnih autora, kontaminirana voda, zemlja i zrak, spaljivanje zemlje, sušenje sjemenja, ekstrakcija organskim otapalima na bazi petroleja, redifuzija PAH-ova iz recikliranog polietilenskog filma (plastične boce) i ostaci mineralnih ulja izvori su kontaminacije PAH-ova u biljnim uljima, a stupanj kontaminacije varira (Teixeira i sur., 2007, Cheng i sur., 2015, Moret i Conte, 2000).

Česta praksa kod ratarske proizvodnje u ovim krajevima je da se polje poslije žetve spaljuje. Istraživanje na sjemenkama uljane repice pokazalo je da čvrste čestice koje ostaju na zemlji poslije spaljivanja, tijekom sljedeće žetve, transporta i skladištenja kontaminiraju

sjemenke repice. Prosječan udio kontaminacije za „lake“ PAH-ove iznosi 36 %, a za „teške“ 64 % (Moret i Conte, 2000).

Molle i suradnici (2017) navode da je postupak sušenja sjemenki uljarica ili žitarica glavni izvor kontaminacije PAH-ovima prije ekstrakcije biljnih ulja. Do kontaminacije dolazi izravnim sušenjem sjemenki uljarica pri kojem dolaze u kontakt s dimom koji je produkt sagorijevanja (Camargo i sur., 2012). Bez obzira na stupanj kontaminacije PAH-ovima u uljaricama rafinirana biljna ulja u usporedbi sa sirovim uljima uglavnom sadrže niske razine kontaminacije budući se rafinacijom uklanjaju PAH-ovi. Za vrijeme bijeljenja aktivnom zemljom, aktivnim ugljenom i drugim sredstvima uklanjaju se pigmenti, ali i „teški“ PAH-ovi, a deodorizacija koja se provodi vodenom parom radi uklanjanja hlapljivih komponenata reducira sadržaj „lakih“ PAH-ova.

Prema istraživanju Teixeira i sur., (2007) koncentracija ukupnih PAH-ova u sirovom ulju suncokreta prije rafinacije je  $17,36 \mu\text{g kg}^{-1}$ , a poslije  $4,90 \mu\text{g kg}^{-1}$  u sirovom sojinom ulju  $65,33 \mu\text{g kg}^{-1}$ , poslije rafinacije  $8,67 \mu\text{g kg}^{-1}$ , sirovom maslinovom ulju  $38,95 \mu\text{g kg}^{-1}$ , poslije rafinacije  $7,00 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Koncentracija „lakih“ PAH-ova rafinacijom suncokretovog, sojinog i djevičanskog maslinovog ulja smanjila se 71 %, 88 % te 85 %, a „teških“ 79 %, 49 % i 33 %, dok se udjel ukupnih PAH-ova smanjio za 72 %, 87 % i 82 %. Pokazalo se da je neutralizacija, a posebno deodorizacija najučinkovitija za uklanjanje PAH-ova iz sirovog ulja. Maksimalne koncentracije benzo(a)pirena, pri čemu je najviša ( $0,28 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) zabilježena za ekstra djevičansko ulje masline, bile su mnogo manje od limita koje nalaže EU ( $2 \mu\text{g kg}^{-1}$ ). Maksimalna koncentracija sume u ovom slučaju sedam „teških“ PAH-ova jer benzo(e)piren nije determiniran, u svim analiziranim uljima bila je mnogo ispod preporučene granice od  $5 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Najviša suma sedam „teških“ PAH-ova zabilježena je kod djevičanskog maslinovog ulja ( $2,64 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) od čega je najviše bilo benzo(a)antracena ( $0,92 \mu\text{g kg}^{-1}$ ). Navedene granice za „teške“ PAH-ove preporučila je Njemačka udruga za znanost o mastima.

Istraživanjem Cajpek i suradnika (1998) koncentracija „lakih“ PAH-ova lagano je porasla bijeljenjem ulja soje i djevičanskog maslinovog ulja zato što se za bijeljenje koristila aktivirana glina koja bi mogla biti kontaminirana PAH-ovima što može objasniti malo povišenje koncentracije PAH-ova, za suncokretovo ulje je korišten aktivni ugljen koji je dokazao da smanjuje sadržaj PAH-ova.

Purcaro i sur., (2006) smatraju da kontaminacija krumpira PAH-ovima dok su još na polju tj. prije termičke obrade ne utječe na udjel u konačnoj koncentraciji PAH-ova u prženom krumpiru jer se krumpir guli i pere. Dokazali su da kontaminacija čipsa od krumpira „lakim“ PAH-ova može nastati kao posljedica kontaminiranog okoliša. Uzrok tome su lipofilna svojstva PAH-ova da se lako apsorbiraju na prženi čips koji ima povećani udjel ulja. Posebno je istaknuo fenantren, fluoren i piren.

Analiza PAH-ova rafiniranog ulja suncokreta pokazala je da niti jedan PAH od njih 13 koji su mogli biti detektirani metodom nije identificiran (Neđeral i sur., 2014). To dokazuje da je jedan od mogućih nastanak PAH-ova uzrokovala temperatura prženja krumpira.

Analitička metoda određivanja PAH-ova u prženom krumpiru primijenjena u ovom radu uključila je ultrazvukom potpomognutu ekstrakciju heksanom pomoću koje je iz ploški krumpira izdvojena nepolarna frakcija odnosno ulje s otopljenih lipofilnim spojevima među kojima su i ciljne komponente odnosno PAH-ovi. Izolacija PAH-ova iz ekstrahiranog ulja potom je provedena na preparativnoj DACC koloni koja nije bila direktno povezana s analitičkim HPLC-om. Tijekom istraživanja korišten je standard koji sadrži smjesu 16 PAH-ova, ali je određeno 15 PAH-ova budući acenaftilen nije moguće detektirati HPLC analizom uporabom fluorescentnog detektora. U tablicama 9 i 10 prikazani su udjeli PAH-ova lake i teške frakcije koji su određeni nakon prženja u uljima ekstrahiranim iz na različite načine tretiranih i skladištenih ploški krumpira kroz 8 dana skladištenja, a u tablicama 11 i 12 vrijednosti PAH-ova preračunate na masu prženih ploški krumpira.

Tablica 9. Koncentracije PAH – ova „lake“ frakcije ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) u uljima ekstrahiranim iz prženih ploški krumpira <sup>a, b</sup>

Tretman	Način skladištenja	Dan skladištenja	<b>Na</b>	<b>Ac</b>	<b>F</b>	<b>Pa</b>	<b>A</b>	$\Sigma$ <b>lakh</b>	
NaCl	Kontrolni uzorak	0	2,147	1,255	0,312	0,112	0,332	4,158	
	MAP	2	2,514	1,489	0,167	<LOD	0,188	4,359	
		4	2,223	1,769	0,153	<LOD	0,184	4,329	
		8	1,427	1,580	0,100	<LOD	0,180	3,287	
	VAC	2	6,315	3,814	0,377	<LOD	0,809	11,315	
		4	0,617	0,951	0,059	<LOD	0,227	1,854	
		8	1,276	0,925	0,041	5,444	0,563	8,250	
	Na-askorbat	Kontrolni uzorak	0	0,807	1,037	0,033	<LOD	0,325	2,202
		MAP	2	1,633	1,056	0,039	<LOD	0,157	2,886
4			1,765	1,683	0,208	<LOD	0,308	3,965	
8			1,702	1,667	0,049	<LOD	0,856	4,274	
VAC		2	1,379	1,919	0,039	0,389	0,273	3,999	
		4	0,457	1,130	<LOQ	0,020	0,199	1,807	
		8	5,084	1,061	0,016	<LOD	0,184	6,345	

<sup>a</sup> < LOD – ispod limita detekcije, < LOQ – ispod limita kvantifikacije

<sup>b</sup> Laka frakcija 2 - 3 prstena: **Na** – Naftalen, **Ac** – Acenaften, **F** – Fluoren, **Pa** – Fenantren, **A** –Antracen.

Tablica 10. Koncentracije PAH – ova „teške“ frakcije ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) u uljima ekstrahiranim iz prženih ploški krumpira <sup>a, b, c</sup>

Tretman	Način skladištenja	Dan skladištenja	Fl	P	BaA	Ch	BbF	BkF	BaP	DBahA	BghiP	IP	$\Sigma$ PAH4	$\Sigma$ teških	
NaCl	Kontrolni uzorak	0	<LOD	<LOD	0,204	0,021	0,056	0,060	<LOQ	0,122	0,306	<LOQ	0,281	0,769	
	MAP	2	0,482	<LOD	0,181	0,077	0,075	<LOQ	<LOD	<LOD	0,404	<LOQ	0,333	1,218	
		4	1,012	<LOD	0,152	0,093	0,041	<LOQ	<LOD	0,866	0,439	<LOQ	0,287	2,604	
		8	0,294	<LOD	0,136	0,041	<LOD	0,056	<LOQ	<LOD	0,306	<LOQ	0,176	0,833	
	VAC	2	3,371	<LOD	0,199	0,170	<LOD	0,089	0,343	0,150	0,736	0,359	0,712	5,417	
		4	1,962	<LOD	0,048	0,011	<LOD	<LOQ	0,164	0,079	0,580	<LOQ	0,224	2,845	
		8	0,156	0,368	0,046	0,005	0,103	<LOQ	<LOD	<LOD	0,383	<LOQ	0,154	1,061	
	Na-askorbat	Kontrolni uzorak	0	0,222	<LOD	0,125	0,081	0,017	0,054	<LOD	0,183	1,256	<LOQ	0,223	1,938
		MAP	2	0,528	<LOD	0,159	0,070	<LOD	0,057	<LOQ	<LOD	0,306	<LOQ	0,229	1,121
4			0,477	0,005	0,183	0,121	0,158	0,081	<LOQ	<LOQ	0,306	<LOQ	0,462	1,332	
8			3,316	<LOD	0,288	0,055	0,214	<LOQ	<LOD	<LOD	0,306	<LOQ	0,556	4,178	
VAC		2	2,436	<LOD	0,363	0,095	0,009	0,080	0,619	0,735	1,477	0,927	1,086	6,741	
		4	1,336	<LOD	0,134	0,043	0,066	0,081	0,056	<LOD	0,335	<LOQ	0,299	2,052	
		8	1,827	<LOD	0,197	0,074	0,075	0,197	0,028	<LOD	0,481	<LOQ	0,375	2,880	

<sup>a</sup> < LOD – ispod limita detekcije, < LOQ – ispod limita kvantifikacije

<sup>b</sup> Teška frakcija 4 - 6 prstena: Fl - Fluoranten, P - Piren, BaA - Benzo(a)antracen, Ch - Krizen, BbF - Benzo(b)fluoranten, BkF - Benzo(k)fluoranten, BaP - Benzo(a)piren, DBahA - Dibenzo(a,h)antracen, BghiP - Benzo(g,h,i)perilen, IP - Indeno(1,2,3-c,d)piren.

<sup>c</sup> Sumu PAH4 čine: Benzo(a)antracen, Krizen, Benzo(b)fluoranten, Benzo(a)piren.

Tablica 11. Koncentracije PAH – ova „lake“ frakcije ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) preračunate na pržene ploške krumpira <sup>a, b</sup>

Tretman	Način skladištenja	Dan skladištenja	<b>Na</b>	<b>Ac</b>	<b>F</b>	<b>Pa</b>	<b>A</b>	$\Sigma$ <b>lakh</b>	
NaCl	Kontrolni uzorak	0	0,143	0,083	0,021	0,007	0,022	0,276	
	MAP	2	0,229	0,136	0,015	<LOD	0,017	0,397	
		4	0,120	0,095	0,008	<LOD	0,010	0,233	
		8	0,096	0,106	0,007	<LOD	0,012	0,221	
	VAC	2	0,441	0,267	0,026	<LOD	0,057	0,791	
		4	0,049	0,076	0,005	<LOD	0,018	0,148	
		8	0,089	0,065	0,003	0,380	0,039	0,576	
	Na-askorbat	Kontrolni uzorak	0	0,068	0,087	0,003	<LOD	0,027	0,184
		MAP	2	0,160	0,104	0,004	<LOD	0,015	0,283
4			0,114	0,109	0,013	<LOD	0,020	0,256	
8			0,119	0,117	0,003	<LOD	0,060	0,300	
VAC		2	0,155	0,215	0,004	0,044	0,031	0,449	
		4	0,033	0,080	<LOQ	0,001	0,014	0,129	
		8	0,272	0,057	0,001	<LOD	0,010	0,339	

<sup>a</sup> < LOD – ispod limita detekcije, < LOQ – ispod limita kvantifikacije

<sup>b</sup> Laka frakcija 2 - 3 prstena: **Na** – Naftalen, **Ac** – Acenaften, **F** – Fluoren, **Pa** – Fenantren, **A** – Antracen.

Tablica 12. Koncentracije PAH – ova „teške“ frakcije ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) preračunate na pržene ploške krumpira <sup>a, b, c</sup>

Tretman	Način skladištenja	Dan skladištenja	Fl	P	BaA	Ch	BbF	BkF	BaP	DBahA	BghiP	IP	$\Sigma$ PAH4	$\Sigma$ teških	
NaCl	Kontrolni uzorak	0	<LOD	<LOD	0,014	0,001	0,004	0,004	<LOQ	0,008	0,020	<LOQ	0,019	0,051	
	MAP	2	0,044	<LOD	0,016	0,007	0,007	<LOQ	<LOD	<LOD	0,037	<LOQ	0,030	0,111	
		4	0,055	<LOD	0,008	0,005	0,002	<LOQ	<LOD	0,047	0,024	<LOQ	0,015	0,140	
		8	0,020	<LOD	0,009	0,003	<LOD	0,004	<LOQ	<LOD	0,021	<LOQ	0,012	0,056	
	VAC	2	0,236	<LOD	0,014	0,012	<LOD	0,006	0,024	0,010	0,051	0,025	0,050	0,379	
		4	0,157	<LOD	0,004	0,001	<LOD	<LOQ	0,013	0,006	0,046	<LOQ	0,018	0,228	
		8	0,011	0,026	0,003	0,000	0,007	<LOQ	<LOD	<LOD	0,027	<LOQ	0,011	0,074	
	Na-askorbat	Kontrolni uzorak	0	0,019	<LOD	0,010	0,007	0,001	0,004	<LOD	0,015	0,105	<LOQ	0,019	0,162
		MAP	2	0,052	<LOD	0,016	0,007	<LOD	0,006	<LOQ	<LOD	0,030	<LOQ	0,023	0,110
4			0,031	0,000	0,012	0,008	0,010	0,005	<LOQ	<LOQ	0,020	<LOQ	0,030	0,086	
8			0,232	<LOD	0,020	0,004	0,015	<LOQ	<LOD	<LOD	0,021	<LOQ	0,039	0,293	
VAC		2	0,273	<LOD	0,041	0,011	0,001	0,009	0,069	0,083	0,166	0,104	0,122	0,756	
		4	0,095	<LOD	0,010	0,003	0,005	0,006	0,004	<LOD	0,024	<LOQ	0,021	0,146	
		8	0,098	<LOD	0,011	0,004	0,004	0,011	0,002	<LOD	0,026	<LOQ	0,020	0,154	

<sup>a</sup> < LOD – ispod limita detekcije, < LOQ – ispod limita kvantifikacije

<sup>b</sup> Teška frakcija 4 – 6 prstena: Fl – Fluoranten, P – Piren, BaA - Benzo(a)antracen, Ch - Krizen, BbF - Benzo(b)fluoranten, BkF - Benzo(k)fluoranten, BaP - Benzo(a)piren, DBahA - Dibenzo(a,h)antracen, BghiP - Benzo(g,h,i)perilen, IP - Indeno(1,2,3-c,d)piren.

<sup>c</sup> Sumu PAH4 čine: Benzo(a)antracen, Krizen, Benzo(b)fluoranten, Benzo(a)piren.



Koncentracija PAH-ova određena je europskim zakonodavstvom (Zakon 2013), mnogi su pronađeni u niskim koncentracijama ili ispod limita kvantifikacije i limita detekcije ispitivane metode. Vrlo niske koncentracije se mogu objasniti time da je ulje više puta mijenjano tijekom prženja i da je najpogodnija temperatura za nastanak PAH-ova daleko viša od temperature koja je korištena u ovom radu. Prisutnost nekih „lakih“ PAH-ova u pojedinim uzorcima krumpira analiziranih u ovom radu može biti posljedica kontaminacije iz okoliša nakon prženja.

Najviša suma koncentracija „lakih“ PAH-ova (Tablica 9) nađena u ulju ekstrahiranom iz prženih ploški krumpira iznosi  $11,315 \mu\text{g kg}^{-1}$  za tretman NaCl/VAC/2. dan, a najniža  $1,807 \mu\text{g kg}^{-1}$  za Na-ask./VAC/4. dan. Tablica 10 prikazuje najveću sumu koncentracija „teških“ PAH-ova za ulje koje je ekstrahirano iz prženih ploški krumpira  $6,741 \mu\text{g kg}^{-1}$  za tretman Na-ask./VAC/2. dan, a najmanju  $0,769 \mu\text{g kg}^{-1}$  za kontrolni uzorak otopine NaCl-a tj.  $0,833 \mu\text{g kg}^{-1}$  za tretman NaCl/MAP/8. dan.

Najveća suma PAH4 određena je za tretman Na-ask./VAC/2. dan, iznosi  $1,086 \mu\text{g kg}^{-1}$  dok je prema pravilniku EU (Uredba 835/2011) najviša dozvoljena koncentracija  $10 \mu\text{g kg}^{-1}$  ulja. Ako se uzme u obzir koncentracija PAH-ova preračunata na pržene ploške krumpira (Tablica 12), najveća suma PAH4 određena je u uzorku koji je tretiran Na-ask./VAC/2. dan i iznosi  $0,122 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Najviša koncentracija benzo(a)pirena u ulju ekstrahiranom iz prženih ploški krumpira je  $0,619 \mu\text{g kg}^{-1}$  za tretman Na-ask./VAC/2. dan, a maksimalna dozvoljena granica je  $2 \mu\text{g kg}^{-1}$  (Uredba 835/2011).

U Tablici 11 prikazane su sume koncentracija „lakih“ PAH-ova preračunate na prženi krumpir. Najviša koncentracija  $0,791 \mu\text{g kg}^{-1}$  određena je za tretman NaCl/VAC/2. dan, a najniža  $0,129 \mu\text{g kg}^{-1}$  za Na-ask./VAC/4. dan. Najviša suma koncentracija „teških“ PAH-ova preračunate na prženi krumpir je  $0,756 \mu\text{g kg}^{-1}$  za Na-ask./VAC/2. dan, a najniža za kontrolni uzorak NaCl-a  $0,051 \mu\text{g kg}^{-1}$  tj.  $0,056 \mu\text{g kg}^{-1}$  za NaCl/MAP/8. dan.

Utjecaj prženja na udjel PAH-ova u prženom krumpiru bio je predmet istraživanja različitih autora, a rezultati nekih od njih u skladu su s rezultatima dobivenim u ovom radu. Purcaro i suradnici (2006) ekstrahirali su ulje iz čipsa od krumpira i drugih industrijski proizvedenih „snack“ proizvoda prženih kontinuirano, a analizirali su i ulje kikirikija iz friteze na kojem se diskontinuirano pržio krumpir pri  $185 \text{ }^\circ\text{C}$ . Rezultati istraživanja pokazali su da je koncentracija PAH4 i benzo(a)pirena bila mnogo ispod maksimalnih granica koje

propisuje europsko zakonodavstvo odnosno da industrijsko (kontinuirano) i diskontinuirano prženje u ispitivanim uvjetima ne predstavlja opasnost za zdravlje.

Slične rezultate dobili su i Kumosani i suradnici (2012) koji su analizirali udjel pirena, benzo(a)antracena, benzo(e)pirena, benzo(a)pirena u krumpiru prženom konvencionalno i mikrovalovima te nisu detektirali niti jedan od analiziranih PAH-ova.

Perelló i suradnici (2009) određivali su koncentraciju 16 PAH-ova u sirovom krumpiru, krumpiru prženom u tavi i maslinovom ulju koje je zagrijavano. Pržili su 700 g krumpira na 1 L ekstra djevičanskog maslinovog ulja, u trajanju 16 min i 4 s, pri početnoj temperaturi ulja od 118 °C, a konačnoj 122,5 °C. Od osam kancerogenih PAH-ova, jedino dibenzo(a,h)antracen nije detektiran ni u jednom uzorku. Za sirovi krumpir koncentracija PAH8 iznosila je 0,11  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , a za prženi 0,15  $\mu\text{g kg}^{-1}$  svježeg proizvoda. Prženjem krumpira koncentracija PAH-ova je porasla dok se zagrijavanjem ekstra djevičanskog maslinovog ulja smanjila. Najviša koncentracija PAH8 nađena je u nekorištenom (svježem) ekstra djevičanskom maslinovom ulju (1,28  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) dok se u uzorcima ulja koje je zagrijavano 4 min s početne temperature 39,3 °C na konačnu 205,5 °C i 8 min s početne temperature od 29,4 °C na konačnu 267,2 °C koncentracija smanjila na 0,93  $\mu\text{g kg}^{-1}$  odnosno 0,81  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ). Smanjenje koncentracije PAH-ova u ekstra djevičanskom maslinovom ulju vjerojatno je posljedica isparavanja djela „lakih“ PAH-ova pod visokom temperaturom prženja, a koji nisu bili uklonjeni rafinacijom jer se ona ne provodi za tu vrstu ulja. Bez obzira na zabilježena povećanja koncentracije benzo(a)pirena i sume PAH4 mnogo su ispod granica koje dozvoljava Uredba EU (Perelló i sur. 2009).

S druge strane, Hao i suradnici (2016) pržili su krumpir u dubokom ulju na  $200 \pm 5$  °C, te analizirali 16 PAH-ova u uljima (soje, repice, kikirikija i masline) nakon 15, 30 i 45 min prženja. Sva ulja su već u početku sadržavala PAH-ove, uglavnom „lake“ i one koji ne spadaju u skupinu PAH4. S vremenom prženja, rasla je koncentracija PAH-ova, ali ne svih. PAH-ovi iz skupine PAH4 nisu detektirani u ulju repice bez obzira na vrijeme prženja, a u ulju soje detektirani su nakon 45 min prženja i to u skoro 4 puta većoj koncentraciji od zakonom dozvoljene. U kikirikijevom i maslinovom ulju koncentracija PAH-ova iz skupine PAH4 rasla je s vremenom prženja. Najviša suma PAH4 nakon 45 min prženja bila je 12,1 puta za kikirikijevo i 7,2 puta za maslinovo ulje veća od dozvoljene. Ovo istraživanje prvenstveno pokazuje da se koncentracija nastalih PAH-ova razlikuje ovisno o vrsti ulja koja se koristi za prženje. Nadalje, veća koncentracija PAH-ova u uljima nakon prženja dobivena ovim istraživanjem može se objasniti primjenom više temperature prženja.

Industrije koje se bave proizvodnjom „snack“ proizvoda imaju sustave za filtraciju i pročišćavanje ulja, a mogu koristiti i nove tehnologije prženja koje koriste niže temperature pa je vjerojatnost nastanka PAH-ova još manja. Dok diskontinuirano prženje u restoranima i kantinama ne predstavlja opasnost od PAH-ova ako se ulje redovito mijenja i ako se primjenjuju odgovarajuće temperature prženja (Purcaro, 2006).

U ovom radu određivani su PAH-ovi u minimalno procesiranom krumpiru. To je nova tehnologija prerade hrane, potrebno je ispitati njezinu sigurnost jer do sada nije provedeno dovoljno istraživanja na tu tematiku. Proces minimalnog procesiranja se osim prvotne primjene na salati i voću počela primjenjivati i na krumpiru. Potrebno je utvrditi postoji li utjecaj načina tretiranja i skladištenja na formiranje PAH-ova tijekom naknadnog prženja takvog krumpira.

Zbog toga što se jednostavnija priprema, raste popularnost uporabe minimalno procesiranog povrća. Takvi proizvodi podrazumijevaju minimalno procesiranje koje uključuje npr. guljenje, pranje, rezanje, pakovanje u polupropusnu ambalažu te hlađenje, a proizvodi trebaju zadržati svijetlu boju površine bez znakova kvarenja. Oštećenjem površinskih stanica stvaraju se pogodni uvjeti za ubrzani razvoj mikroorganizama. Problem predstavlja i enzimsko posmeđivanje koje uzrokuje enzim polifenol-oksidaza koje dovodi do degradacije kvalitete proizvoda. Kada enzimi nisu inhibirani na površini rezanog krumpira stvara se roza, siva ili smeđa boja. Za krumpir se najčešće koriste 0,5-2 % otopine limunske, askorbinske kiseline te L-cisteina. Posmeđivanje se može spriječiti, osim već navedene promjene pH, povišenom temperaturom, uporabom reducirajućih agenasa i kelata (Francis i sur. 2012, Rocculi i sur. 2007, Calder i sur. 2010).

U prilog primjeni tehnologije minimalnog procesiranja u preradi krumpira ide i istraživanje Rocculi i sur. (2007) koji su ispitali utjecaj sredstva koja se koriste za sprječavanje posmeđivanja na metabolizam i sadržaj šećera na minimalno procesirani krumpir. Uranjali su ploške krumpira debljine 5 mm u vodu (kontrola), otopine limunske, askorbinske kiseline i L-cisteina, sobne temperature, 3 minute. Otopine su pripremane u 3 različite koncentracije 0,5; 1,0 i 2,0 %, a korišten omjer krumpira i otopine je 1:4. Ploške prosušene papirom skladištili su u tami na 20 °C i zasićenoj atmosferi. Sadržaj šećera mjeren je nakon 24 h. Tretiranje askorbinskom i limunskom kiselinom značajno je smanjilo razinu glukoze i fruktoze, osim za tretman 0,5 % limunske kiseline. Smanjenje koncentracije šećera je veće s porastom koncentracije kiselina. Također je za L-cistein koncentracija saharoze, glukoze i fruktoze značajno padala s porastom koncentracije amino kiseline. Za tretiranje L-

cisteinom koncentracije 1 i 2 %, koncentracija glukoze pala je na samo 10 % od početne vrijednosti prije tretmana. Smanjivanje koncentracije šećera pripisuju tome da sredstva koja se koriste protiv posmeđivanja minimalno procesiranog krumpira ubrzavaju metaboličku aktivnost. Rocculi i sur. (2007) navode kako bi zbog toga u pakovini moglo doći do brže potrošnje kisika, odnosno stvaranja anaerobni uvjeti i početka fermentacije što može utjecati na kvalitetu i trajnost proizvoda.

Jedini signifikantni utjecaj određen analizom varijance (ANOVA) provedenom na dobivenim rezultatima za udjel PAH-ova u ulju ekstrahiranom iz prženih ploški krumpira dobivenog od na različite načine tretiranog i skladištenog krumpira, imao je tretman ploški krumpira (NaCl i Na-ask) na udjel fluorena ( $p = 0,021$ ). Iz toga se može zaključiti da uspoređivani uvjeti obrade i skladištenja krumpira ne stvaraju opasnost za formiranje opasne koncentracije PAH-ova.

U nedostatku radova drugih znanstvenika na temu utjecaja skladištenja minimalno procesiranog krumpira u uvjetima MAP i vakuuma na formiranje PAH-ova ne nalaze se poveznice literaturnih s rezultatima ovog rada.

#### **4.4. UTJECAJ MINIMALNOG PROCESIRANJA NA UDJEL ULJA U PRŽENOM KRUMPIRU**

Pržena hrana konzumira se u velikim razmjerima, a uz brojne druge faktore uzrokuje pretilost kod velikog broja ljudi širom svijeta. Ulje koje se koristi za duboko prženje nije samo medij kojim se prenosi toplina, već ono postaje i sastojak hrane. Što je proizvod tanji i veće površine apsorpcija ulja se povećava. Usporedbom prženih krumpirića i čipsa, krumpirići apsorbiraju manje ulja jer imaju manji omjer površine/volumena. Većim udjelom suhe tvari i sušenjem sirove hrane smanjuje se apsorpcija ulja jer se u procesu prženja ulje zamjenjuje vodom. Veća viskoznost ulja također uzrokuje sporiju apsorpciju ulja u prženu hranu, pri čemu viskoznost ovisi o temperaturi i vrsti ulja. Temperatura prženja ovisi o veličini i vrsti hrane koja se prži, a kreće se od 120 °C do 190 °C. Prženje pri temperaturi kao što je 120 °C traje duže i hrana upije više ulja pri istom sadržaju vode. Na udjel apsorbiranog ulja utječu postupci pred-procesiranja npr. blanširanje, sušenje zrakom, osmotska dehidracija, pečenje na pari i stvaranje omotača na površini npr. škrob, želatina, proteini, karboksi-metil-celuloza (Ziaifar i sur., 2008).

Količine ulja izdvojenog iz analiziranog prženog krumpira u procesu ekstrakcije i izolacije PAH-ova upotrijebljene su da bi se procijenilo na koji način različito tretiranje i skladištenje krumpira utječe na apsorpciju ulja tijekom prženja, a rezultati su izraženi u postocima u odnosu na masu prženog krumpira i prikazani u Tablici 13.

Tablica 13. Udio ulja koje je ekstrahirano iz prženih ploški krumpira

Tretman	Način skladištenja	Dan skladištenja	% ekstrahiranog ulja iz prženih ploški krumpira
NaCl	Kontrolni uzorak	0	6,65
	MAP	2	9,11
		4	5,39
		8	6,72
		2	6,99
	VAC	4	8,01
		8	6,98
		0	8,37
Na-askorbat	Kontrolni uzorak	2	9,81
	MAP	4	6,45
		8	7,01
		2	11,22
	VAC	4	7,12
		8	5,34

Usporedbom svih dobivenih rezultata, najmanji sadržaj ulja u prženom krumpiru određen je za uvjete Na-ask./VAC/8. dan skladištenja (5,34 % ulja) i za NaCl/MAP/4. dan (5,39 % ulja). Najviše ulja apsorbiralo se u uvjetima Na-ask./VAC/4. dan (11,22 %) i Na-ask./MAP/2. dan (9,81 %).

Ziaifar i suradnici (2008) ističu da sadržaj ulja može činiti i do 40 % ukupne mase čipsa, a manje od 15 % mase prženih krumpirića. To se vjerojatno odnosi na industrijski proizveden čips gdje se krumpir reže na vrlo tanke ploške, međutim u ovom radu su ploške krumpira za prženje bile debljine 5 mm što znači da imaju manji omjer površine/volumena od klasičnog, industrijskog čipsa te da bi trebalo apsorbirati manje ulja od navedenog. Iz tog razloga bi se sadržaj apsorbiranog ulja mogao usporediti sa sadržajem ulja iz prženih krumpirića.

Kao što je navedeno, minimalno procesiranje krumpira zahtjeva i njegovu zaštitu od enzimskog posmeđivanja. U tu svrhu u ovom radu koristila se 1 % - tna otopina NaCl i 2 % - tna otopina Na-askorbata, a ploške krumpira bile su uronjene 3 minute.

Na temelju rezultata analize koji su prikazani u Tablici 9 i s obzirom na kontrolne uzorke može se primijetiti da nema velikih razlika s tretmanom/vremenom/načinom skladištenja i postotkom apsorbiranog ulja, a isto je potvrdila i analiza varijance.

Dobiveni rezultati podudaraju se s rezultatima drugih autora (Oner i Walker, 2010) koji su oprani krumpir, narezan na trake s malo ili nimalo kore blanširali pri 60 °C u 0,5 %-tnoj otopini CaCl<sub>2</sub> u trajanju od 20 min te ohladili na 20 °C i ponovo blanširali vodom pri 98 °C u trajanju od 5 min. Tako pripremljene trake krumpira pakirali u uvjetima blizu-aseptičnog okoliša ili nakon pakiranja vakuumiranjem tretirali plinovitim ozonom, otopinom N-metabisulfita i dr. te skladištili pri 7±1 °C u trajanju od 28 dana. Rezultati njihove analize pokazuju da s ciljem usporedbe analizirani smrznuti, komercijalni krumpirići nakon prženja u kukuruznom ulju sadrže najviše ulja 21,6 %, dok je udjel ulja u svježe narezanim trakama krumpira koji nije bio blanširan i/ili kemijski tretiran 8,8 %, a kod ostalih ispitivanih uvjeta kretao se između 7,9 % i 8,2 %. Smrznuti krumpir pržen je na početnoj temperaturi od 190 °C, a ostali na 177 °C. Nisu primijetili značajne razlike između udjela apsorbiranog ulja i načina tretiranja krumpira.

Uspoređujući rezultate dobivene u ovom radu s radom Krokide i suradnika (2001) koji su koristili 20 % - tnu otopinu NaCl –a te krumpir uranjali 3 sata na povišenoj temperaturi u svrhu osmotske dehidracije, uranjanje krumpira 3 minute u otopinama niske koncentracije soli nije mogla imati veliki utjecaj na uklanjanje vode iz sirovog krumpira pa tako ni utjecaj na smanjenje apsorpcije ulja u prženom krumpiru.

Rezultati istraživanja koje je proveo Krokida i suradnici (2001) pokazali su da sušenje osmozom kao vrsta pred-tretiranja uranjanjem ili prskanjem sirovih krumpirića otopinom saharoze imaju značajan utjecaj na apsorpciju ulja nakon prženja. Osmotsku dehidraciju koristili su za eliminaciju velikog udjela vode ali i za prevenciju enzimskog posmeđivanja krumpira. Sirove krumpiriće uranjali su u 40 % otopinu saharoze i 20 % otopinu NaCl i dr., 3 h na 40 °C. Krumpirići su prženi na 170 °C na rafiniranom pamukovom ulju, hidrogeniranom pamukovom ulju. Najmanji sadržaj vode, a time i ulja nakon prženja u dubokom ulju u odnosu na netretirane krumpiriće bio je nakon tretiranja otopinom saharoze, a zatim otopinom NaCl-a. Krumpirići tretirani otopinom saharoze imali su 60 % manje ulja, a otopinom NaCl-a 35 % manje ulja. Takvo tretiranje uzrokovalo je posmeđivanje nakon prženja, a bilo je izraženije za primijenjenu otopinu saharoze. Prženi krumpirići tretirani otopinom NaCl su bili najprihvatljivije boje. Osmotska dehidracija može biti učinkovita metoda za proizvodnju krumpirića sa niskim udjelom masnoća.

Razlika između različitih tretmana krumpira koji su pridonijeli najmanjoj (NaCl/MAP/4. dan) i najvećoj (Na-ask./VAC/2. dan) apsorpciji ulja tijekom prženja je skoro 6 %, međutim analiza varijance nije pokazala značajan utjecaj različitih tretmana minimalnog procesiranja ploški krumpira na udio apsorbiranog ulja.

## 5. ZAKLJUČCI

1. Metoda koja je razvijena u ovom radu ispunjava sve propisane uvjete parametra validacije koje nalaže Uredba Komisije (EU) br. 836/2011. Limit detekcije, limit kvantifikacije, točnost i preciznost su unutar propisanih granica. Metoda je pogodna za određivanje 15 policikličkih aromatskih ugljikovodika u jestivim uljima.
2. Uspostavljena je linearnost kroz koeficijente korelacije kalibracijske krivulje, u određivanom rasponu za sve spojeve su bili viši od 0,999 osim za antracen i benzo(g,h,i)perilen 0,998.
3. Analizirani PAH-ovi u prethodno minimalno procesiranom prženom krumpiru te skladištenom 2,4 i 8 dana nađeni su u vrlo niskim koncentracijama, a mnogi nisu mogli biti detektirani i kvantificirani razvijenom metodom.
4. U uljima ekstrahiranim iz prženih ploški krumpira najveća suma koncentracija „lakih“ PAH-ova iznosila je  $11,315 \mu\text{g kg}^{-1}$ , „teških“ PAH-ova  $6,741 \mu\text{g kg}^{-1}$ , a grupe PAH4  $1,086 \mu\text{g kg}^{-1}$ .
5. Bez obzira na zamijećene razlike u udjelu PAH-ova među uzorcima, ANOVA je pokazala da postoji statistički signifikantan utjecaj samo za različite tretmane (NaCl i Na-ask.) na udjel fluorena ( $p < 0,05$ ).
6. Raspon apsorbiranog ulja je od 5,39 % do 11,22 %, ali različiti postupci minimalnog procesiranja ne pokazuju značajne razlike u udjelu apsorbiranog ulja u prženim ploškama krumpira.



## 6. LITERATURA

Asraf, M. W., Salam, A. (2012) Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in vegetables and fruits produced in Saudi Arabia. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **88**, 543-547.

Bansal, V., Kim, K. (2015) Review of PAH contamination in food products and their health hazards. *Environ. Int.* **84**, 26-38.

Barth, M. M, Zhuang, H., Saltveit, M. E. (2016) Fresh-Cut Vegetables. U: The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks (Gross, K. C., Wang, C. Y, Saltveit, M., ured.), USDA Agriculture handbook number 66, str. 624-641.

Beaulieu, J. C., Gorny, J. R (2016) Fresh-Cut Fruits. U: The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks (Gross, K. C., Wang, C. Y, Saltveit, M., ured.), USDA Agriculture handbook number 66, str. 604 .

Burlingame, B., Mouillé, B., Charrondière, R. (2009) Nutrients, bioactive non-nutrients and anti-nutrients in potatoes. *J. Food Compost. Anal.* **22**, 494-502.

Calder, B. L., Kash, E. A., Davis-Dentici, K., Bushway, A. A. (2011) Comparison of Sodium Acid Sulfate to Citric Acid to Inhibit Browning of Fresh-Cut Potatoes. *J. Food Sci.* **76**, 164-169.

Camargo, M. C. R., Antonioli, P. R., Vicente, E. (2012) Evaluation of polycyclic aromatic hydrocarbons content in different stages of soybean oils processing. *Food Chem.* **135**, 937-942.

Camire, M. E., Kubow, S., Donnelly, D. J. (2009) Potatoes and Human Health. *Food Sci. Nutr.* **49**, 823 – 840, ISSN: 1040-8398. doi: 10.1080/10408390903041996

Cejpek, K., Hajslova, J., Kocourek, V., Tomaniova, M., Cmolik, J. (1998) Changes in PAH levels during production of rapeseed oil. *Food Addit. Contam.* **15**, 563–574.

Cheng, W., Liu, G., Wang, X, Liu, X, Liu, B. (2015) Formation of benzo(a)pyrene in sesame seeds during the roasting process for production of sesame seed oil. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **92**, 1725-1733.

EFSA (2008) Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food: Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain, European Food Safety Authority, Parma, <[http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific\\_output/files/main\\_documents/724.pdf](http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific_output/files/main_documents/724.pdf)>. Pristupljeno 27. lipnja 2017.

European Commission (2011) Commission Regulation No. 836/2011 of 19 August 2011 amending Regulation (EC) No. 333/2007 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of lead, cadmium, mercury, inorganic tin, 3-MCPD and benzo(a)pyrene in foodstuffs. *Off. J. Eur. Union*, L 215/9.

European Commission (2011) Commission Regulation No. 835/2011 of 19 August 2011 amending Regulation (EC) No. 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs. *Official Off. J. Eur. Union*, L 215/4.

FAOSTAT (2017) Food and Agriculture Organization of the United Nations, <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>> Pristupljeno 3. siječnja 2017.

Francis, G.A., Gallone, A., Nychas, G. J., Sofos, J. N., Colelli, G. (2012) Factors affecting quality and safety of fresh-cut produce. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **52**, 595-610.

Furrer, A. N., Chegeni, M., Ferruzzi, M. G. (2016) Impact of Potato Processing on Nutrients, Phytochemicals and Human Health. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 00.  
doi: 10.1080/10408398.2016.1139542

Halford, N. G., Curtis, T. Y. (2016) Reducing the Acrylamide-Forming Potential of Wheat, Rye and Potato: A Review. U: *Browned Flavors: Analysis, Formation, and Physiology* [online] (Granvogl, M., Peterson, D., Schieberle, P., ured.), American Chemical Society, Washington DC, str. 35-53, <<http://pubs.acs.org/isbn/9780841231856>>. Pristupljeno 27. lipnja 2017.

Hao, X., Li, J., Yao, Z. (2016) Changes in PAHs levels in edible oils during deep-frying process. *Food Control* **66**, 233-240.

ICH (2005) Harmonised tripartite guideline: Validation of analytical procedures - Text and methodology Q2 (R1). International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, EU, Japan i SAD.

Kalra, K. (2011) Method Development and Validation of Analytical Procedures. U: Quality Control of Herbal Medicines and Related Areas, (Shoyama, Y., ured.), InTech, Shanghai, str. 3-16.

Krokida, M. K., Oreopoulou, V., Maroulis, Z. B., Marinos-Kouris, D. (2001) Effect of osmotic dehydration pretreatment on quality of French fries. *J. Food Eng.* **49**, 339-345.

Kumosani, T. A., Moselhy, S. S., Asseri, A. M., Asseri, A. H. (2012) Detection of polycyclic aromatic hydrocarbons in different types of processed foods. *Toxicol. Ind. Health.* 1-5.

Lee, J. G., Kim, S. Y., Moon, J. S., Kim, S. H., Kang, D. H., Yoon, H. J. (2016) Effects of grilling procedures on levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in grilled meats. *Food Chem.* **199**, 632-638.

Lisińska, G., Leszczyński, W. (1989) *Potato – science and technology* [online], Elsevier science publishers Ltd., London/New York, <[https://books.google.hr/books?id=WYT1S7qhn4sC&printsec=frontcover&dq=potato&hl=hr&sa=X&redir\\_esc=y#v=onepage&q=potato&f=false](https://books.google.hr/books?id=WYT1S7qhn4sC&printsec=frontcover&dq=potato&hl=hr&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=potato&f=false)>. Pristupljeno 3. siječnja 2017.

Lovrić, T., Piližota, V. (1994.) Konzerviranje i prerada voća i povrća, Nakladni zavod Globus, Zagreb.

Martorell, I., Perelló, G., Martí-Cid, R., Castell, V., Liobet, J. M., Domingo, J. L. (2010) Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in foods and estimated PAH intake by the population of Catalonia, Spain: Temporal trend. *Environ. int.* **36**, 424-432.

Molle, D. R. D., Abballe, C., Gomes, F. M. L., Furlani, R. P. Z., Tfouni, S. A. V. (2017) Polycyclic aromatic hydrocarbons in canola, sunflower and corn oils and estimated daily intake. *Food Control*, 1-20.

Moret, S., Conte, L. S., (2002) A rapid method for polycyclic aromatic hydrocarbon determination in vegetable oils. *J. Sep. Sci.* **25**, 96-100.

Moret, S., Conte, L. S., (2000) Polycyclic aromatic hydrocarbons in edible fats and oils: occurrence and analytical methods. *J. Chromatogr. A* **882**, 245-253.

Nederal, S., Pukec, D., Škevin, D., Kraljić, K., Obranović, M., Zrinjan, P. (2014) On-line DACC-HPLC analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oils. *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam* **8**, 74-81.

Oner, M. E., Walker, P. N. (2010) Effect of processing and packaging conditions on quality of refrigerated potato strips. *J. Food Sci.* **76**, 35-40.

Perelló, G., Martí-Cid, R., Castell, V., Llobet, J. M., Domingo, J. L. (2009) Concentrations of polybrominated diphenyl ethers, hexachlorobenzene and polycyclic aromatic hydrocarbons in various foodstuffs before and after cooking. *Food Chem. Toxicol.* **47**, 709-715.

Purcaro, G., Moret, S., Conte, L. S. (2013) Overview on polycyclic aromatic hydrocarbons: Occurrence, legislation and innovative determination in foods. *Talanta* **105**, 292-305.

Purcaro, G., Nevas, J. A., Guardiola, F., Conte, L. S., Moret, S. (2006) Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Frying Oils and Snacks. *J. Food. Protect.* **69**, 199-204.

Rocculi, P., Galindo, F. G., Mendoza, F., Wadsö, L., Romani, S., Rosa, M. D., Sjöholm, I. (2007) Effects of the application of anti-browning substances on the metabolic activity and sugar composition of fresh-cut potatoes. *Postharvest Biol. Tech.* **43**, 151-157.

Stadler, R. H., Lineback, D. R. (2009) Process-induced food toxicants Occurrence, Formation, Mitigation, and Health Risks, WILEY, New Jersey / Canada.

Teixeira, V. H., Casal, S., Beatriz, M., Oliveira, P. P. (2007) PAHs content in sunflower, soybean and virgin olive oils: Evaluation in commercial samples and during refining process. *Food Chem.* **104**, 106-112.

USDA (2016) United States Department of Agriculture – National Nutrient Database for Standard Reference <  
<https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/3080?fgcd=Vegetables+and+Vegetable+Products&manu=&lfacet=&format=&count=&max=50&offset=&sort=default&order=asc&qlookup=potato&ds=Standard+Reference&qt=&qp=&qq=&qn=&q=&ing>> Pristupljeno 3. siječnja 2017.

Van Stijn, F., Kerkhoff, M. A. T., Vandeginste, B. G. M. (1996) Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oils and fats by on-line donor-acceptor complex chromatography and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Chromatogr. A.* **750**, 263–273.

Yao, Z., Li, J., Wu, B., Hao, X., Yin, Y., Jiang, X. (2015) Characteristics of PAHs from deep-frying and frying cooking fumes. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **22**, 16110-16120.  
doi:10.1007/s11356-015-4837-4

Zakon o kontaminantima (2013) *Narodne novine* **721**, Zagreb.

Zelinkova, Z., Wenzl, T. (2015) The Occurrence of 16 EPA PAHs in Food – A Review. *Polycycl. Aromat. Compd.* **35**, 248-284. doi:10.1080/10406638.2014.918550

Zhong, W., Wang, M. (2002) Some polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetables from northern China. *J. Environ. Sci. Health.* **37**, 287-296.

Ziaifar, A. M., Achir, N., Courtois, F., Trezzani, I., Trystram, G. (2008) Review of mechanisms, conditions, and factors involved in the oil uptake phenomenon during the deep-fat frying process. *Int. J. Food Sci. Tech.* **43**, 1410-1423.