

Utjecaj duljine zrenja na koncentracije policikličkih aromatskih ugljikovodika (PAH) u dimljenom pršutu

Župić, Ivana

Master's thesis / Diplomski rad

2024

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:159:403914>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-30**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, svibanj 2024.

Ivana Župić

**UTJECAJ DULJINE ZRENJA NA
KONCENTRACIJE POLIČIKLIČKIH
AROMATSKIH UGLJIKOVODIKA (PAH) U
DIMLJENOM PRŠUTU**

Rad je izrađen u Laboratoriju za tehnologiju mesa i ribe na Zavodu za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Nives Marušić Radovčić.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Zavod za prehrambeno – tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za tehnologiju mesa i ribe

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Diplomski sveučilišni studij: Nutricionizam

UTJECAJ DULJINE ZRENJA NA KONCENTRACIJE POLICIKLIČKIH AROMATSKIH UGLJIKOVODIKA (PAH) U DIMLJENOM PRŠUTU

Ivana Župić, 0177055349

Sažetak: Cilj istraživanja bio je odrediti koncentracije policikličkih aromatskih ugljikovodika (PAH) u dimljenom pršutu nakon faze zrenja u trajanju od 12 i 18 mjeseci. Istraživanje je provedeno na uzorcima dva mišića pršuta, *musculus biceps femoris* (BF) i *musculus semimembranosus* (SM). Prisutnosti PAH spojeva u istraživanim mišićima određena je metodom visoko učinkovite tekućinske kromatografije s fluorescentnom detekcijom (HPLC-FLD). Rezultati istraživanja pokazali su da se PAH spojevi više akumuliraju u mišiću SM zbog svog vanjskog položaja odnosno veće izloženosti vanjskim faktorima, a ponajprije dimljenju. Također, ovo istraživanje je dovelo do zaključka da su se koncentracije većine PAH spojeva, nakon faze zrenja od 18 mjeseci, značajno smanjile u oba mišića. Koncentracije benz(a)pirena (BaP) i PAH4 (BaP, BaA, BbF, Chr), koji mogu biti potencijalno štetni za ljudsko zdravlje, nisu prešle vrijednosti koje je propisala Europska komisija za mesne proizvode, te je ovako industrijski proizveden *Dalmatinski pršut* siguran za konzumaciju u prehrani.

Gljučne riječi: dimljeni pršut, zrenje, PAH spojevi, HPLC-FLD

Rad sadrži: 47 stranica, 4 slike, 11 tablica, 65 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

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

Mentor: izv. prof. dr. sc. Nives Marušić Radovčić

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. prof. dr. sc. Helga Medić (predsjednik)
2. izv. prof. dr. sc. Nives Marušić Radovčić (mentor)
3. izv. prof. dr. sc. Irena Keser (član)
4. izv. prof. dr. sc. Mia Kurek (zamjenski član)

Datum obrane: 27. svibnja 2024

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Food Engineering
Laboratory for Meat and Fish Technology

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

Graduate university study programme: Nutrition

THE INFLUENCE OF RIPENING TIME ON THE CONCENTRATION OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS (PAH) IN SMOKED DRY-CURED HAM

Ivana Župić, 0177055349

Abstract: The aim of the research was to determine the concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in smoked dry-cured ham after the ripening phase for 12 and 18 months. The research was conducted on samples of two ham muscles, *musculus biceps femoris* (BF) and *musculus semimembranosus* (SM). The presence of PAH compounds in the investigated muscles was determined by the method of high-performance liquid chromatography with fluorescent detection (HPLC-FLD). The results of the research showed that PAH compounds accumulate more in the SM muscle due to its external position, i.e. greater exposure to external factors, primarily smoking. Also, this research led to the conclusion that the concentrations of most PAH compounds, after the ripening phase of 18 months, significantly decreased in both muscles. The concentrations of benz(a)pyrene (BaP) and PAH4 (BaP, BaA, BbF, Chr), which can be potentially harmful to human health, did not exceed the values prescribed by the European Commission for meat products, and thus industrially produced Dalmatian dry-cured ham is safe for consumption in the diet.

Keywords: smoked dry-cured ham, ripening, PAH compounds, HPLC-FLD

Thesis contains: 47 pages, 4 figures, 11 tables, 65 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: PhD. Nives Marušić Radovčić, Associate professor

Reviewers:

1. PhD. Helga Medić, Full professor (president)
2. PhD. Nives Marušić Radovčić, Associate professor (mentor)
3. PhD. Irena Keser, Associate professor (member)
4. PhD. Mia Kurek, Associate professor (substitute)

Thesis defended: May 27th, 2024

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. PRŠUTI	3
2.2. DALMATINSKI PRŠUT	3
2.3. TEHNOLOŠKI POSTUPAK PROIZVODNJE PRŠUTA	4
2.4. POLICIKLIČKI AROMATSKI UGLJIKOVODICI	6
2.5. KEMIJSKA I FIZIKALNA SVOJSTVA	7
2.6. IZLOŽENOST PAH-OVIMA PUTEM PREHRANE I POVEZANE ZDRAVSTVENE OPASNOSTI	10
2.6.1. Porijeklo PAH-ova	11
2.6.2. Izvori PAH-ova zbog dimljenja	13
2.7. DIMLJENJE MESA I NASTANAK PAH-OVA	13
2.8. MOGUĆNOSTI SMANJENJA KONCENTRACIJE PAH-OVA U MESNIM PROIZVODIMA	14
3. EKSPERIMENTALNI DIO	16
3.1. MATERIJALI I METODE	16
3.1.1. Uzorci	16
3.1.2. Standardi i reagensi	17
3.2. ODREĐIVANJE POLICIKLIČKIH AROMATSKIH UGLJIKOVODIKA (PAH)	17
3.2.1. Priprema sirovog ekstrakta	17
3.2.2. Pročišćavanje gel permeacijom GPC	17
3.2.3. Analiza PAH-ova visoko učinkovitom tekućinskom kromatografijom	18
3.3. OBRADA PODATAKA	19
4. REZULTATI I RASPRAVA	20
5. ZAKLJUČCI	40
6. LITERATURA	41

1. UVOD

Pršut je jedan je od najcjenjenijih hrvatskih mesnih proizvoda, a dimljeni *Dalmatinski pršut* nosi zaštićenu oznaku zemljopisnog podrijetla (ZOZP). Specifičnost proizvodnje *Dalmatinskog pršuta* je primjena dimljenja tijekom tehnološkog procesa proizvodnje, što ga čini specifičnim u odnosu na ostale pršute u svijetu (Petrova i sur., 2015). Poznato je kako dim pridonosi razvoju karakteristične arome, dok antimikrobni i antioksidativni učinak dima imaju konzervirajući učinak. Uz navedena pozitivna svojstva, dim se u tehnologiji i sigurnosti proizvodnje mesnih proizvoda smatra potencijalnim izvorom štetnih tvari, poput kancerogenih policikličkih aromatskih ugljikovodika (engl. *polycyclic aromatic hydrocarbons*, PAH) (Fasano i sur., 2016). PAH spojevi česti su kontaminanti u prehrambenim proizvodima koji čine veliku skupinu organskih spojeva ugljika i vodika sastavljenih od dvaju ili više kondenziranih benzenskih prstenova (Abdel-Shafya i Monsour, 2016; EFSA, 2008). Nastaju uglavnom nepotpunim izgaranjem drveta ili drugih organskih materijala poput fosilnih goriva (Hokkanen i sur., 2018).

PAH-ovi su kemijski stabilni spojevi topljivi u mastima koji su klasificirani kao karcinogeni za ljude. Nekoliko metaboličkih putova može dovesti do reaktivnih intermedijera koji induciraju mutagene ili kancerogene procese PAH-ova. Karcinogeni kapacitet varira među njima, unatoč sličnim strukturnim svojstvima, u čemu se vidi važnost njihova određivanja u mesnim proizvodima.

Ljudi su primarno izloženi PAH-ovima preko hrane, a glavni izvor kontaminacije prehrambenih proizvoda su procesi termičke obrade poput dimljenja, roštiljanja, sušenja i pečenja (Yebra-Pimentel i sur., 2015; Ciecierska i Obiedziński, 2007). Kao najzastupljeniji PAH-ovi u hrani navode se benz(a)piren (BaP), benz(a)antracen (BaA), krizen (Chr), dibenz(a,h)antracen (Dba), piren (Py), antracen (Ant), fluoranten (Flt) i benzo(b)fluoranten (BbF) (Yebra-Pimentel i sur., 2015). Znanstveni panel za kontaminante u prehrambenom lancu Europske agencije za sigurnost hrane (EFSA-e) donio je mišljenje o PAH-ovima u hrani temeljem kojeg je sustav od četiri specifične tvari (PAH4: BaP, BaA, BbF i Chr) ili osam specifičnih tvari (PAH8: PAH4, benzo[k]fluoranten (BkF), benzo[g,h,i]perilen (Bghi), dibenzo[a,h]antracen (Dba) i indeno[1,2,3-c,d]piren (IP)) najprikladniji pokazatelj toksičnosti PAH-ova.

Završna faza proizvodnje pršuta, zrenje, provodi se najčešće u trajanju od godine dana (*Dalmatinski pršut*, *Istarski pršut*, *Kraški pršut* i dr.) dok neke vrste pršuta (*Iberijski*, *Parma*, *Bayonne* i dr.) karakterizira duže zrenje, u trajanju od dvije ili više godina (Kovačević, 2017; Pugliese i sur., 2015). S tehnološke strane, produljeno zrenje je zahtjevan i skup proces, no pravilnim provođenjem procesa produljenog zrenja postižu se specifična senzorska svojstva (Cilla i sur., 2006). Tijekom produljenog zrenja dolazi do dodatnog isušivanja mišića buta,

distribucije soli i proteolitičkih i lipolitičkih promjena koje dovode do formiranja poželjnih senzorskih karakteristika (Toldra, 2002).

Prva istraživanja o prisutnosti policikličkih aromatskih ugljikovodika u pršutu počela su u kasnim 1980-ima i ranim 1990-ima. Otkriće njihove prisutnosti izazvalo je zabrinutost zbog njihovog potencijalno kancerogenog djelovanja na ljude. Osim što su se istraživanja fokusirala na detekciju PAH spojeva u pršutu, također su se bavila utvrđivanjem mogućih izvora kontaminacije i razvojem metoda za smanjenje razine tih spojeva u mesnim proizvodima. Ova istraživanja su rezultirala poboljšanjem procesa proizvodnje pršuta kako bi se smanjila koncentracija PAH spojeva i povećala sigurnost hrane. Djinovic i sur. (2008) istraživali su sadržaj PAH spojeva tijekom procesa dimljenja u mesnim proizvodima, a njihovi rezultati pokazali su da postoje razlike u sadržaju PAH-ova sa sličnim omjerom površine i mase te da je prisutnost kože dobra barijera za prodor PAH-ova iz dima u tkivo slanine. Wretling i sur. (2010) pronašli su visoke razine kancerogenoga Bap-a u 9/38 uzoraka dimljenog mesa. Zachara i sur. (2017) pronašli su više razine PAH-ova u proizvodima manjeg presjeka (kobasice) i malih dimenzija (papaline) u usporedbi s proizvodima većeg presjeka (svinjski pršuti). Poljanec i sur. (2019) istraživali su sadržaj PAH-ova u četiri vrste hrvatskih pršuta (*Dalmatinski, Drniški, Krčki i Istarski*), među kojima nisu utvrđene značajne razlike u pogledu sadržaja BaP, PAH4, PAH8 i PAH 15 (iako se Krčki i Istarski pršut ne dime). Mastanjević i sur. (2019) ustanovili su značajne koncentracije PAH16, a PAH4 bile su iznad zakonskih preporuka (>30 µg/kg) u sedam uzoraka tradicionalno dimljene Slavonske šunke. Također, uzorci dimljeni s bazgom pokazali su visoke koncentracije PAH-ova u usporedbi s onima dimljenima s bukvom i grabom. Mastanjević i sur. (2020) istražili su PAH-ove u tradicionalno dimljenom Hercegovačkom pršutu i došli do zaključka da je velika važnost standardiziranja postupaka dimljenja i proizvodne prakse kako bi se smanjio udio PAH-ova. Essumang i sur. (2013) i Racovita i sur. (2020) istraživali su utjecaj vremena dimljenja na razine PAH-ova u dimljenim mesnim proizvodima i ustanovili jaku vezu između vremena dimljenja i sadržaja PAH-ova u proizvodu.

Stoga je cilj ovog rada bio odrediti koncentracije PAH-ova u dimljenom pršutu nakon faze zrenja u mišiću *biceps femoris* (BF) i *semimembranosus* (SM) te istražiti utjecaj produljenog zrenja (18 mjeseci) na razine policikličkih aromatskih ugljikovodika u dimljenom pršutu.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. PRŠUTI

U Pravilniku o mesnim proizvodima (N.N. br. 62/18) dana je definicija da je pršut trajni suhomesnati proizvod od svinjskog buta s kostima, s ili bez kože i potkožnog masnog tkiva, s ili bez nogice, bez repa, s ili bez zdjeličnih kostiju. Proizvodi se postupkom suhog soljenja ili salamurenja, uz mogućnost dodatka drugih začina ili začinskog bilja, nakon čega slijede procesi sušenja i zrenja, s ili bez provedbe postupka dimljenja. Nakon sušenja i zrenja, pršut se može stavljati na tržište otkošten. Proces postupka proizvodnje pršuta mora trajati najmanje devet mjeseci.

Najstariji spomen sušenog svinjskog mesa potječe iz doba ranog Rima. Naziv „pršut” dolazi od latinske riječi *perexuctus* što znači temeljito osušen. Mijenjanjem i moderniziranjem talijanskog jezika, dolazi riječ *prosciutto* što je u prijevodu zasoljeni, osušeni, zreli svinjski but koji se konzumira izrezan na tanke listove. Najveći proizvođači pršuta u svijetu su mediteranske zemlje Italija, Francuska, Portugal i Hrvatska (Kovačević, 2014). Cijena pršuta na tržištu je relativno visoka, a razlog je njegova zahtjevna tehnološka proizvodnja, ali i specifičan okus, aroma i miris.

2.2. DALMATINSKI PRŠUT

Dalmatinski pršut registriran je kao OZNAKA ZEMLJOPISNOG PODRIJETLA, rješenjem Ministarstva poljoprivrede (klasa: UP/I 310-26/12-01/04, ur broj: 525- 08/0497-12-4) od 10. srpnja 2012. godine. *Dalmatinski pršut* je trajan suhomesnati proizvod od svinjskog buta s kosti, kožom i potkožnim masnim tkivom, bez zdjeličnih kosti, suho soljen morskom soli, dimljen blagim izgaranjem tvrdog drva bukve (*Fagus sp.*), hrasta (*Quercus sp.*) ili graba (*Carpinus sp.*). *Dalmatinski pršut* prolazi proces sušenja i zrenja koji mora trajati najmanje godinu dana. Prvi pisani trag o *dalmatinskom pršutu* je iz 1557. godine. Kvaliteti *Dalmatinskog pršuta* doprinosi salamurenje bez nitrata, nitrita i drugih aditiva te on pripada visoko vrijednim tradicionalnim proizvodima (Kovačević, 2001).

Postoje određena pravila kako treba izgledati svinjski but za proizvodnju pršuta. But mora biti odvojen od svinjske polovice između zadnjeg slabinskog kralješka i prvog križnog kralješka. But ne smije imati zdjelične kosti, odnosno bočnu kost, sjednu kost i preponsku kost. Mora se ukloniti i križna kost i odvojiti repni kralješci. But mora biti odvojen od zdjelice u bočnom zglobu koji povezuje glavu bedrene kosti i zdjeličnu čašicu na kukovlju. Muskulatura buta mora biti pravilno polukružno zaobljena tako da proksimalni rub buta bude oko 8 do 10 cm udaljen od glave bedrene kosti. S medijalne i lateralne strane but mora imati kožu i potkožno masno tkivo.

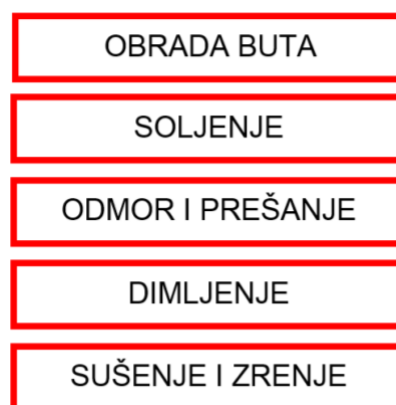
Na muskulaturi s otvorene madijalne strane ne smije biti visećih dijelova, a distalni dio kože s pripadajućim masnim tkivom mora biti zaobljen. Masa obrađenog buta mora iznositi najmanje 11 kg, da bi bio prikladan za proces proizvodnje *Dalmatinskog pršuta*. Meso se sastoji od vode, proteina, lipida, mineralnih tvari i male količine ugljikohidrata. Mišićno tkivo mladih svinja sadrži približno 74 % vode, 21 % proteina, 4 % masti i 1 % pepela (Poljanec, 2022).

Svježi but ne smije imati tragove traumatskih procesa. Meso mora biti crvenkastoružičaste boje, kompaktne strukture i suhe površine. U trenutku ulaska buta u proces proizvodnje, pH vrijednost mjerena u području polu opnastog mišića, treba iznositi između 5,5 i 6,1. Nagli pad pH mišića nakon klanja, dok je temperatura mišića još uvijek visoka (>38 °C) uzrokuje bržu denaturaciju sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina, što uzrokuje oštećenja membrana oko snopova miofibrila. To povećava njihovu popustljivost i uzrokuje zatezanje filamenata u mišiću, a to dovodi do nagomilavanja tekućine (Honikel i Kim, 1986).

Debljina slanine s kožom na vanjskom dijelu svježeg obrađenog buta, mjereno okomito ispod glave bedrene kosti, treba iznositi najmanje 15 mm, a poželjno 20 – 25 mm. Prekrivenost mašču mora biti takva da onemogućí odvajanje kože od mišića. Svježi butovi se podvrgavaju hlađenju, a ono podrazumijeva da se u fazama skladišta i transporta butovi moraju čuvati na temperaturi u rasponu od 0 do 4 °C. Od klanja svinja do početka soljenja buta ne smije proći manje od 24 sata niti dulje od 96 sati.

2.3. TEHNOLOŠKI POSTUPAK PROIZVODNJE PRŠUTA

Osnovne faze proizvodnje pršuta obuhvaćaju: obradu buta, soljenje, odmor i prešanje, dimljenje, sušenje i zrenje (slika 1).



Slika 1. Osnovne faze proizvodnje pršuta

Poželjno je da za proizvodnju pršuta svinja bude stara najmanje 5 mjeseci i određene kilaže. Neki pršuti zahtijevaju da starost svinja bude između 18-24 mjeseca i da svinje imaju minimalno 160 kilograma (npr. Iberijski pršut). Nekada se klanje obavljalo u kasnu jesen i ranu zimu, zbog vremenskih uvjeta, kako ne bi došlo do kvarenja najčešće uzrokovanog insektima (Krvavica, 2006).

Obrada buta vrši se odvajanjem buta od trupa na način da se radi rez između 2. i 3. kralješka, odvaja se rep, križna kost i zdjelične kosti. Kod nekih pršuta (npr. Iberijski pršut) nogica se ne odvaja dok se kod nekih može skidati koža i potkožno masno tkivo (npr. Istarski pršut). Na kraju se istiskuje krv i but se ostavi na hlađenje (temperatura pada s 41 °C na 0 °C, pri RV zraka <90 %) tijekom 24-36 sati ili se ostavljaju na cijeđenje preko noći. Zatim slijedi završna obrada kako bi se postigao karakterističan izgled, butovi se razvrstavaju prema masi, pH vrijednosti i idu na žigosanje (Krvavica, 2006).

Svježi but koji ide na daljnju obradu mora biti crvenkasto-ružičaste boje i suhe površine. Problem se može pojaviti kod BMV (blijedo, mekano i vodnjikavo) i kod TČS (tamno, čvrsto, suho) mesa (Toldrá, 2002).

Soljenje (kuhinjskom ili morskom soli) je poznata metoda konzerviranja pršuta (sprječavanje ili usporavanje rasta i razmnožavanja mikroorganizama). Konzerviranjem se produžava trajnost proizvoda i sprječava aktivacija autolitičkih procesa koji mogu dovesti do kvarenja. Također, soljenje povoljno utječe na okus, boju, miris i teksturu. Kuhinjska sol ima i druge funkcije: može razoriti mioglobin, pa nastaje metmioglobin (koji je sivkaste boje), djeluje na sposobnost vezanja vode (smanjuje gubitak vode i masu proizvoda što pridonosi sočnosti mesa), uklanjanja strane mirise, zaustavlja snižavanje pH (ako je pH prije samog soljenja bio veći od 6,0), povišuje pH (ako je pH prije samog soljenja bio ispod 6,0) (Toldrá, 2002).

Količina soli koja je idealna je 6-8 % računato na ukupnu masu buta, kako bi se postigla poželjna kvaliteta i okus. Previše soli može maskirati druge poželjne okuse, a premalo može dovesti do mikrobiološkog kvarenja (Careri i sur., 1993).

Postoje 3 načina soljenja:

1. Suho soljenje/salamurenje,
2. Vlažno salamurenje,
3. Kombinirani postupak (Kovačević, 2001).

Nakon soljenja slijedi prešanje. Prvo se uklanja višak soli ispiranjem hladnom vodom, a potom se butovi vješaju na posebne kuke ili špage. Butovi se nekoliko sati izlažu vjetru i svježem zraku, a zatim stavljaju u preše 7-10 dana pod teretom koji je 5 puta veći od mase buta. Svrha prešanja je dobro cijeđenje vode i masnog soka te pogodan oblik za narezivanje. Postupak se provodi na mramornim ili drvenim stolovima (Karolyi, 2015).

Slijedi postupak dimljenja koji se provodi uporabom hladnog dima (izgaranje tvrdog drveta ili piljevine bukve, graba ili hrasta). Temperatura dimljenja ne bi trebala biti veća od 22 °C kako ne bi došlo do denaturacije bjelančevina. Također, može se stvoriti barijera koja može spriječiti izlazak vode iz unutarnje muskulature buta, a to može dovesti do kvarenja pršuta. Dimljenje i sušenje pršuta traje najviše 45 dana (Kovačević, 2014).

Nakon faze dimljenja i sušenja pršuti se premještaju u posebne komore ili podrume koji su prilagođeni uvjetima koji su potrebni za pravilno zrenje pršuta (temperatura do 20 °C, relativna vlažnost zraka oko 70 %). Otvori su zaštićeni mrežom zbog kukaca i drugih nametnika. Tijekom zrenja dolazi do proteolize i lipolize. Tako nastaju hlapljivi spojevi koji su zaslužni za specifičnu aromu i boju pršuta. Pukotine koje nastanu u pršutu dozvoljeno je popuniti smjesom od usitnjenog svinjskog sala, pšeničnog ili rižinog brašna i soli. Zrenje je dugotrajan proces koji može trajati 12 mjeseci pa i više, a kalo iznosi cca. 35 % (Krvavica, 2006).

2.4. POLICIKLIČKI AROMATSKI UGLJIKOVODICI

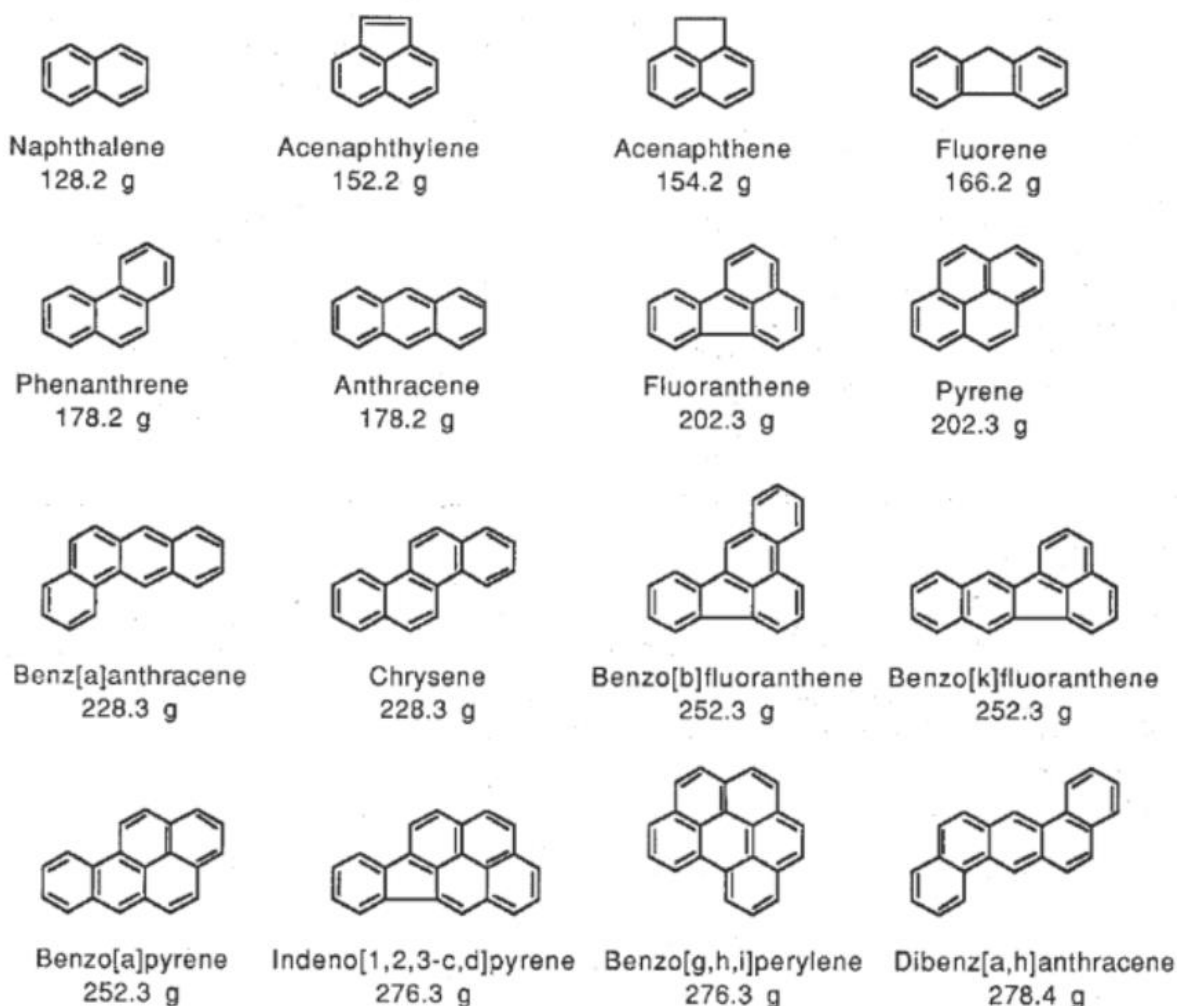
Izraz policiklički aromatski ugljikovodici (PAH) odnosi se na spojeve koji su sastavljeni od atoma ugljika i vodika grupiranih u prstenove koji sadrže pet ili šest atoma ugljika. Njihova fizikalna i kemijska svojstva određena su veličinom (brojem ugljikovih atoma) i oblikom (uzorak prstenaste veze) pojedinačne molekule. PAH-ovi niže molekularne težine (<3 prstena) općenito nisu kancerogeni i nalaze se u plinovitoj fazi. PAH veće molekularne težine (4 prstena i više) su najstabilniji i najtoksičniji te se uglavnom povezuju s česticama u zraku (Yebrá-Pimentel i sur., 2015)

Policiklički aromatski ugljikovodici (PAH) velika su skupina kancerogenih organskih spojeva, nastalih nepotpunim izgaranjem ili pirolizom organske tvari. Tvore ih dva do šest spojenih aromatskih prstenova (linearni, grozdasti ili kutni raspored), a sastoje se isključivo od ugljika i vodika. Mogu predstavljati alkilne supstituente, ovisno o procesu stvaranja.

Iako je Međunarodna unija za čistu i primijenjenu kemiju definirala sustavnu nomenklaturu za ove spojeve, mnogi od njih su zadržali svoje zajedničko ime, odražavajući početnu izolaciju iz katrana ugljena (npr. naftalen i piren), njihovu boju (npr. fluoranten i krizen; potonji pogrešno, jer je kontaminiran naftacenom, koji je narančast, kada je prvi put izoliran), i njihov oblik (npr. koronen i ovalen).

2.5. KEMIJSKA I FIZIKALNA SVOJSTVA

Numeriranje i imenovanje PAH-ova temelji se na nekoliko osnovnih pravila: Prstenovi se crtaju s dvije okomite strane (kada je moguće), sa što više prstenova u liniji, a ostatak strukture nalazi se u gornjem desnom kvadrantu; numeriranje počinje od prvog atoma ugljika koji nije uključen u fuziju prstena u desnom prstenu i nastavlja se u smjeru kazaljke na satu; naziv sustava spojenog prstena sastoji se od prefiksa fiksnog dijela (npr. benzo) nakon kojeg slijedi kurzivno slovo koje označava vezu baze (npr. odnosi se na 1,2-vezu) i naziv osnovnog spoja slijedi (npr. benzo[a]antracen prikazan na slici 2). Popis najviše analiziranih PAH-ova prikazan je u tablici 1, zajedno s njihovom kemijskom strukturom, molekularnom formulom, molekularnom masom (mw), topljivošću u vodi na 25 °C, koeficijentom raspodjele oktanol-voda (log K) i kraticom (koja će se koristiti u cijelom poglavlju), a njihova strukturna formula prikazana je na slici 2.



Slika 2. Strukturna formula 16 policikličkih aromatskih ugljikovodika (PAH) koje je Američka agencija za zaštitu okoliša (EPA) odabrala kao prioritetne zagađivače. Brojevi su molekularne težine (Henner i sur., 1997)

Tablica 1. Naziv spoja, kratica, molekulska formula i težina (mw), topljivost na 25 °C, log K_{ow} i struktura nekih od najviše proučavanih PAH-ova (Henner i sur., 1997)

Spojivi (skraćena)	Molekulska formula (mw)	Topivost na 25 °C (µg l ⁻¹)	Log K _{ow}
naftalen (Na)	C ₁₀ H ₈ (128)	12 500–34 000	3,37
acenaften (Ac)	C ₁₂ H ₁₀ (154)		3,98
Acenaftilen (Ap)	C ₁₂ H ₈ (152)	3420	4,07
fluoren (F)	C ₁₃ H ₁₀ (166)	800	4,18
fenantren (Pa)	C ₁₄ H ₁₀ (178)	435	4,46
antracen (A)	C ₁₄ H ₁₀ (178)	59	4,5
Fluoranten (Fl)	C ₁₆ H ₁₀ (202)	260	4,90
piren (P)	C ₁₆ H ₁₀ (202)	133	4,88
Benzo[c]fluoren (BcF)	C ₁₇ H ₁₂ (216)	103	5,19
Ciklopenta[c,d]piren (CPP)	C ₁₈ H ₁₀ (226)	33,52	5,70
Benzo[a]antracen (BaA)	C ₁₈ H ₁₂ (228)	11,0	5,63
krizen (Ch)	C ₁₈ H ₁₂ (228)	1,9	5,63
5-metilkrizen (5MeCh)	C ₁₉ H ₁₄ (242)	65	6,07
Benzo[j]fluoranten (BjF)	C ₂₀ H ₁₂ (252)	2,4	6,21
Benzo[b]fluoranten (BbF)	C ₂₀ H ₁₂ (252)	2,4	6,04
Benzo[k]fluoranten (BkF)	C ₂₀ H ₁₂ (252)	0,8	6,11
Benzo[a]piren (BaP)	C ₂₀ H ₁₂ (252)	3,8	6,06
Dibenzo[a,h]antracen (DBaA)	C ₂₂ H ₁₄ (278)	0,4	6,86
Benzo[g,h,i]perilen (BghiP)	C ₂₂ H ₁₂ (276)	0,3	6,78
Indeno[1,2,3-cd]piren (IP)	C ₂₂ H ₁₂ (276)	-	6,58
Dibenzo[a,l]piren (DBaP)	C ₂₄ H ₁₄ (302)	0,24	7,71
Dibenzo[a,e]piren (DBaeP)	C ₂₄ H ₁₄ (302)	0,24	7,71
Dibenzo[a,i]piren (DBaiP)	C ₂₄ H ₁₄ (302)	0,5	7,28
Dibenzo[a,h]piren (DBaP)	C ₂₄ H ₁₄ (302)	-	6,26

PAH-ovi su topljivi u mastima i uglavnom su netopljivi u vodenim sustavima i kemijski su inertni. Topljivost u vodi smanjuje se s povećanjem veličine molekule. Tlak pare za PAH je nizak i smanjuje se s povećanjem veličine molekule. Njihovi koeficijenti raspodjele oktanol-voda (K_{ow}) relativno su visoki, što ukazuje na relativno visok potencijal adsorpcije na suspendirane čestice u zraku i vodi i za biokoncentraciju u organizmima. Prijenos i raspodjela PAH-ova u okolišu u velikoj su mjeri određeni fizikalno-kemijskim svojstvima kao što su topljivost u vodi, tlak pare, konstanta Henryjevog zakona, koeficijent raspodjele vode (K_{ow}) i koeficijent raspodjele organskog ugljika (K_{oc}) (Yebera-Pimenteli sur., 2015). Policiklički aromatski ugljikovodici vrlo su hidrofobni i uglavnom organski lipofilni spojevi sa spojenim aromatskim prstenovima atoma vodika i ugljika. Ovi spojevi su polu- ili neisparljivi u prirodi, nisu biorazgradivi, varijabilno su strukturirani toksični spojevi; kombinirani i kategorizirani kao kemijski povezana sveprisutna skupina karcinogena iz okoliša (Ledesma i sur., 2014; Essumang i sur., 2013). Spojevi s četiri i više prstena s manjom hlapljivošću, adsorbiraju se na česticama izgaranja poput čađe, klasificiraju se kao veći ili teški PAH-ovi. Iznimno hlapljivi spojevi s manje od četiri aromatska prstena, široko su rasprostranjeni, a poznati su kao manji ili laki PAH-ovi. PAH-ovi su produkt nepotpunog izgaranja organskog materijala tijekom piroliza (Veiga i sur., 2014). Teški PAH-ovi poznatiji su kao stabilniji i toksičniji od lakih (Singh i sur., 2016).

Policiklički aromatski ugljikovodici (PAH) pripadaju skupini od gotovo 10 000 spojeva, koji posjeduju 2-7 spojenih aromatskih prstenova, a nastaju iz antropogenih i prirodnih izvora. Među njima, 16 PAH spojeva, naime naftalen [Naph], acenaften [Acen], acenaften [Acy], fluoren [Flu], fenantren [Phen], antracen [Anth], fluoranten [Flan], piren [Pyr], benzo(b)fluoranten [B(b)F], benzo(k)fluoranten [B(k)F], benzo(a)antracen [B(a)A], krizen [Chry], benzo(a)piren [B(a)P], indeno(1,2,3)piren [IP], dibenzo(a,h)antracen [DB(ah)A] i benzo(g,h,i)perilen [B(ghi)P] su Agencija za zaštitu okoliša SAD-a (US EPA) i Europska unija (EU) uvrstili među prioritete zagađivače. Ovi spojevi su također dobili na važnosti zbog svoje dokazane toksičnosti i kancerogenosti (Fasano i sur., 2016). Posljedično, PAH-ove iz okoliša mogu uvesti u prehrambeni lanac uglavnom i biljke i životinje. Nekoliko je istraživanja potvrdilo da je prehrana glavni izvor ljudske kontaminacije PAH-ovima. Treba uzeti u obzir kemijske reakcije PAH-ova u okolišu. Najvažnije su reakcije u zraku između PAH-ova adsorbiranih na površini čestica i oksidativnih plinova poput NO_2 , O_3 i SO_2 ; na koje se ne čini da utječe izlaganje UV zračenju i fotooksidacija PAH-ova ozračenih bilo sunčevim zračenjem ili simuliranim sunčevim svjetlom koje proizvodi niz oksidiranih derivata kao što su kinoni, ketoni ili kiseline (Vu-Duc i Huynh 1995). Kamens i sur. (1985) procjenjuju da je, čak i u vrlo onečišćenom zraku, fotoliza najvažniji čimbenik raspadanja PAH-ova apsorbiranih česticama u atmosferi, a zatim reakcija s NO_2 , N_2O_5 i HNO_3 . U vodi PAH-ovi mogu ispariti, fotolizirati se, biorazgraditi se i

vezati se na suspendirane čestice ili sedimente, ili se nakupljaju u vodenim organizmima. Iako postoje razlike u vremenu poluraspada, rezultati sugeriraju da je vrijeme poluraspada PAH-ova s više od tri prstena znatno dulje (> 20 dana do stotine dana) od PAH-ova s tri ili manje prstena (Yebera-Pimentel i sur., 2015).

PAH-ovi se emitiraju tijekom šumskih požara, vulkanske erupcije, izgaranja fosilnih goriva i drva, industrijskih procesa i kuhanja. U atmosferi, ti spojevi podliježu fotokemijskim i kemijskim reakcijama oksidacije s dušikovim oksidima (NOX), atmosferskim kisikom (O₂), sumpornim oksidima (SOX) i hidroksilnim radikalom (OH) stvarajući više toksičnih spojeva. Dolazi do izlaganja ljudi ovim spojevima u mješovitom, neujednačenom sastavu i stoga nema jedinstvenog spoja koji se smatra odgovornim za opasnosti po ljudsko zdravlje. Prehranom se unese najveći dio PAH-ova. Čak 88-98 % kontaminacije PAH-ovima unese se prehranom (posebno u slučaju populacije koja ne puši), dok se inhalacijom unese oko 2– 12 % (Alomirah i sur., 2011). Korištenje onečišćene vode i kontaminiranog tla tijekom faze proizvodnje usjeva, poljoprivredna spaljivanja, požar, kontakt s nekvalitetnim mineralnim uljima uz taloženje čestica zraka (izloženost isparenjima vozila, asfaltu) na prehranbenim artiklima u žetvi i fazi obrade hrane djeluju kao glavni putevi za stvaranje PAH-ova i kontaminacija hrane (Jiménez, i sur. 2014).

2.6. IZLOŽENOST PAH-OVIMA PUTEM PREHRANE I POVEZANE ZDRAVSTVENE OPASNOSTI

Međunarodna agencija za istraživanje raka (IARC), Agencija za Registar otrovnih tvari i bolesti (ATS-DR), Agencija za zaštitu okoliša i Europska unija su PAH-ove spomenule kao prioritet na popisu zagađivača zbog njihovog kancerogenog i mutagenog djelovanja. Komisija za Codex Alimentarius ustvrdila je prisutnost regija Bay i Fjord u strukturi PAH-ova kao razlog njihove visoke reaktivnosti (Orecchio i sur., 2009). Ovi spojevi se sami pretvaraju u diolepoksidi ili djeluju sinergistički u učinkovitom kovalentnom vezanju sa staničnim makromolekulama poput DNK, dodaju pogreške u njegovoj replikaciji, mutaciji i nastanku tumora, na taj način inicirajući rak. Broj prstenova u spojevima pozitivno korelira do razine toksičnosti. PAH-ovi koji imaju dva ili više spojenih aromatskih prstenova poznati su kao uzročnici raka. PAH-ovi se razlikuju po svojoj kancerogenosti. Iako se neki od njih smatraju nekancerogenima, mogu povećati karcinogenost drugih PAH-ova (Malarut i Vangnai, 2017). Pokazao se povećan rizik od karcinoma bubrežnih stanica pri konzumiranju pečenja mesa s roštilja kroz histološke studije. Benzo(a)piren (BaP) pokazao je štetne i toksične učinke na stanice i tkiva, reprodukciju, razvoj i imunološki sustav životinja (Essumang i sur., 2013; Manda i sur., 2012). Alomirah i sur. (2011) otkrili su visoke genotoksične PAH-ove u povrću pečenom na žaru, piletini i dimljenoj hrani koja je bila ključna za prehranu za kuvajtsku djecu,

adolescente i odrasle. Rizik od raka povezan s konzumacijom namirnica životinjskog podrijetla kod djece/adolescenta i odraslih iznosio je 2,63/107 i 9,3/107 ekvivalenta benzo(a)pirena. Istraživanja izloženosti određenih PAH-ova na ljudima su pokazale da je količina izloženosti benzo(a)pirena u prehrani iznosila 2–500 ng/dan te izloženost inhalacijom od 10-50 ng/dan.

Izloženost PAH-ova kod ljudi odvija se kroz kožu, putem gutanja i inhalacije od čega gotovo 88-98 % dolazi putem prehrane (Rey-Salgueiro i sur., 2008). Putevi za kontaminaciju hrane PAH-ovima uključuju zagađenu vodu, poljoprivredna spaljivanja i požare, kontaminirano tlo, kontakt s nekvalitetnim mineralnim uljima u fazi prije žetve i postupke obrade, pakiranja i kuhanja u fazi nakon žetve (Domingo i Nadal, 2016). Povećana izloženost PAH-ovima dovodi do povećanog broja karcinoma u različitim dijelovima probavnog trakta čovjeka, tj. usta, želuca, debelog crijeva, rektuma itd (Siegel i sur., 2016). Prisutnost ovih spojeva u analiziranim različitim prehrambenim proizvodima i njihova istraživanja o procjeni toksičnosti dovele su do razvoja smjernica i propisa za te spojeve u hrani u cijelom svijetu (Benford i sur., 2010).

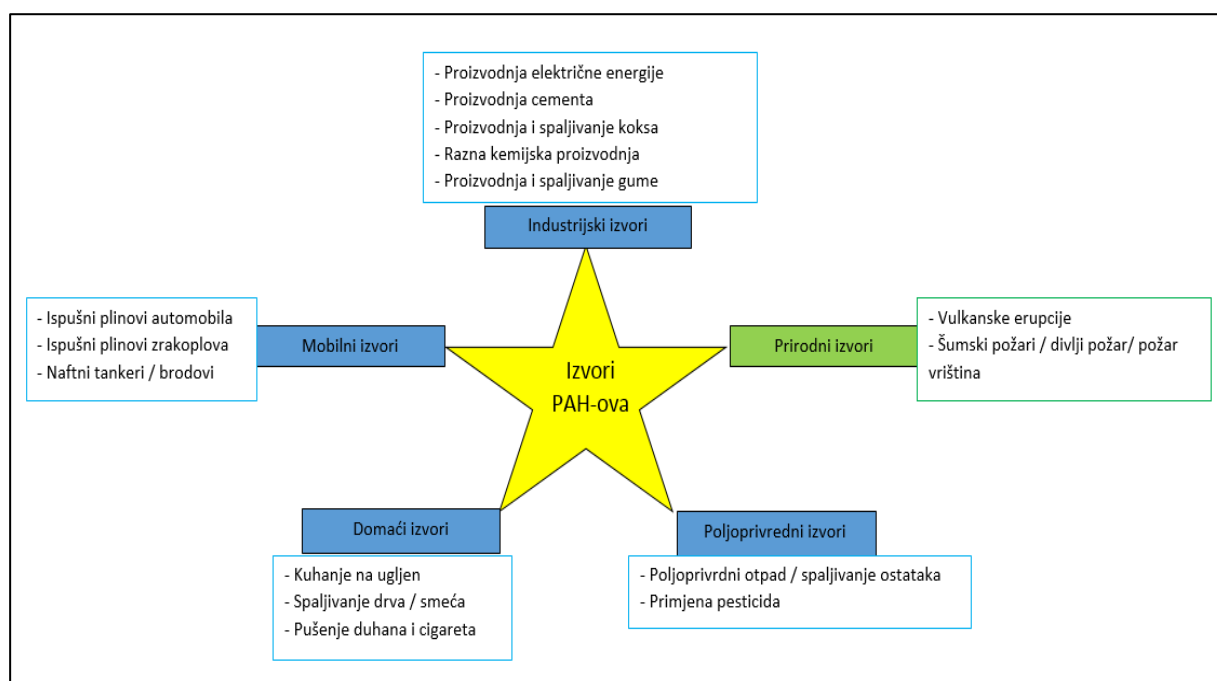
2.6.1. Porijeklo PAH-ova

Izvori onečišćenja PAH-om kategorizirani su uglavnom u dvije kategorije, antropogeni izvori emisije i prirodni izvori emisije. Prirodni izvori emisija kao što su vulkanske erupcije, prirodni šumski požari i požari na močvarnim područjima uzrokovani munjama zanemarivi su ili manje važni (Abdel-Shafy i Mansour, 2016). Antropogeni izvori emisije glavne su determinante onečišćenja PAH-om, koji se mogu podijeliti u četiri tipa, tj. industrijski, mobilni, kućanski i poljoprivredni izvori emisije (Ravindra i sur., 2008). Nepotpuno izgaranje glavni je izvor emisija PAH-ova iz raznih industrijskih aktivnosti kao što su spaljivanje otpada, proizvodnja željeza i čelika, proizvodnja aluminija, proizvodnja cementa, proizvodnja smole od ugljenog katrana, proizvodnja boja, industrija asfalta, proizvodnja guma, proizvodnja fungicida i insekticida, ispušni plinovi iz rafinerija i proizvodnja električne energije (Mojiri i sur., 2013). Ostali industrijski izvori emisija su rasplinjavanje ugljena, elektrolučne peći, peći na kisik, dizelski motor i benzinski motori velikih strojeva. Mobilni izvori emisija uključuju ispušne plinove iz mnogih vozila poput zrakoplova, brodova, vlakova i terenskih teških i lakih vozila (Ravindra i sur., 2008).

Kućanski izvori emisije uključuju aktivnosti u kućanstvu kao što su spaljivanje smeća, koksiranje ugljena, loženje drva, kuhanje na uljnim/plinskim plamenicima i pećima na kerozin/drva i ostalo stambeno grijanje (Gupta i sur., 2016; Ravindra i sur., 2008). Poljoprivredni izvori emisija su spaljivanje biomase na otvorenom i spaljivanje poljoprivrednog

otpada kada se spaljivanje odvija pod uvjetima izgaranja ispod optimalnih (Ravindra i sur., 2008).

Visoko zagađenje PAH-om u ruralnom području uglavnom je posljedica kućanskih i poljoprivrednih izvora, dok je u urbanom području uzrokovano industrijskim, mobilnim i kućanskim izvorima. Koncentracija PAH-ova varira u svim godišnjim dobima; koncentracija je najveća zimi, a zatim slijede proljeće, jesen i ljeto. Viša razina PAH-ova zimi i u proljeće može se pripisati velikoj količini nepotpunog izgaranja fosilnih goriva, povišenom grijanju stambenih objekata, nižoj fotodegradaciji i slaboj difuziji zbog atmosferskih uvjeta poput tihih vjetrova i niske temperature (Miura i sur., 2019). Slika 3 prikazuje različite vrste izvora emisije PAH.



Slika 3. Različite vrste izvora emisije PAH (Patel i sur., 2020)

PAH-ovi su kruti na sobnoj temperaturi i najmanje su hlapljivi od ugljikovodika (vrelišta PAH-ova znatno su viša od onih n-alkana s istim brojem ugljika). Unatoč tome, laki PAH-ovi (2-3 prstena) prisutni su u okolišu uglavnom u obliku pare, dok su teži PAH-ovi (koji sadrže više od pet prstenova) pretežno adsorbirani na organske čestice, obično na male čestice (< 2,5 μm). Visoka mw i odsutnost polarnih supstituentnih skupina čine ove spojeve vrlo netopljivima u vodi, ali prisutnost deterdženta ili organske tvari koja uzrokuje emulzije u vodi, ili PAH-ova adsorbiranih na suspendiranim česticama, može povećati sadržaj PAH-ova u otpadnoj vodi ili u prirodnim vodama. Iako su PAH-ovi kemijski stabilni i slabo se razgrađuju hidrolizom, podložni su oksidaciji i fotodegradaciji, a to je ponašanje posebno relevantno za moguće gubitke tijekom analize.

2.6.2. Izvori PAH-ova zbog dimljenja

PAH su glavni kontaminanti u dimljenim proizvodima od mesa i ribe. Dimljenje na otvorenoj vatri obično rezultira nakupljanjem molekula policikličkih aromatskih ugljikovodika (PAH) u tkivima, međutim tradicionalni mesni proizvodi oduvijek su bili visoko cijenjeni zbog svoje arome. Jedinstvena aroma koju pršut ima, rezultat je tradicionalne proizvodnje i dimljenja na otvorenoj vatri. Stvaraju se karakteristične arome, okusa i mirisa koje su iznimno cijenjene i poželjne. Tradicionalni mesni proizvodi posebno su traženi, a njihova potražnja i ponuda uvijek su velike. Nepotpuno izgaranje drva tijekom postupka dimljenja može rezultirati značajno višim količinama policikličkih aromatskih ugljikovodika od onih koje su propisane zakonom. Toličke količine PAH-ova predstavljaju opasnost za ljudsko zdravlje jer su, prema Međunarodnoj agenciji za istraživanje raka (IARC), neki od njih kancerogeni i mutageni. Osim dimljenja, sva obrada hrane koja uključuje roštiljanje, kuhanje ili pečenje ima tendenciju povećanja kontaminacije prerađene hrane PAH-ovima (Puljić i sur., 2019). Najčešći izvor PAH-ova u hrani je dimljenje (vrsta drva i njegov sadržaj vlage, omotač), ali onečišćenje iz okoliša (ispušni plinovi, šumski požar i drugi procesi skloni izgaranju) također značajno doprinose kontaminaciji hrane. To znači da se sadržaj PAH-ova u mesnim proizvodima može povezati, osim s dimljenjem, i s kontaminacijom hrane za životinje koja se koristi u uzgoju svinja (Puljić i sur., 2019).

Prema trenutnoj Uredbi Europske komisije (EU) br. 835/2011, najveća dopuštena koncentracija BaPa u mesnim proizvodima je 2 µg/kg, dok koncentracija PAH4 ne bi trebala prelaziti 12 µg/kg. Međutim, budući da su tradicionalni mesni proizvodi skloni višim razinama PAH-ova, u takvim proizvodima maksimalna koncentracija BaPa postavljena je na 5 µg/kg, a zbroj PAH4 ograničen je na 30 µg/kg. Uzorci koji su pokazali visoke koncentracije PAH4 i BaP također imaju visoke koncentracije PAH16 vjerojatno zbog intenziteta dima (trajanja i temperature). Dugotrajno dimljenje ili dimljenje s određenom vrstom drva (hrast, bor ili druge vrste mekog drva) može pridonijeti povišenoj razini PAH-ova u mesnim proizvodima (Mastanjević i sur., 2019a).

2.7. DIMLJENJE MESA I NASTANAK PAH-OVA

Zbog velike raznolikosti mesnih proizvoda na europskom tržištu, a prije svega zbog njihove popularnosti u pojedinim zemljama EU, kontrola prisutnosti PAH-ova u ovoj vrsti proizvoda je neophodna kako bi se poboljšala njihova sigurnost i kvaliteta (Hokkanen i sur., 2018). Tijekom tehnološkog procesa proizvodnje *Dalmatinskog* i *Dniškog pršuta* koristi se metoda hladnog

dimljenja, a dobiva se spaljivanjem lišćara ili sječke bukve (*Fagus sp.*), hrasta (*Quercus sp.*) ili graba (*Carpinus sp.*) te lokalnog bilja kada govorimo o Drniškom pršutu. Ako se dimi na tradicionalni način, posebnu pozornost treba obratiti da temperatura u komori za dimljenje ne bude veća od 22 °C. Kao što je prethodno spomenuto, nepoželjni učinak dimljenja je stvaranje kancerogenih PAH-ova (Abdel-Shafy i Mansour, 2016).

Tijekom dimljenja nastaju posebne osjetilne značajke u smislu okusa, boje i arome (derivati fenola, karbonili, organske kiseline). Osim toga, dimljenje poboljšava očuvanje mesa zbog svojih dehidrirajućih, baktericidnih i antioksidativnih svojstava. PAH-ovi su vrlo lipofilni i stoga se mogu naći u mesnim proizvodima podvrgnutim dimljenju. Čimbenici koji ograničavaju pojavu PAH-ova tijekom procesa dimljenja su različiti. Najvažniji čimbenici su sljedeći: tehnika dimljenja, izbor drva, trajanje izlaganja dimu i sama vrsta hrane (Malarut i Vangnai, 2017). Smjernice Codex alimentariusu za optimalno dimljenje treba primijeniti kako bi se smanjile koncentracije PAH-ova u prerađenoj hrani. Europsko tijelo za sigurnost hrane (EFSA) odlučilo je da će se koncentracije benzo[a]pirena (BaP) i zbroj koncentracija četiri PAH-a (benzo[a]piren (BaP), benz[a]antracen (BaA), benzo [b]fluoranten (BbF) i krizen (Chry)) smatrati referencom za određivanje PAH-ova u hrani (EFSA, 2008).

2.8. MOGUĆNOSTI SMANJENJA KONCENTRACIJE PAH-OVA U MESNIM PROIZVODIMA

Istraživanja pokazuju da izravan kontakt hrane s dimom, koji nastaje tijekom izgaranja drveta, dovodi do većeg sadržaja PAH-ova u proizvodu. Dodatno, koncentracija PAH-ova u proizvodu se povećava zbog visoke temperature i produljenja vremena trajanja procesa dimljenja. Visok udio masti i prisutnost prirodnog omotača posebno utječu na razinu kontaminacije proizvoda PAH-ovima. Međutim, postoje metode za smanjenje rizika od stvaranja PAH-ova u hrani. Ključna je optimizacija tehnološkog procesa kroz relevantne metode, vrstu drveta i termičku obradu uz eventualno najnižu temperaturu i najkraće vrijeme. Tri su osnovne varijable koje imaju najveći utjecaj na sadržaj PAH-ova u dimljenim mesnim proizvodima. To su: vrsta ovitka te način i temperatura dimljenja (Ledesma i sur., 2016). Puljić (2022) u svom istraživanju utjecaja temperature dimljenja, vremena dimljenja i vrste drvne piljevine na razine akumulacije policikličkih aromatskih ugljikovodika u izravno dimljenim svinjskim kobasicama dolazi do zaključka da su tehnike hladnog (15-25 °C) dimljenja poželjnije kako bi se izbjegle visoke razine kontaminacije s PAH4. Viša temperatura dimljenja rezultira višim koncentracijama PAH-ova u krajnjem proizvodu. Vrijeme dimljenja je potrebno svesti na minimum, a da je prihvatljivo za senzorska svojstva proizvoda. Primjenom metoda neizravnog dimljenja može se smanjiti sadržaj PAH-ova u dimljenim mesnim proizvodima.

Naime, tradicionalne metode dovode do značajno veće kontaminacije mesnih proizvoda, što je uzrokovano otežanom kontrolom parametara i tijeka procesa (Đinović i sur., 2008). Smanjenje temperature stvaranja dima može biti učinkovita metoda smanjenja razine kontaminacije PAH-ovima, ali to zahtijeva dulje vrijeme dimljenja, veće gubitke mase i nosi rizik od pogoršanja senzornih svojstava, stoga se ne preporučuje smanjenje temperature stvaranja dima ispod 500 °C (Pohlmann i sur., 2013). Korištenje filtera može biti jedno je od rješenja. Essumang i sur. (2013) istraživali su mogućnost uporabe ugljičnih filtera, gdje je sadržaj PAH-ova smanjen u konačnom proizvodu za cca. 30–60 %. Parker i sur. (2017) analizirali su mogućnost korištenja zeolitnih filtera za čišćenje dima. Primjena zeolita u komercijalnoj komori omogućuje smanjenje sadržaja benzo[a]pirena za 90 % i PAH4 za 85 % uz zadržavanje pozitivnih senzornih svojstava (Babić i sur., 2018).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI I METODE

3.1.1. Uzorci

Uzorci pršuta na kojima je provedeno istraživanje bili su proizvedeni od križanaca svinja pasmine Durok × (Jorkšir × Landras). Svinje su uzgajane i tovljene pod istim uvjetima i s prosječnom masom pri klanju od 160 kg. Proizvodnja dimljenog pršuta provodila se u kontroliranim industrijskim uvjetima u pogonu za proizvodnju pršuta, prema specifikaciji za proizvodnju *Dalmatinskog pršuta* sa oznakom Zaštićenog zemljopisnog porijekla (ZOZP), prema postupku opisanome u Poljanec i sur. (2021). Po deset svinjskih butova izuzeto je iz proizvodnog pogona nakon faze zrenja (nakon 12 mjeseci proizvodnje) i produljenog zrenja (18 mjeseci proizvodnje) iz kojih su za potrebe analiza izdvojeni mišići *biceps femoris* (BF) (n=10) i *semimembranosus* (SM) (n=10) (ukupno 20 uzoraka) (slika 4). Uzorci su vakuumirani, označeni i skladišteni na -18 °C do analiza. Svaki uzorak mišića (10 BF i 10 SM) analiziran je u triplikatu te sukladno tome, vrijednosti koncentracija PAH spojeva prikazane u ovom radu predstavljaju srednje vrijednosti paralelnih mjerenja.



Slika 4. Mišići pršuta: *Semimembranosus* (SM), *semitendinosus* (ST), *biceps femoris* (BF) te potkožno masno tkivo (SF)

3.1.2. Standardi i reagensi

Sve kemikalije korištene za potrebe analize bile su HPLC čistoće. Ultračista voda dobivena je pomoću uređaja Milipore water purification system (MiliporeDirect-Q 3 UV, Merck Milipore, Molsheim, Francuska). Korišten je referentni materijal dimljenog mesa T0655QC, FAPAS, SandHutton, Engleska) i standardi 15 PAH spojeva u acetonitrilu (ACN) (SigmaAldrich, Laramie, Wyoming, SAD): Nap (naftalen), Acp (acenaften), Flu, fenantren (Phen), Ant, Flt (flouranten), Py, BaA (benzen(a)ntracen), Chr, BbF, BkF (benz(k)fluoranten), BaP, DbA, BghiPer (benzo(g,h,i)perilen), IP (indeno(1,2,3 cd)piren).

3.2. ODREĐIVANJE POLIČIKLIČKIH AROMATSKIH UGLJIKOVODIKA (PAH)

Primijenjena je metoda visoko učinkovite tekućinske kromatografije s fluorescentnim detekcijom i pročišćavanjem uzorka pomoću gel-permeacijske kromatografije (GPC) koja se zasniva na odvajanju molekula prema veličini molekule, prema opisu. Homogenizirani uzorci se ekstrahiraju diklormetanom, centrifugiraju i filtriraju. Uzorak se pročišćava na GPC sa preparativnim kolonama, a zatim ekstrakt uparava do suha, otapa u acetonitrilu te analizira. Kvantifikacija je provedena visoko učinkovitom tekućinskom kromatografijom s fluorescentnim detektorom primjenom internog standarda (Petričević, 2018).

3.2.1. Priprema sirovog ekstrakta

Prethodno homogeniziranom uzorku mase $1 \pm 0,001$ g, dodano je 50 μ l internog standarda benzo(b)krizena (BbChr) koncentracije 127,75 ng/g i dopunjeno do 4 ml s diklormetanom. Homogenizirano 10 minuta na sobnoj temperaturi, centrifugirano 10 min na 3500 rpm.

3.2.2. Pročišćavanje gel permeacijom GPC

Pročišćavanje gel permeacijskom metodom proveden je na HPLC Agilent 1200 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, SAD) sa Gilson odjeljivačem faza (FC 203B Fraction Collector, Gilson, Inc, Middleton, WI, SAD), dvije preparativne kolone Plgel, PS/DVB, 5 μ m, 50 Å, 600 mm x 7,8mm i.d. (Phenomenex, SAD). Alikvot (400 μ L) je injektiran na HPLC sustav (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, SAD) opremljenim s diode array detektorom (DAD). Pročišćavanje je vršeno izokratnom elucijom s diklormetanom pri brzini protoka od 1,0 ml/min.

Kalibracija GPC je provedena sa standardom pri valnoj duljini od 254 nm. Određen je vremenski prozor hvatanja frakcija od 18-25 minuta. Koristi se frakcioni kolektor GILSON, FC203B. Eluat je koncentriran do suhog na rotacijskom vakuumskom koncentratoru (RCV2-

18HCL, Osterode am Harz, Njemačka) pri 1300 okretaja u minuti tijekom 45 minuta na temperaturi <25 °C. Ostatak je otopljen u 100 µl acetonitrila i filtriran kroz 0,22 µm filtar od PTFE (polietilentereftalat PTFE, Phenomenex, SAD).

3.2.3. Analiza PAH-ova visoko učinkovitom tekućinskom kromatografijom

Analiza PAH-ova provedena je primjenom ultra visoko učinkovitog tekućeg kromatografa (Agilent 1290 Infinity UHPLC, Santa Clara, CA, SAD) opremljenog binarnom gradijentnom pumpom (G4220A), autosamplerom s termostiranim odjeljkom za uzorke (G4226A), termostiranim odjeljkom za kolonu (G1316C) i fluorescencetnim detektorom (G1321B). Razdvajanje spojeva je provedeno korištenjem Hypersil Green PAH C18 analitičke kolone, 150 mm x 3 mm id, veličina čestica 3 µm (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, SAD) pri 30° C. Volumen injektiranja 15 µL, elucija analita sa smjesom acetonitrila (otapalo A) i acetonitril: voda= 50:50 (otapalo B) u modelu gradijenta pri brzini protoka od 0,8 ml/min (Wegrzyn i sur., 2006). Inicijalni sastav bio je 100 % ACN: voda=1:1 i smanjio se na 40 % ACN: voda=1:1 u 20 minuta, s konačnim zadržavanjem od 10 min. Ukupno vrijeme elucije je bilo 35 min. Uvjeti emisije i eksitacije na fluorescencetnom detektoru prikazani su u tablici 2.

Tablica 2. Uvjeti emisije i eksitacije na fluorescentnom detektoru

Spektar ekscitacije: 220-380 nm Spektar emisije: 300-500 nm		
Tablica vremena ekstinkcije:		
Vrijeme (min)	$\lambda_{\text{ekscitacije}}/\lambda_{\text{emisije}}$ nm	PAH
0,0	250/330	-
2,0	270/340	Nap,Acel
7,8	250/310	Ace,Flu
8,60	250/380	Phe,Ant
11,10	250/465	Fla
12,50	270/385	Py,BaA, Chr
17,00	256/466	BbF
19,10	295/400	BkF,BaP,DbA,DP
26,50	300/500	IP
26,80	295/410	BbChr (IS)

Identifikacija pojedinačnih policikličkih aromatskih ugljikovodika odredila se usporedbom vremena zadržavanja (RT) s vremenom zadržavanja standarda uz toleranciju $\pm 2,5 \%$ i usporedbom spektara fluorescencije s pozitivnim kontrolnim uzorkom i/ili snimljenim spektara. Nakon obrade rezultata, količina pojedinačnih PAH-ova izračunata je prema izrazima dolje navedenim i izražena u mikrogramima po kilogramu.

Izračunat je faktor odgovora iz kalibracijske krivulje prema izrazu:

$$RF_A = \frac{A_A \times C_{ISst}}{A_{IS} \times C_{ST}} \quad (1)$$

Srednja vrijednost faktora odgovora za analit izračunata je prema:

$$RF_{Asr} = \frac{\sum_{i=0}^{i=n} RF_A}{n} \quad (2)$$

Zatim je iz površina analita i omjera koncentracija izračunat sadržaj analita u uzorku

$$C_{PAH} = \frac{A_A \times C_{IS} \times f}{A_{IS} \times RF_{Asr} \times m_{uzorka}} \quad (3)$$

A_A – površina pika pojedinog PAH-a

A_{IS} – površina pika internog standarda u uzorku

C_{ST} –koncentracija standarda kalibracijske krivulje $\mu\text{g/kg}$

C_{ISst} –koncentracija standarda kalibracijske krivulje $\mu\text{g/kg}$

C_{IS} –koncentracija internog standarda dodanog uzorku $\mu\text{g/kg}$

n - broj točaka kalibracijske krivulje

f - faktor razrijeđenja (1,1)

m_{uz} – masa uzorka [g]

C_{PAH} – koncentracija pojedinačnog PAHa $\mu\text{g/kg}$

3.3. OBRADA PODATAKA

Statistička analiza provedena je primjenom računalnog programa SPSS 17.0 (SPSS Inc., StatSoft Inc, Tulsa, Oklahoma, SAD). Studentov t-test proveden je u svrhu utvrđivanja razlika u koncentraciji PAH spojeva između dva mišića u pojedinoj fazi proizvodnje, kao i u svrhu utvrđivanja razlika u koncentraciji PAH spojeva između dva vremena zrenja u istom mišiću, uz definiranu statističku značajnost na razini $p < 0,05$. Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost \pm standardna pogreška.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Velika potražnja za suhomesnatim proizvodima, a pogotovo za pršutom razlog je velike kontrole, zdravstvene sigurnosti i ispravnosti prehrambenog proizvoda. Potencijalan rizik predstavljaju upravo PAH spojevi koji su karakteristični za dimljene suhomesnate proizvode, pa tako i *Dalmatinski pršut* koji je bio predmet ovog istraživanja. Rezultati su prikazani kao koncentracija policikličkih aromatskih ugljikovodika koji su izmjereni u 10 uzoraka mišića *biceps femoris* te 10 uzoraka mišića *semimembranosus Dalmatinskog pršuta* s ciljem proučavanja rasta, odnosno pada tih koncentracija u ovisnosti o vremenu zrenja (12 i 18 mjeseci) i položaju mišića. Rezultati su prikazani u tablicama 3 - 11. Tablica 3 prikazuje pojedinačne vrijednosti, srednje vrijednosti i standardne greške koncentracije PAH-ova u mišiću *biceps femoris* (BF), odnosno tablica 4 u mišiću *semimembranosus* (SM) nakon 12 mjeseci zrenja, dok tablice 5 i 6 prikazuju vrijednosti PAH-ova u mišićima BF i SM nakon 18 mjeseci zrenja. U tablici 7 prikazane su koncentracije PAH spojeva u mišićima BF i SM nakon 12 mjeseci zrenja, a u tablici 8 nakon 18 mjeseci zrenja. U tablici 9 uspoređene su koncentracije PAH spojeva mišića BF nakon 12 i 18 mjeseci zrenja, dok su u tablici 10 uspoređene u mišiću SM nakon 12 i 18 mjeseci zrenja. Tablica 11 daje uvid u koncentraciju PAH spojeva u mišićima BF i SM nakon različitog vremena zrenja (12 i 18 mjeseci), uključujući p-vrijednost utjecaja položaja mišića, vremena zrenja te njihovu interakciju.

Kako je prikazano u tablici 3 pokazalo se da je u 10 uzoraka nakon 12 mjeseci zrenja koncentracija PAH-ova u mišiću *biceps femoris* (BF) bila slijedeća: koncentracija naftalena i fenantrena je bila među najvećima, dok su ostali PAH-ovi imali značajno niže koncentracije. Koncentracija naftalena kretala se od 0,63 µg/kg do 4,63 µg/kg; koncentracija fenantrena od 1,52-3,14 µg/kg. Vrijednost acenaftena bila je u rasponu od 0,03 do 0,16 µg/kg. U svih 10 uzoraka fluoren i benzo(k)fluoranten nisu detektirani. Benzo(b)fluoranten je detektiran u samo jednom uzorku od njih 10 i njegova koncentracija je bila 0,04 µg/kg. U 4 od 10 uzoraka nije nađen antracen, dok je u drugim uzorcima njegova najniža koncentracija bila 0,07 µg/kg, a najveća 0,27 µg/kg. Fluoranten nije detektiran u 2 od 10 uzoraka, a koncentracije fluorantena u ostalim uzorcima bile su u rasponu od 0,02 do 0,49 µg/kg. Najniža koncentracija pirena u uzorcima je bila 0,02 µg/kg, dok je najviša bila 0,26 µg/kg. Benz(a)antracen se pojavio u 6 od 10 uzoraka u koncentracijama od 0,04 do 0,17 µg/kg. Krizen je izmjereno u samo 3 uzorka u koncentracijama od 0,01-0,04 µg/kg. Benzo(a)piren se pojavio također u 3 uzorka; 0,01-0,18 µg/kg, dok se benzo(g,h)perilen pojavio u 5 od 10 uzoraka (0,02-0,59 µg/kg). Koncentracije dibenzo(g,h)antracena su zabilježene u 4 uzorka u rasponu od 0,20-0,25 µg/kg. Indeno(g,h,i)piren je uočen u samo 2 uzorka (0,05-0,24 µg/kg).

Količina četiriju PAH-ova u ovim uzorcima, PAH4 (BaP, BaA, BbF, Chr), je imala srednju vrijednost $0,08 \pm 0,03 \mu\text{g/kg}$. Srednja vrijednost PAH8 (BaP, BaA, BbF, Chr, BkF, Bghi, DbA, IP) u ovim uzorcima je $0,38 \pm 0,11 \mu\text{g/kg}$, a PAH15 $5,14 \pm 0,59 \mu\text{g/kg}$.

Tablica 3. Pojedinačne vrijednosti, srednje vrijednosti i standardne greške koncentracije PAH-ova u mišiću *biceps femoris* (BF) nakon 12 mjeseci zrenja

PAH $\mu\text{g/kg}$	12-BF1	12-BF2	12-BF3	12-BF4	12-BF5	12-BF6	12-BF7	12-BF8	12-BF9	12-BF10	Srednja vrijednost	Standardna greška
Naph	4,63	1,07	2,66	2,02	1,97	0,63	1,31	2,36	3,93	2,45	2,30	0,39
Acp	0,10	0,04	0,14	0,04	0,05	0,03	0,12	0,13	0,14	0,16	0,09	0,02
Flu	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Phen	3,14	2,01	1,73	1,97	1,95	1,76	1,57	2,54	1,52	1,64	1,98	0,16
Ant	0,18	0,00	0,07	0,00	0,00	0,00	0,11	0,27	0,07	0,11	0,08	0,03
Flt	0,49	0,32	0,32	0,00	0,08	0,00	0,02	0,26	0,24	0,08	0,18	0,05
Py	0,23	0,26	0,04	0,11	0,05	0,11	0,06	0,26	0,05	0,02	0,12	0,03
BaA	0,17	0,04	0,08	0,00	0,00	0,00	0,09	0,10	0,00	0,00	0,05	0,02
Chr	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,03	0,00	0,00	0,01	0,01
BbF	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
BkF	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
BaP	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,18	0,05	0,01	0,02	0,02
BghiPer	0,02	0,00	0,00	0,45	0,00	0,46	0,00	0,59	0,00	0,07	0,16	0,08
DbA	0,24	0,00	0,21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20	0,25	0,09	0,04
IP	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,23	0,00	0,24	0,00	0,00	0,05	0,03
PAH4	0,21	0,04	0,08	0,00	0,00	0,00	0,13	0,31	0,05	0,01	0,08	0,03
PAH8	0,47	0,04	0,29	0,45	0,00	0,69	0,13	1,13	0,25	0,33	0,38	0,11
PAH15	9,24	3,75	5,24	4,60	4,09	3,23	3,31	6,94	6,21	4,79	5,14	0,59

Tablica 4 prikazuje vrijednosti PAH-ova drugog proučavanog mišića, *semimembranosus* (SM) nakon 12 mjeseci zrenja. Pokazalo se da je u 10 uzoraka nakon 12 mjeseci zrenja koncentracija PAH-ova u mišiću *semimembranosus* (SM) slijedeća: naftalen je detektiran u svim uzorcima u rasponu od 0,46-8,41 µg/kg, acenaften nije pronađen u samo jednom uzorku, a ostali su bili u rasponu od 0,17-0,92 µg/kg. Koncentracija fluorena se kretala od 2,85-6,71 µg/kg. Najveća koncentracija fenantrena iz jednog uzorka je 9,47 µg/kg, dok u tri uzorka nije detektiran. Koncentracija antracena se kretala od 0,51 do 2,50 µg/kg, dok se koncentracija fluorantena kretala od 0,43-3,20 µg/kg. Koncentracija pirena je varirala od 0,09 do 0,81 µg/kg, a koncentracija benz(a)antracen od 0,10 do 1,98 µg/kg. Koncentracija krizena kretala se od 0,01 do 0,51 µg/kg, a benzo(b)fluorantena od 0,01 do 0,47 µg/kg. Benzo(k)fluoranten i benzo(a)piren su nađeni u niskim koncentracijama (0,00-0,04 µg/kg i 0,00-0,28 µg/kg). Benzo(g,h)perilen i dibenzo(g,h)antracen su također imali niske koncentracije (0,00-0,41 µg/kg i 0,00-0,52 µg/kg), a koncentracija indeno(g,h,i)pirena kretala se od 0,03 do 0,85 µg/kg. Količina četiriju PAH-ova u ovim uzorcima, PAH4 (BaP, BaA, BbF, Chr), je imala srednju vrijednost $0,75 \pm 0,24$ µg/kg. Srednja vrijednost PAH8 (BaP, BaA, BbF, Chr, BkF, Bghi, DbA, IP) u ovim uzorcima je $1,59 \pm 0,26$ µg/kg, a PAH15 $16,49 \pm 2,49$ µg/kg.

Tablica 4. Pojedinačne vrijednosti, srednje vrijednosti i standardne greške koncentracije PAH-ova u mišiću *semimembranosus* (SM) nakon 12 mjeseci zrenja

PAH µg/kg	12 mjeseci zrenja										Srednja vrijednost	Standardna greška
	12-SM1	12-SM2	12-SM3	12-SM4	12-SM5	12-SM6	12-SM7	12-SM8	12-SM9	12-SM10		
Nap	4,87	2,83	0,39	8,41	5,24	6,23	5,99	4,00	0,46	6,61	4,50	0,83
Acp	0,00	0,50	0,92	0,46	0,21	0,36	0,19	0,38	0,14	0,17	0,33	0,08
Flu	6,71	0,00	2,85	5,79	4,60	0,00	4,93	5,18	3,92	0,00	3,40	0,81
Phen	9,47	0,29	0,00	8,23	3,36	0,00	7,98	3,94	5,63	0,00	3,89	1,19
Ant	2,04	2,13	0,00	2,50	0,51	0,84	1,46	0,55	0,88	0,00	1,09	0,28
Flt	0,87	3,20	0,00	1,48	0,65	1,66	3,62	0,43	0,84	0,87	1,36	0,37
Py	0,42	0,60	0,14	0,81	0,22	0,00	0,49	0,09	0,46	0,00	0,32	0,09
BaA	0,19	1,98	0,84	0,38	0,29	0,10	0,33	0,19	0,11	0,16	0,46	0,18
Chr	0,02	0,22	0,51	0,01	0,21	0,00	0,00	0,00	0,10	0,00	0,11	0,05
BbF	0,04	0,27	0,01	0,00	0,08	0,00	0,05	0,30	0,04	0,47	0,13	0,05
BkF	0,00	0,01	0,03	0,03	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01	0,00
BaP	0,00	0,28	0,00	0,02	0,00	0,03	0,17	0,00	0,10	0,00	0,06	0,03
BghiPer	0,41	0,00	0,05	0,31	0,03	0,23	0,07	0,18	0,40	0,24	0,19	0,05
DbA	0,00	0,26	0,00	0,14	0,02	0,52	0,31	0,20	0,00	0,00	0,14	0,06
IP	0,67	0,84	0,03	0,57	0,34	0,61	0,18	0,85	0,50	0,32	0,49	0,09
PAH4	0,25	2,74	1,36	0,41	0,58	0,13	0,56	0,49	0,35	0,63	0,75	0,24
PAH8	1,32	3,85	1,47	1,46	0,97	1,53	1,12	1,73	1,25	1,19	1,59	0,26
PAH15	25,71	13,40	5,77	29,15	15,75	10,62	25,78	16,29	13,58	8,85	16,49	2,49

U tablici 5 prikazane su pojedinačne vrijednosti, srednje vrijednosti i standardne greške koncentracije PAH-ova u mišiću *biceps femoris* (BF) nakon 18 mjeseci zrenja. Pokazalo se da je u 10 uzoraka nakon 18 mjeseci zrenja koncentracija PAH-ova u mišiću *biceps femoris* (BF) bila slijedeća: koncentracija naftalena se u čak 7 uzoraka potpuno smanjila, a u ostala 3 uzorka ona je iznosila od 1,42 - 1,68 µg/kg. Koncentracija fenantrena se u većini uzoraka povećala produljenim zrenjem, a bila je u rasponu od do 0,18 do 2,92 µg/kg. Acenafthen je izmjeren u 5/10 uzoraka u rasponu od 0,04 do 0,10 µg/kg. Što se tiče fluorena i benzo(k)fluorantena, njihove koncentracije su se povećale u odnosu na 12 mjeseci zrenja, gdje fenantren i benzo(k)fluorantena nisu detektirani. Nakon 18 mjeseci zrenja koncentracija fenantrena kretala se od 0,22 do 0,72 µg/kg u 8/10 uzorka. Benzo(k)fluoranten je detektiran u 2 uzorka (0,01 i 0,04 µg/kg) Benzo(b)fluoranten je detektiran u 3/10 uzoraka čije su koncentracije od 0,05 do 0,16 µg/kg. Koncentracije antracena bile su u rasponu 0,05-0,22 µg/kg. Koncentracija fluorantena bila je u rasponu od 0,33-1,64 µg/kg a koncentracija pirena 0,01-0,18 µg/kg. Koncentracija benz(a)antracena iznosila je od 0,03 do 0,18 µg/kg. Kod ostalih PAH-ova (krizen, benzo(b)fluoranten, benzo(k)fluoranten, benzo(a)piren, benzo(g,h)perilen, dibenzo(g,h)antracen i indeno(g,h,i)piren) došlo je do smanjenja njihove koncentracije. Srednje vrijednosti i standardne greške koncentracije PAH-ova u mišiću *biceps femoris* (BF) u 10 uzoraka, nakon 18 mjeseci zrenja: \sum PAH4 je imala srednju vrijednost $0,06 \pm 0,02$; \sum PAH8 $0,28 \pm 0,10$; \sum PAH15 $3,13 \pm 0,50$.

Tablica 5. Pojedinačne vrijednosti, srednje vrijednosti i standardne greške koncentracije PAH-ova u mišiću *biceps femoris* (BF) nakon 18 mjeseci zrenja

PAH µg/kg	18-BF										Srednja vrijednost	Standardna greška
	18-BF1	18-BF2	18-BF3	18-BF4	18-BF5	18-BF6	18-BF7	18-BF8	18-BF9	18-BF10		
Nap	0,00	0,00	1,10	1,68	1,42	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,42	0,22
Acp	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,10	0,06	0,06	0,10	0,04	0,01
Flu	0,71	0,22	0,00	0,72	0,45	0,28	0,43	0,47	0,39	0,00	0,37	0,08
Phen	2,58	1,49	2,69	2,92	2,62	0,18	0,29	0,46	0,47	1,39	1,51	0,35
Ant	0,00	0,00	0,22	0,17	0,00	0,07	0,00	0,00	0,05	0,00	0,05	0,03
Flt	0,00	0,00	0,38	0,46	0,00	0,33	1,64	1,01	0,16	0,00	0,40	0,17
Py	0,00	0,00	0,07	0,13	0,01	0,06	0,18	0,07	0,07	0,12	0,07	0,02
BaA	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,18	0,03	0,02
Chr	0,00	0,00	0,00	0,08	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01	0,01
BbF	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,16	0,00	0,02	0,02
BkF	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,04	0,00	0,01	0,00
BaP	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
BghiPe r	0,00	0,06	0,00	0,25	0,00	0,37	0,06	0,00	0,10	0,18	0,10	0,04
DbA	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17	0,26	0,00	0,00	0,21	0,06	0,03
IP	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,31	0,00	0,00	0,20	0,04	0,05	0,03
PAH4	0,00	0,00	0,00	0,12	0,00	0,05	0,03	0,02	0,16	0,18	0,06	0,02
PAH8	0,00	0,06	0,00	0,37	0,00	0,90	0,36	0,02	0,50	0,61	0,28	0,10
PAH15	3,29	1,77	4,46	6,46	4,51	1,86	2,98	2,09	1,70	2,22	3,13	0,50

U tablici 6 prikazane su koncentracije PAH-ova za mišić *semimembranosus* nakon 18 mjeseci zrenja. U uzorcima u kojima je naftalen detektiran, koncentracija se kretala od 2,10 do 2,87 µg/kg, što je oko 3 puta manje nego nakon 12 mjeseci. Došlo je do blagog povećanja koncentracije fluorena. Koncentracije u uzorcima u kojima je izmjeren (8/10) su bile od 2,23 do 7,63 µg/kg. Fenantren je pronađen u svim uzorcima u koncentracijama od 2,03 do 6,98 µg/kg, dok je koncentracija acenaftena bila u rasponu 0,06-0,82 µg/kg. Antracen se nije značajno mijenjao u odnosu na 12 mjeseci zrenja. Piren je pronađen u svim uzorcima u rasponu od 0,04 do 0,37 µg/kg, dakle došlo je do povećanja u odnosu nakon 12 mjeseci zrenja. Ostali PAH-ovi (benz(a)antracen, krizen, benzo(b)fluoranten, benzo(k)fluoranten, benzo(a)piren, benzo(g,h)perilen, dibenzo(g,h)antracen, indeno(g,h,i)piren) su se značajno smanjili; njihova pojedinačna srednja vrijednost ne prelazi 0,10 µg/kg.

Tablica 6. Pojedinačne vrijednosti, srednje vrijednosti i standardne greške koncentracije PAH-ova u mišiću *semimembranosus* (SM) nakon 18 mjeseci zrenja

PAH µg/kg	18 mjeseci zrenja										Srednja vrijednost	Standardna greška
	18-SM1	18-SM2	18-SM3	18-SM4	18-SM5	18-SM6	18-SM7	18-SM8	18-SM9	18-SM10		
Nap	2,83	2,21	2,83	2,10	2,87	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,28	0,44
Acp	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,76	0,34	0,82	0,69	0,06	0,27	0,11
Flu	3,17	5,68	4,16	2,23	2,43	0,00	0,00	7,63	0,00	7,35	3,27	0,92
Phen	3,36	3,46	2,03	3,13	5,51	3,11	4,58	4,00	6,98	3,40	3,96	0,45
Ant	1,10	1,91	1,79	2,34	0,00	0,84	2,23	0,00	2,49	0,00	1,27	0,32
Flt	0,92	0,35	1,09	1,56	0,32	0,55	1,53	0,15	1,76	0,30	0,85	0,19
Py	0,21	0,19	0,18	0,22	0,26	0,37	0,35	0,04	0,24	0,15	0,22	0,03
BaA	0,06	0,00	0,05	0,09	0,00	0,00	0,24	0,00	0,24	0,00	0,07	0,03
Chr	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,12	0,00	0,02	0,01
BbF	0,00	0,00	0,03	0,00	0,04	0,11	0,01	0,00	0,00	0,21	0,04	0,02
BkF	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
BaP	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,01	0,00
BghiPer	0,00	0,00	0,00	0,38	0,00	0,04	0,02	0,08	0,12	0,09	0,07	0,04
DbA	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16	0,10	0,29	0,00	0,00	0,05	0,03
IP	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,59	0,42	0,10	0,07
PAH4	0,14	0,00	0,12	0,09	0,04	0,11	0,27	0,00	0,38	0,21	0,14	0,04
PAH8	0,14	0,00	0,12	0,47	0,04	0,31	0,39	0,38	1,08	0,72	0,37	0,11
PAH15	11,73	13,79	12,20	12,05	11,44	5,94	9,42	13,01	13,24	11,98	11,48	0,72

U tablici 7 prikazana je koncentracija PAH spojeva u mišićima BF i SM nakon 12 mjeseci zrenja. Gledajući srednje vrijednosti, može se uočiti značajno veće koncentracije kod mišića SM, u odnosu na mišić BF nakon jednakog vremena zrenja. Razlog tomu je njegov vanjski položaj koji je kao takav više izložen vanjskim uvjetima (temperatura, dimljenje), dok mišić BF štiti potkožni sloj masnog tkiva koji akumulira lipofilne PAH-ove i sprječava njihov prolazak. Na osnovu statističke obrade može se zaključiti da je u ovisnosti o položaju mišića došlo do statistički značajne razlike ($p < 0,05$) u koncentraciji pojedinih PAH spojeva. SM kao vanjski mišić izložen je vanjskim utjecajima te jačem dimljenju te je tako pokazao veće koncentracije naftalena, acenaftena, fluorena, antracena, fluorantena, pirena, benz(a)antracena, benzo(b)fluorantena i benzo(k)fluorantena u odnosu na mišić BF. Gledajući zbroj PAH4, PAH8 i PAH15 postoji statistički značajna razlika ($p < 0,05$) između BF i SM nakon 12 mjeseci zrenja te su veće koncentracije zabilježene upravo u uzorcima SM. PAH15 je 3 puta veći u SM mišiću u odnosu na BF.

Tablica 7. Koncentracije PAH spojeva u mišićima *biceps femoris* (BF) i *semimembranosus* (SM) nakon 12 mjeseci zrenja i njihova *p*-vrijednost

PAH µg/kg	BF	SM	<i>p</i> -vrijednost
Naftalen	2,30 ± 0,39 ^a	4,50 ± 0,83 ^b	0,027
Acenaften	0,09 ± 0,02 ^a	0,33 ± 0,08 ^b	0,010
Fluoren	0,00 ± 0,00 ^a	3,40 ± 0,81 ^b	0,001
Fenantren	1,98 ± 0,16	3,89 ± 1,19	0,131
Antracen	0,08 ± 0,03 ^a	1,09 ± 0,28 ^b	0,002
Fluoranten	0,18 ± 0,05 ^a	1,36 ± 0,37 ^b	0,006
Piren	0,12 ± 0,03 ^a	0,32 ± 0,09 ^b	0,039
Benz(a)antracen	0,05 ± 0,02 ^a	0,46 ± 0,18 ^b	0,039
Krizen	0,01 ± 0,01	0,11 ± 0,05	0,074
Benzo(b)fluoranten	0,00 ± 0,00 ^a	0,13 ± 0,05 ^b	0,029
Benzo(k)fluoranten	0,00 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^b	0,025
Benzo(a)piren	0,02 ± 0,02	0,06 ± 0,03	0,321
Benzo(g,h)perilen	0,16 ± 0,08	0,19 ± 0,05	0,717
Dibenzo(g,h)antracen	0,09 ± 0,04	0,14 ± 0,06	0,424
Indeno(g,h,i)piren	0,05 ± 0,03 ^a	0,49 ± 0,09 ^b	0,000
PAH4	0,08 ± 0,03 ^a	0,75 ± 0,24 ^b	0,015
PAH8	0,38 ± 0,11 ^a	1,59 ± 0,26 ^b	0,000
PAH15	5,14 ± 0,59 ^a	16,49 ± 2,49 ^b	0,000

^{a,b}Različita slova u istom retku označavaju statistički značajnu razliku ($p < 0,05$)

U tablici 8 prikazana je koncentracija PAH spojeva u mišićima BF i SM nakon 18 mjeseci zrenja. Na osnovu statističke obrade može se zaključiti da je u ovisnosti o položaju mišića došlo do statistički značajne razlike ($p < 0,05$) u koncentraciji pojedinih PAH spojeva. Fluoren, fenantren, antracen i piren su pokazali statistički značajnu razliku ($p < 0,05$) u ovisnosti o položaju mišića te je veća koncentracija zabilježena u mišiću SM u odnosu na BF. Zbroj PAH4 i PAH8 nisu pokazali statistički značajnu razliku ($p < 0,05$) između BF i SM nakon 18 mjeseci zrenja, dok je PAH15 bio statistički značajno veći ($p < 0,05$) za SM mišić.

Tablica 8. Koncentracije PAH spojeva u mišića mišićima *biceps femoris* (BF) i *semimembranosus* (SM) nakon 18 mjeseci zrenja i njihova *p*-vrijednost

PAH µg/kg	BF	SM	p-vrijednost
Naftalen	0,42 ± 0,22	1,28 ± 0,44	0,093
Acenaften	0,04 ± 0,01	0,27 ± 0,11	0,056
Fluoren	0,37 ± 0,08 ^a	3,27 ± 0,92 ^b	0,006
Fenantren	1,51 ± 0,35 ^a	3,96 ± 0,45 ^b	0,000
Antracen	0,05 ± 0,03 ^a	1,27 ± 0,32 ^b	0,001
Fluoranten	0,40 ± 0,17	0,85 ± 0,19	0,092
Piren	0,07 ± 0,02 ^a	0,22 ± 0,03 ^b	0,000
Benz(a)antracen	0,03 ± 0,02	0,07 ± 0,03	0,238
Krizen	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,442
Benzo(b)fluoranten	0,02 ± 0,02	0,04 ± 0,02	0,493
Benzo(k)fluoranten	0,01 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,229
Benzo(a)piren	0,00 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,177
Benzo(g,h)perilen	0,10 ± 0,04	0,07 ± 0,04	0,601
Dibenzo(g,h)antracen	0,06 ± 0,03	0,05 ± 0,03	0,847
Indeno(g,h,i)piren	0,05 ± 0,03	0,10 ± 0,07	0,547
PAH4	0,06 ± 0,02	0,14 ± 0,04	0,088
PAH8	0,28 ± 0,10	0,37 ± 0,11	0,576
PAH15	3,13 ± 0,50 ^a	11,48 ± 0,72 ^b	0,000

^{a,b}Različita slova u istom retku označavaju statistički značajnu razliku ($p < 0,05$)

U tablici 9 prikazane su koncentracije PAH spojeva u mišiću *biceps femoris* (BF) nakon 12 i nakon 18 mjeseci zrenja te p-vrijednosti. Statistički značajnu razliku ($p < 0,05$) su pokazali naftalen, acenaften i fluoren. Fluoren se povećao produljenim zrenjem (18 mjeseci), dok su se naftalen i acenaften smanjili. Zbroj svih PAH-ova (PAH15) bio je također statistički značajno manji ($p < 0,05$) nakon produljenog zrenja u istom mišiću BF. Iz toga možemo zaključiti da produljeno zrenje može povoljno utjecati na smanjenje PAH-ova u BF mišiću.

Tablica 9. Koncentracije PAH spojeva u mišiću *biceps femoris* (BF) nakon 12 i 18 mjeseci zrenja i njihova *p-vrijednost*

PAH µg/kg	12 mjeseci	18 mjeseci	<i>p-vrijednost</i>
Naftalen	2,30 ± 0,39 ^b	0,42 ± 0,22 ^a	0,001
Acenaften	0,09 ± 0,02 ^b	0,04 ± 0,01 ^a	0,010
Fluoren	0,00 ± 0,00 ^a	0,37 ± 0,08 ^b	0,000
Fenantren	1,98 ± 0,16	1,51 ± 0,35	0,236
Antracen	0,08 ± 0,03	0,05 ± 0,03	0,444
Fluoranten	0,18 ± 0,05	0,40 ± 0,17	0,240
Piren	0,12 ± 0,03	0,07 ± 0,02	0,192
Benz(a)antracen	0,05 ± 0,02	0,03 ± 0,02	0,387
Krizen	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,831
Benzo(b)fluoranten	0,00 ± 0,00	0,02 ± 0,02	0,322
Benzo(k)fluoranten	0,00 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,229
Benzo(a)piren	0,02 ± 0,02	0,00 ± 0,00	0,200
Benzo(g,h)perilen	0,16 ± 0,08	0,10 ± 0,04	0,514
Dibenzo(g,h)antracen	0,09 ± 0,04	0,06 ± 0,03	0,608
Indeno(g,h,i)piren	0,05 ± 0,03	0,05 ± 0,03	0,866
PAH4	0,08 ± 0,03	0,06 ± 0,02	0,508
PAH8	0,38 ± 0,11	0,28 ± 0,10	0,520
PAH15	5,14 ± 0,59 ^b	3,13 ± 0,50 ^a	0,018

^{a,b}Različita slova u istom retku označavaju statistički značajnu razliku ($p < 0,05$)

U tablici 10 prikazane su koncentracije PAH spojeva u mišiću *semimembranosus* (SM) nakon 12 i nakon 18 mjeseci zrenja te p-vrijednost. Iz zbroja svih PAH15, PAH8 i PAH4 (0,14; 0,37; 11,48 µg/kg) vidi se da je srednja vrijednost tih parametara manja u odnosu na isti mišić nakon 12 mjeseci zrenja (0,75; 1,59; 16,49 µg/kg). Zaključak je da se produljenim zrenjem može smanjiti vrijednost ukupnih PAH-ova. Međutim, pojedini PAH-ovi se povećavaju produljenim zrenjem. Nakon 18 mjeseci zrenja, najviše zabilježene koncentracije su fluorenu i fenantrenu, dok je nakon 12 mjeseci zrenja najvišu koncentraciju imao naftalen. Dakle, koncentracija naftalena se smanjila, u nekim uzorcima i potpuno (5/10 uzoraka). Statistički značajnu razliku ($p < 0,05$) su pokazali naftalen, benz(a)antracen, benzo(k)fluoranten i indeno(g,h,i)piren, čije su vrijednosti bile manje nakon produljenog zrenja. PAH 4 i PAH8 su pokazali statistički značajnu razliku ($p < 0,05$); smanjili su se produljenim zrenjem. Dakle utjecaj dužeg zrenja na mišić SM, osim na aromu, okus i miris, može utjecati i na smanjenje PAH-ova.

Tablica 10. Koncentracije PAH spojeva u mišiću *semimembranosus* (SM) nakon 12 i 18 mjeseci zrenja i njihova *p-vrijednost*

PAH (µg/kg)	12 mjeseci	18 mjeseci	<i>p-vrijednost</i>
Naftalen	4,50 ± 0,83 ^b	1,28 ± 0,44 ^a	0,003
Acenaften	0,33 ± 0,08	0,27 ± 0,11	0,640
Fluoren	3,40 ± 0,81	3,27 ± 0,92	0,915
Fenantren	3,89 ± 1,19	3,96 ± 0,45	0,959
Antracen	1,09 ± 0,28	1,27 ± 0,32	0,681
Fluoranten	1,36 ± 0,37	0,85 ± 0,19	0,241
Piren	0,32 ± 0,09	0,22 ± 0,03	0,281
Benz(a)antracen	0,46 ± 0,18 ^b	0,07 ± 0,03 ^a	0,050
Krizen	0,11 ± 0,05	0,02 ± 0,01	0,130
Benzo(b)fluoranten	0,13 ± 0,05	0,04 ± 0,02	0,141
Benzo(k)fluoranten	0,01 ± 0,00 ^b	0,00 ± 0,00 ^a	0,025
Benzo(a)piren	0,06 ± 0,03	0,01 ± 0,00	0,095
Benzo(g,h)perilen	0,19 ± 0,05	0,07 ± 0,04	0,065
Dibenzo(g,h)antracen	0,14 ± 0,06	0,05 ± 0,03	0,179
Indeno(g,h,i)piren	0,49 ± 0,09 ^b	0,10 ± 0,07 ^a	0,002
PAH4	0,75 ± 0,24 ^b	0,14 ± 0,04 ^a	0,023
PAH8	1,59 ± 0,26 ^b	0,37 ± 0,11 ^a	0,000
PAH15	16,49 ± 2,49	11,48 ± 0,72	0,069

^{a,b}Različita slova u istom retku označavaju statistički značajnu razliku ($p < 0,05$)

Koncentracija PAH spojeva u mišićima BF i SM nakon različitog vremena zrenja (12 i 18 mjeseci), uz utjecaj položaja mišića (M), vremena zrenja (T) te njihove interakcije (M x T) prikazana je u tablici 11.

Tablica 11. Koncentracija PAH spojeva u mišićima *biceps femoris* (BF) i *semimembranosus* (SM) nakon različitog vremena zrenja (12 i 18 mjeseci)

PAH ($\mu\text{g}/\text{kg}$)		Vrijeme zrenja		<i>p</i> -vrijednosti dobivene GLM analizom		
		12 mjeseci	18 mjeseci	Mišić (M)	Vrijeme zrenja (T)	M x T
Naftalen	BF	2,30 \pm 0,39 ^{b,1}	0,42 \pm 0,22 ^{a,1}	0,006*	<0,001*	0,206
	SM	4,50 \pm 0,83 ^{b,2}	1,28 \pm 0,44 ^{a,2}			
Acenaften	BF	0,09 \pm 0,02 ¹	0,04 \pm 0,01 ¹	0,002	0,379	0,960
	SM	0,33 \pm 0,08 ²	0,27 \pm 0,11 ²			
Fluoren	BF	0,00 \pm 0,00 ^{a,1}	0,37 \pm 0,08 ^{b,1}	<0,001	0,850	0,686
	SM	3,40 \pm 0,81 ²	3,27 \pm 0,92 ²			
Fenantren	BF	1,98 \pm 0,16 ¹	1,51 \pm 0,35 ¹	0,002	0,761	0,688
	SM	3,89 \pm 1,19 ²	3,96 \pm 0,45 ²			
Antracen	BF	0,08 \pm 0,03 ¹	0,05 \pm 0,03 ¹	<0,001	0,731	0,630
	SM	1,09 \pm 0,28 ²	1,27 \pm 0,32 ²			
Fluoranten	BF	0,18 \pm 0,05 ¹	0,40 \pm 0,17 ¹	0,001	0,526	0,120
	SM	1,36 \pm 0,37 ²	0,85 \pm 0,19 ²			
Piren	BF	0,12 \pm 0,03 ¹	0,07 \pm 0,02 ¹	0,001	0,136	0,587
	SM	0,32 \pm 0,09 ²	0,22 \pm 0,03 ²			
Benz(a)antracen	BF	0,05 \pm 0,02 ¹	0,03 \pm 0,02 ¹	0,021	0,034	0,058
	SM	0,46 \pm 0,18 ^{b,2}	0,07 \pm 0,03 ^{a,2}			
Križen	BF	0,01 \pm 0,01	0,01 \pm 0,01	0,049	0,135	0,118
	SM	0,11 \pm 0,05	0,02 \pm 0,01			
Benzo(b)fluoranten	BF	0,00 \pm 0,00 ¹	0,02 \pm 0,02 ¹	0,021	0,244	0,085
	SM	0,13 \pm 0,05 ²	0,04 \pm 0,02 ²			
Benzo(k)fluoranten	BF	0,00 \pm 0,00	0,01 \pm 0,00	0,276	0,276	0,011
	SM	0,01 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00			
Benzo(a)piren	BF	0,02 \pm 0,02 ^b	0,00 \pm 0,00 ^a	0,245	0,035	0,404
	SM	0,06 \pm 0,03 ^b	0,01 \pm 0,00 ^a			

Tablica 11. nastavak Koncentracija PAH spojeva u mišićima *biceps femoris* (BF) i *semimembranosus* (SM) nakon različitog vremena zrenja (12 i 18 mjeseci) – nastavak

Benzo(g,h)perilen	BF	0,16 ± 0,08	0,10 ± 0,04	0,970	0,102	0,558
	SM	0,19 ± 0,05	0,07 ± 0,04			
Dibenzo(g,h)antracen	BF	0,09 ± 0,04	0,06 ± 0,03	0,575	0,163	0,437
	SM	0,14 ± 0,06	0,05 ± 0,03			
Indeno(g,h,i)piren	BF	0,05 ± 0,03 ¹	0,05 ± 0,03 ¹	0,000	0,003	0,002*
	SM	0,49 ± 0,09 ^{b,2}	0,10 ± 0,07 ^{a,2}			
PAH4	BF	0,08 ± 0,03 ^{b,1}	0,06 ± 0,02 ^{a,1}	0,005*	0,015*	0,025*
	SM	0,75 ± 0,24 ^{b,2}	0,14 ± 0,04 ^{a,2}			
PAH8	BF	0,38 ± 0,11 ^{b,1}	0,28 ± 0,10 ^{a,1}	<0,001	<0,001*	0,001*
	SM	1,59 ± 0,26 ^{b,2}	0,37 ± 0,11 ^{a,2}	*		
PAH15	BF	5,14 ± 0,59 ^{b,1}	3,13 ± 0,50 ^{a,1}	<0,001	0,014*	0,274
	SM	16,49 ± 2,49 ^{b,2}	11,48 ± 0,72 ^{a,2}	*		

^{a-b} Različita slova označavaju statistički značajnu razliku između faza proizvodnje ($p < 0,05$; Tukey HSD test) (razlike između faza proizvodnje) ¹⁻² različite brojke označavaju statistički značajnu razliku između mišića u istoj fazi proizvodnje (Studentov t-test; $p < 0,05$) (razlike između mišića u istoj fazi proizvodnje)

Iz tablice 11 možemo uočiti veće koncentracije u SM mišiću u odnosu na BF za skoro sve PAH-ove. Razlog tih većih vrijednosti je upravo vanjski položaj SM, što znači da je u izravnom kontaktu sa zrakom, atmosferskim utjecajima, soli (koja pogoduje dehidriranju pršuta) i dimljenju. Svi ti čimbenici pogoduju većoj koncentraciji PAH spojeva. S obzirom da je BF unutarnji mišić, manje je izložen prethodno navedenim parametrima od SM, što rezultira manjim koncentracijama skoro svih PAH spojeva u BF mišiću. Također, iz tablice 9 može se uočiti veće vrijednosti PAH-ova nakon procesa zrenja u trajanju od 12 mjeseci tj. produljeno zrenje (18 mjeseci) rezultiralo je smanjenjem gotovo svih PAH spojeva. Što se tiče interakcija mišića i vremena zrenja (M x T), rezultati su pokazali da je njihova interakcija statistički značajna ($p < 0,05$) kod benzo(k)fluorantena, indeno(g,h,i)pirena, PAH4 i PAH8.

Rezultati istraživanja pokazuju prevalenciju lakih PAH-ova u odnosu na teške, što je u skladu s ranijim istraživanjima (Škrbić i sur., 2014; Gomes i sur., 2013; Alomirah i sur., 2011; Lorenzo i sur., 2011) o PAH profilima u suhomesnatim proizvodima.

Koncentracija naftalena pokazala je statistički značajnu razliku ($p < 0,05$) u ovisnosti o položaju mišića te vremenu zrenja. Veće vrijednosti nađene su SM mišiću (4,50 i 1,28 $\mu\text{g}/\text{kg}$) u odnosu na BF (2,30 i 0,42 $\mu\text{g}/\text{kg}$) neovisno o vremenu zrenja. Veće vrijednosti u SM mišiću rezultat su vanjskog položaja mišića te većoj izloženosti vanjskim utjecajima pa tako i dimljenju. Što se duljine zrenja tiče produljeno zrenje u trajanju od 18 mjeseci rezultiralo je smanjenjem

koncentracije naftalena u oba mišića (BF sa 2,30 na 0,42 µg/kg; SM sa 4,50 na 1,28 µg/kg). U istraživanju Poljanec i suradnika (2019), analizirani su PAH-ovi u 4 hrvatska pršuta (*Istarski, Dalmatinski, Krčki i Drniški*) te su nađene prosječne koncentracije naftalena od 0,14-0,26 µg/kg u Krčkom i Drniškom pršutu što su niže koncentracije od rezultata ovog istraživanja. Naftalen je bio najrasprostranjeniji PAH u uzorcima tradicionalno dimljenog Hercegovačkog pršuta od prosječno 1,14 µg/kg - 2,13 µg/kg (Nadaždi, 2020). U uzorcima Slavonske šunke naftalen je izmjeren u koncentracijama od 0,00 (11/30 uzoraka) do 19,39 µg/kg (Mastanjević i sur. 2019b). Položaj mišića je pokazao statistički značajnu razliku u koncentraciji acenaftena ($p < 0,05$) te je SM mišić imao višu koncentraciju (0,33 i 0,27 µg/kg) od mišića BF (0,09 i 0,04 µg/kg) dok produljeno zrenje nije pokazalo statistički značajnu razliku. Koncentracija acenaftena u ovom istraživanju je manja od prosječne koncentracije acenaftena hrvatskih vrsta pršuta iz istraživanja Poljanec i suradnika (2019) (1,56-3,95 µg/kg). U Hercegovačkom pršutu prosječne koncentracije acenaftena kretale su se od 0,02 do 0,35 µg/kg (Nadaždi, 2020), dok je u uzorcima Slavonske šunke, antracen bio ispod granica kvantifikacije, a njegova maksimalna vrijednost u jednom uzorku je 19,90 µg/kg (Mastanjević i sur., 2019b).

Položaj mišića također je imao statistički značajan utjecaj ($p < 0,05$) na koncentraciju fluorena. Veća koncentracija nađena je u mišiću SM (3,40 i 3,27 µg/kg) nego u BF mišiću (0,00-0,37 µg/kg), dok trajanje zrenja nije utjecalo na njegovu koncentraciju. Poljanec i sur. (2019) su izmjerili niže prosječne razine fluorena u 4 hrvatska pršuta (od 0,14 do 0,32 µg/kg) u usporedbi s ovim istraživanjem. Prosječne razine fluorena u Hercegovačkim pršutima bile su niže u usporedbi s ovim istraživanjem; od 0,20 µg/kg 0,69 µg/kg (Nadaždi, 2020), dok je fluoren kvantificiran u svim uzorcima Slavonske šunke u rasponu od 7,33 µg/kg do 44,26 µg/kg (Mastanjević i sur., 2019b), što je znatno više nego u ovom istraživanju.

Koncentracija fenantrena pokazala je statistički značajnu razliku ($p < 0,05$) s obzirom na mišić. Veće koncentracije pronađene su SM mišiću (3,89 i 3,96 µg/kg) za razliku od BF (1,98 i 1,51 µg/kg). Vrijeme zrenja nije značajno utjecalo na koncentracije fenantrena. U 4 hrvatska pršuta, prosječne koncentracije fenantrena (1,18-2,81 µg/kg) (Poljanec i sur., 2019) malo su niže u odnosu na rezultate ovog istraživanja, dok se koncentracija u Hercegovačkom pršutu kretala između 0,02 i 0,73 µg/kg (Nadaždi, 2020), a u Slavonskoj šunki od 1,65 µg/kg do 27,11 µg/kg (Mastanjević i sur., 2019b).

Koncentracije antracena pokazuju statistički značajne razlike ($p < 0,05$) u ovisnosti o položaju mišića (BF 0,08 i 0,05 µg/kg, a SM 1,09 i 1,27 µg/kg). Nije postojala statistička značajna razlika u ovisnosti o vremenu zrenja. U 4 hrvatska pršuta vrijednosti za antracen su slične ovom istraživanju; maksimalne koncentracije antracena su bile 1,25 µg/kg u Drniškom pršutu (Poljanec i sur., 2019), dok su koncentracije antracena bile od 0,95 µg/kg do 1,93 µg/kg u Hercegovačkom pršutu (Nadaždi, 2020). U Slavonskoj šunki, raspon vrijednosti za antracen je znatno veći od našeg istraživanja od 33,38 do 228,03 µg/kg (Mastanjević i sur., 2019b).

Analiza koncentracije fluorantena ukazuje na statistički značajne razlike ($p < 0,05$) na temelju tipa mišića. BF mišić ima znatno manju koncentraciju fluorantena (0,18 i 0,40 $\mu\text{g}/\text{kg}$) od SM mišića (1,36 i 0,85 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Vrijeme zrenja nije statistički značajno utjecalo na koncentracije fluorantena. U hrvatskim vrstama pršutima, koncentracije fluorantena bile su od 0,40 do 0,80 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Poljanec i sur., 2019) što je u skladu s ovim istraživanjem. U Hercegovačkom pršutu, koncentracija fluorantena je bila od 0,00 do 0,17 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Nadaždi, 2020), a u Slavonskoj šunki od 3,76 do 26,30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Mastanjević i sur., 2019b). Koncentracije pirena pokazuju statističke razlike ($p < 0,05$) na temelju tipa mišića neovisno o vremenu zrenja, s višim koncentracijama u SM mišiću (0,32 i 0,22 $\mu\text{g}/\text{kg}$) nego u BF (0,12 i 0,07 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Nije se pokazala statistička značajnost s obzirom na vrijeme zrenja. Koncentracija pirena u istraživanju Poljanec i sur. (2019) bila je nešto viša (0,30 do 0,61 $\mu\text{g}/\text{kg}$), dok u uzorcima Hercegovačkog pršuta piren nije kvantificiran (Nadaždi, 2020). U Slavonskoj šunki, piren je bio ispod granica kvantifikacije u većini uzoraka, a u uzorcima u kojima se pojavio maksimalna koncentracija bila mu je 6,81 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Koncentracije benz(a)antracena pokazuju statistički značajne razlike na temelju tipa mišića. ($p < 0,05$). Veće koncentracije su bile u SM (0,46 i 0,07 $\mu\text{g}/\text{kg}$) nego u BF (0,05 i 0,03 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Pokazala se i statistička značajnost ($p < 0,05$) s obzirom na vrijeme zrenja. Koncentracija u SM mišiću smanjila se sa 0,46 na 0,07 $\mu\text{g}/\text{kg}$ nakon produljenog zrenja. U istraživanju Poljanec i sur. (2019) u 4 hrvatska pršuta benz(a)antracen nije bio kvantificiran. U Hercegovačkom pršutu, koncentracije su bile više od 0,82 do 3,04 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Nadaždi, 2020), dok se u tradicionalno dimljenoj Slavonskoj šunki benz(a)antracen kretao od 0,00 do 54,03 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Mastanjević i sur., 2019b). Bogdanović i sur. (2019) u svom istraživanju navode prosječnu vrijednost za benz(a)antracen u 3 uzorka suho sušene šunke; 0,20 $\mu\text{g}/\text{kg}$, što je u skladu s rezultatima ovog istraživanja. Što se koncentracije krizena tiče nije postojala statistički značajna razlika u ovisnosti mišića i vremena zrenja. Iz istraživanja Poljanec i sur. (2019), ukupne prosječne razine krizena iz 4 hrvatska pršuta kretale su se 0,19-0,26 $\mu\text{g}/\text{kg}$, dok su u ovom istraživanju zabilježene niže vrijednosti (0,01-0,11 $\mu\text{g}/\text{kg}$). U Hercegovačkom pršutu najveća prosječna koncentracija krizena iznosila je 0,46 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Nadaždi, 2020), u sušenoj šunki; 0,38 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Bogdanović i sur. 2019), dok je u Slavonskoj šunki krizen detektiran u samo jednom uzorku (Mastanjević i sur., 2019b).

Uočene su statistički značajne razlike u koncentracijama benzo(b)fluorantena na temelju tipa mišića, s višim razinama u SM mišiću (0,13 i 0,04 $\mu\text{g}/\text{kg}$) nego u BF mišiću (0,00 i 0,2 $\mu\text{g}/\text{kg}$) neovisno o vremenu zrenja. Srednja vrijednost benzo(b)fluorantena bila je viša u 4 hrvatska pršuta, a kretala se od 0,16-0,31 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Poljanec i sur., 2019). U Hercegovačkom pršutu koncentracije benzo(b)fluorantena su se kretale od 0,00 do 1,07 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Nadaždi, 2020). U Slavonskoj šunki je bio ispod granica kvantifikacije u svim uzorcima (Mastanjević i sur., 2019b). Bogdanović i sur. (2019) u svom istraživanju navode, sličnu našem istraživanju, prosječnu

vrijednost za sušenu šunku od 0,10 µg/kg. Prosječna koncentracija benzo(k)fluorantena u našem istraživanju ne prelazi 0,01 µg/kg. U hrvatskim pršutima, koncentracije su više (0,09-0,35 µg/kg) (Poljanec i sur., 2019), kao i u Hercegovačkom pršutu (0,02 µg/kg do 0,68 µg/kg) (Nadaždi, 2020), dok je u Slavonskoj šunki benzo(k)fluoranten bio ispod granica kvantifikacije u svim uzorcima (Mastanjević i sur., 2019b).

Koncentracije benzo(a)pirena ne pokazuju statistički značajne razlike na temelju tipa mišića, ali pokazuju na temelju vremena zrenja ($p < 0,05$). Koncentracije u SM mišiću se produljenim zrenjem smanjuju sa 0,06 na 0,01 µg/kg, a u BF sa 0,02 na 0,00 µg/kg. Ovaj podatak je bitan jer je benzo(a)piren jedan od 4 glavna pokazatelja toksičnosti među PAH-ovima. Koncentracije koje su izmjerene u našem istraživanju ne prelaze dopuštene koncentracije koje je propisala Europska komisija (2 µg/kg za BaP). Ciecierska i Obiedzinski (2007) u svom istraživanju na industrijski dimljenom pršutu imaju više vrijednosti benzo[a]pirena; 0,37 µg/kg u vanjskim dijelovima i 0,28 µg/kg u unutrašnjim. U istraživanju Poljanec i sur. (2019) najviše razine benzo(a)pirena bile su utvrđene u *Krčkom pršutu* ($0,10 \pm 0,06$ µg/kg), zatim *Istarskom* ($0,08 \pm 0,01$ µg/kg), pa *Dalmatinskom pršutu* ($0,07 \pm 0,02$ µg/kg), dok je *Drniški* imao najnižu koncentraciju benzo(a)pirena ($0,05 \pm 0,01$ µg/kg). U našem istraživanju benzo(a)piren je bio malo niži, a srednja vrijednost u najizloženijem mišiću (SM) bila mu je $0,06 \pm 0,01$ µg/kg. Prisutnost kancerogenog BaP-a potvrđena je u 13 uzoraka Hercegovačkog pršuta, pri čemu je u dva uzorka ta koncentracija premašila zakonski propisanu razinu od 2 µg/kg (Nadaždi, 2020). U Slavonskoj šunki, benzo(a)piren je bio ispod granica kvantifikacije u svim uzorcima (Mastanjević i sur., 2019b). Bogdanović i sur. (2019) u svom istraživanju navode prosječnu vrijednost od 0,10 µg/kg za benzo(a)piren u sušenoj šunki.

Koncentracije benzo(g,h)perilena i dibenzo(g,h)antracena ne pokazuju statistički značajne razlike na temelju mišića ili vremena zrenja. Iz istraživanja Poljanec i sur. (2019) srednje vrijednosti benzo(g,h)perilena kretale su se od 0,27-0,47 µg/kg, što je više od rezultata ovog istraživanja. Prisutnost dibenzo(g,h)antracena nije bila utvrđena u Krčkom pršutu, dok su uočene vrlo značajne razlike ($p < 0,05$) između Istarskog ($0,54 \pm 0,08$ µg/kg) i *Dalmatinskog* ($0,09 \pm 0,04$ µg/kg), kao i između Istarskog i Drniškog ($0,14 \pm 0,06$ µg/kg) pršuta. U ovom istraživanju srednje vrijednosti dibenzo(g,h)antracena se kreću od 0,05-0,14 µg/kg, što je u skladu sa istraživanjem na *Dalmatinskom pršutu* (Poljanec i sur., 2019). U Hercegovačkom pršutu benzo(g,h)perilen se kretao od 0,09 do 0,89 µg/kg, dibenzo(g,h)antracen od 0,00 do 1,05 µg/kg (Nadaždi, 2020). U Slavonskoj šunki benzo(g,h)perilen i dibenzo(g,h)antracen nisu detektirani (Mastanjević i sur., 2019b).

U slučaju Indeno(g,h,i)pirena pokazala se statistički značajna razlika ($p < 0,05$) što se tiče i tipa mišića i vremena zrenja. Veće koncentracije imao je SM (0,49 i 0,10 µg/kg) u usporedbi s BF

(0,05 i 0,05 µg/kg) za obje faze proizvodnje. Produljenim zrenjem (18 mjeseci) dolazi do značajnog smanjenja u SM sa 0,49 na 0,10 µg/kg, dok je u BF koncentracija ostala stalna. Za razliku od ovog istraživanja, indeno(g,h,i)piren nije bio kvantificiran u 4 hrvatska pršuta (Poljanec i sur., 2019). U Hercegovačkom pršutu prosječne koncentracije bile su od 0,00 do 1,00 µg/kg (Nadaždi, 2020), dok u Slavonskoj šunki indeno(g,h,i)piren nije detektiran (Mastanjević i sur., 2019b).

Koncentracija PAH4 (BaP, BaA, BbF, Chr) pokazuje statistički značajnu razliku ($p < 0,05$) s obzirom na tip mišića i vrijeme zrenja. SM ima veće koncentracije (0,75 i 0,14 µg/kg) nego BF (0,08 i 0,06 µg/kg) bez obzira na vrijeme trajanja zrenja. Nakon produljenog zrenja od 18 mjeseci dolazi do značajne promjene u oba mišića. Koncentracije u BF se smanjuju sa 0,08 na 0,06 µg/kg, a u SM sa 0,75 na 0,14 µg/kg. Koncentracije koje su izmjerene u našem istraživanju ne prelaze dopuštene koncentracije koje je propisala Europska komisija (12 µg/kg za PAH4). U predmetnom istraživanju srednja vrijednost PAH4 bila je za BF $0,08 \pm 0,03$ µg/kg, a za SM $0,75 \pm 0,14$ µg/kg. U istraživanju Poljanec i sur. (2019), PAH4 kretao se između 0,41-0,67 µg/kg, s najvišom prosječnom razinom zabilježenom u Krčkom pršutu ($0,67 \pm 0,13$ µg/kg), zatim *Istarskom* (0,66 - 0,15 µg/kg), *Dalmatinskom* ($0,44 \pm 0,08$ µg/kg) i *Drniškom* ($0,41 \pm 0,02$ µg/kg). Ovo je prilično iznenađujući rezultat budući da proces proizvodnje Krčkog i Istarskog pršuta ne uključuje fazu dimljenja. Može se zaključiti da bi prisutnost PAH spojeva u nedimljenim pršutima mogla biti posljedica dodavanja začina u fazi soljenja, poput mljevenog crnog papra, lovora i ružmarina u slučaju Krčkih i Istarskih pršuta. Što se tiče Hercegovačkog pršuta, samo jedan uzorak je pokazao veću koncentraciju PAH4 (21,68 µg/kg) od propisanih 12 µg/kg, a prosječne koncentracije (0,99-5,24 µg/kg) veće su od našeg istraživanja (Nadaždi, 2020). U Slavonskoj šunki koncentracije PAH4 su se kretale od 0,00 do 99,26 µg/kg, a sedam uzoraka imalo je vrijednosti koje premašuju dozvoljene propisne razine od 30 µg/kg za tradicionalno dimljeno meso (Mastanjević i sur., 2019b). U istraživanju Bogdanović i sur. (2019) prosječna vrijednost PAH4 za sušenu šunku iznosi 0,78 µg/kg.

Koncentracija PAH8 (BaP, BaA, BbF, Chr, BkF, Bghi, DbA, IP) pokazuje statistički značajnu razliku ($p < 0,05$) s obzirom na tip mišića i vrijeme zrenja. Položaj mišića SM rezultirao je višim koncentracijama (1,59 i 0,37 µg/kg) od BF (0,38 i 0,28 µg/kg) mišića, a produljeno zrenje rezultiralo je smanjenjem u oba mišića (SM sa 1,59 na 0,37 µg/kg ; BF sa 0,38 na 0,28 µg/kg). U istraživanju Poljanec i sur. (2019) srednje vrijednosti PAH8 kretale su se od 0,73-1,28 µg/kg, a najviša srednja razina zabilježena je u *Istarskom pršutu* ($1,28 \pm 0,42$ µg/kg), zatim *Krčkom* ($1,10 \pm 0,15$ µg/kg), *Drniškom* ($0,88 \pm 0,15$ µg/kg) i *Dalmatinskom pršutu* ($0,73 \pm 0,12$ µg/kg), gdje je zabilježena najniža razina PAH8.

PAH15 pokazuje statistički značajnu razliku ($p < 0,05$) s obzirom na tip mišića i vrijeme zrenja. SM mišić pokazuje značajno više prosječne koncentracije (16,49 i 11,48 $\mu\text{g}/\text{kg}$) od BF mišića (5,14 i 3,13 $\mu\text{g}/\text{kg}$). To je rezultat položaja mišića; SM kao vanjski mišić izloženiji je svim okolnim faktorima (atmosferski uvjeti, sol, dehidracija, dimljenje) od BF mišića. Također, BF mišić je prekriven potkožnim slojem masnog tkiva koje „usporava“ prolazak PAH-ova u mišić. Produljeno zrenje u oba mišića rezultira smanjenjem koncentracije (SM sa 16,49 na 11,48; BF sa 5,14 na 3,13 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Produljeno zrenje pršuta može smanjiti koncentraciju PAH-ova zbog produženog vremena izlaganja zraku i procesa oksidacije (koji mogu uzrokovati razgradnju PAH-ova).

Produljeno zrenje dovodi do porasta udjela masti, što je posljedica intenzivne dehidracije i porasta udjela suhe tvari u mišićima (Poljanec, 2022). Ciecierska i Obiedzinski (2007) u svom istraživanju prijavljuju slične vrijednosti za pršute koji su dimljeni industrijskim postupkom. Od 15 istraživanih PAH-ova, 14 spojeva su detektirali u vanjskim dijelovima, a 7 u unutarnjim. Zbroj PAH (PAH15) u vanjskom dijelu iznosio je 24,43 $\mu\text{g}/\text{kg}$; što je više od vrijednosti zabilježene u ovom istraživanju. U unutrašnjosti je PAH15 2,78 $\mu\text{g}/\text{kg}$, što je malo niže od ovog istraživanja. U istraživanju Poljanec i sur. (2019) u hrvatskim pršutama koncentracija PAH15 (7,0-8,80 $\mu\text{g}/\text{kg}$) je bila niža nego u ovom istraživanju. Najviša srednja razina PAH15 zabilježena je u *Istarskom* pršutu ($8,80 \pm 0,93$ $\mu\text{g}/\text{kg}$), zatim u *Drniškom* ($7,53 \pm 0,05$ $\mu\text{g}/\text{kg}$), *Dalmatinskom* ($7,07 \pm 1,85$ $\mu\text{g}/\text{kg}$) pa *Krčkom* ($7,00 \pm 1,43$ $\mu\text{g}/\text{kg}$) pršutu. U Hercegovačkom pršutu PAH16 (5,21-19,60 $\mu\text{g}/\text{kg}$) je veći od PAH15 u našem istraživanju (Nadaždi, 2020). U Slavonskoj šunki koncentracija PAH16 (61,30 - 462,83 $\mu\text{g}/\text{kg}$) je značajno viša od našeg istraživanja. Razlog ovih visokih koncentracija PAH-ova u Slavonskoj šunki je vjerojatno dimljenje tradicionalnom metodom (intenziteta dima, trajanje i temperatura) (Mastanjević i sur., 2019b).

Sveobuhvatna analiza PAH-ova u BF i SM mišićima otkriva zamršenu dinamiku koncentracije PAH-ova pod utjecajem vrste mišića, vremena zrenja i okolišnih čimbenika. Rezultati ovog istraživanja pokazuju da se većina PAH-ova u industrijski dimljenom *Dalmatinskom pršutu* smanjila produljenim zrenjem (18 mjeseci) i da se veća koncentracija pojavila u vanjskom mišiću SM. Brojna istraživanja potvrdila su vezu između koncentracije PAH-ova i temperature dimljenja te vrste drva koje se koristi za dimljenje. U istraživanju Mastanjević i sur. (2019b), ispitujući koncentracije PAH16 u uzorcima tradicionalno dimljenje Slavonske šunke, dolaze do zaključka da šunke dimljene s brijestom pokazuju više koncentracije PAH-ova u odnosu na one dimljene s bukvom i grabom. Hitzel i sur. (2013) istraživali su sadržaj PAH-ova u dimljenim kobasicama i temperaturu dimljenja različitih vrsta drva. Istraživanje pokazuje da korištenje topole i hikorije smanjuje sadržaj BaP, PAH4 i PAH16 za 35-55 % ovisno o proizvodu. U istraživanju Puljić i sur. (2019), uzorci dimljeni na tradicionalan način (otvorena vatra, 20 dana dimljenja) imali su značajno više razine sadržaja 16 PAH od industrijski dimljenih uzoraka. U

procesu dimljenja, ključni čimbenik, koji utječe na koncentraciju PAH-ova u mesnim proizvodima, je temperatura dimljenja, na koju utječu vrsta drva za dimljenje i gustoća dima (Pohlmann i sur., 2013). Stumpe-Viksna i sur. (2008) proučavali su učinak deset vrsta drveta na razinu kontaminacije PAH-ovima u dimljenoj svinjetini. Zaključili su da se najniže razine BaP javljaju u uzorcima dimljenim drvetom jabuke (6,04 µg/kg), a najviše kod drveta jasike (35,07 µg/kg). Pokazalo se da i gustoća dima i brzina strujanja zraka utječu na razinu kontaminacije dimljenih proizvoda PAH-ovima (Pohlmann i sur., 2013). Temperatura komore za dimljenje također je ključan čimbenik. Povećanjem temperature, povećava se i sadržaj PAH-ova u proizvodu. Štoviše, promjene temperature u komori za dimljenje od 55 °C do 95 °C potiču trostruko povećanje koncentracije PAH-ova (Racovita i sur., 2020). Trajanje procesa dimljenja može utjecati na rok trajanja proizvoda, senzorna svojstva i razinu PAH-ova (Essumang i sur., 2013; Pohlmann i sur., 2013; Đinović i sur., 2008).

Literaturni podatci ukazuju da sljedeća svojstva proizvoda mogu utjecati na stvaranje PAH-ova u dimljenim mesnim proizvodima: sadržaj masti, mramornost, sadržaj mioglobina, omjer površine i mase i prisutnost kože ili dlake, prisutnost i vrsta ovitka, korištenje različitih filtera (Mastanjević i sur., 2019a; Babić i sur., 2018; Essumang i sur., 2013). Sadržaj masti u proizvodu ima značajan utjecaj na razine PAH-ova nastalih tijekom termičke obrade. Produljenje vremena dimljenja dovodi do smanjenja sadržaja masti i vode, a kao rezultat toga povećava koncentraciju PAH-ova u proizvodu (Essumang i sur., 2013). Ključni čimbenik, koji utječe na sadržaj PAH-ova u proizvodu, je odnos između površine proizvoda i mase (Andree i sur., 2010; Đinović i sur., 2008). PAH-ovi se uglavnom talože na površini proizvoda. Stoga, što je veći omjer površine i mase proizvoda, veća je koncentracija PAH-ova. Korištenje tradicionalne metode dimljenja rezultiralo je većom kontaminacijom PAH-om od industrijske. Na kraju proizvodnje, unutarnji dijelovi svih dimljenih uzoraka proizvedenih objema metodama zadržali su znatno nižu ukupnu koncentraciju PAH-ova, kao i manje pojedinačnih PAH-ova od površinskog sloja. Konzumacija ovakvih proizvoda može biti potencijalno štetna za ljudsko zdravlje i to je razlog zašto je u EU na snazi načelo ALARA (što je razumno moguće niže) (EU, 2019).

Rezultati istraživanja pokazali su da bi lokalni proizvođači trebali naučiti kako koristiti poboljšane/nove tehnike dimljenja i prilagoditi parametre dimljenja, kako bi se smanjila razina PAH-ova i smanjio rizik od pojave PAH-ova u dimljenim mesnim proizvodima. To bi trebalo rezultirati sigurnijim dimljenim mesnim proizvodima (Puljić i sur., 2019). Ovi kontaminanti izazivaju veliko zanimanje, jer su neki od njih vrlo kancerogeni kod laboratorijskih životinja i mogu utjecati na pojavu raka dojke, pluća i debelog crijeva kod ljudi. Unos hranom predstavlja glavni izvor izloženosti PAH-ova kod ljudi (Yebra-Pimentel i sur., 2015).

5. ZAKLJUČCI

Iz rezultata ovog istraživanja, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. U uzorcima *Dalmatinskog pršuta* detektirano je 13/15 PAH spojeva u mišiću *biceps femoris* (BF) i 15/15 PAH spojeva u mišiću *semimembranosus* (SM) nakon procesa zrenja (12 mjeseci).
2. U uzorcima *Dalmatinskog pršuta* nakon procesa produljenog zrenja (18 mjeseci) detektirano je 14/15 PAH spojeva u BF i 14/15 PAH spojeva u SM.
3. Kancerogeni benzo(a)piren pojavio se u nekolicini uzorka mišća BF i SM u koncentracijama koje su ispod vrijednosti koje je propisala Europska komisija (2 µg/kg), a njegova koncentracija smanjila se u oba mišća produljenim zrenjem.
4. Koncentracije PAH4 iz ovog istraživanja ne prelaze dopuštene koncentracije koje je propisala Europska komisija (12 µg/kg za PAH4).
5. Veće koncentracije pronađene su u SM mišiću u usporedbi sa BF mišićem za skoro sve PAH-ove. Razlog većih koncentracija u SM mišiću je njegov vanjski položaj, koji je kao takav više izložen vanjskim uvjetima (temperatura, dimljenje, zrak), dok mišić BF štiti potkožni sloj masnog tkiva koji akumulira lipofilne PAH-ove i sprječava njihov veći prolazak. Srednja vrijednost PAH15 nakon 12 mjeseci zrenja 3 puta je veća u mišiću SM ($16,49 \pm 2,49$ µg/kg) nego u mišiću BF ($5,14 \pm 0,59$ µg/kg).
6. Produljenim zrenjem dolazi do značajnog smanjenja koncentracija PAH spojeva u BF (naftalen, acenaften i PAH15) i SM mišiću (naftalen, benz(a)antracen, benzo(k)fluoranten i indeno(g,h,i)piren te PAH4 i PAH8).
7. Pokazalo se da je interakcija položaja mišća i vremena zrenja statistički značajna ($p < 0,05$) kod benzo(k)fluorantena, indeno(g,h,i)pirena, PAH4 i PAH8.
8. Svi uzorci ispitivanih mišća imali su koncentracije PAH spojeva koje nisu prelazile propisane vrijednosti, te je ovako proizveden *Dalmatinski pršut* siguran za konzumaciju u ljudskoj prehrani.

6. LITERATURA

- Abdel-Shafy HI, Mansour MS (2016) A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: source, environmental impact, effect on human health and remediation. *Egypt J Pet* **25**, 107–123. <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2015.03.011>
- Alomirah H, Al-Zenki S, Al-Hooti S, Zaghloul S, Sawaya W, Ahmed N, i sur. (2011) Concentrations and dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from grilled and smoked foods. *Food Control* **22**, 2028–2035.
- Babić JM, Kartalović BD, Škaljac S, Vidaković S, Ljubojević D, Petrović JM, i sur. (2018) Reduction of polycyclic aromatic hydrocarbons in common carp meat smoked in traditional conditions. *Food Addit Contam: Part B* **11**(3), 208-213.
- Benford D, Dinovi M, Setzer RW (2010) Application of the margin-of-exposure (MoE) approach to substances in food that are genotoxic and carcinogenic e.g.: benzo[a]pyrene and polycyclic aromatic hydrocarbons. *Food Chem Toxicol* **48**(1), S42-S48.
- Bogdanović T, Pleadin J, Petričević S, Listeš E, Sokolić D, Marković K, i sur. (2019) The occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in fish and meat products of Croatia and dietary exposure. *J Food Compost Anal* **75**, 49–60. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.09.017>
- Careri M, Mangia A, Barbieri G, Bouoni L, Virgili R, Parolari G (1993) Sensory property relationship to chemical data of Italian - type dry-cured ham. *J Food Sci* **58**, 968-972. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb06090.x>
- Ciecierska M, Obiedziriski M (2007) Influence of smoking process on polycyclic aromatic hydrocarbons' content in meat products. *Acta Sci Pol Techno Aliment* **6**(4), 17-28. https://www.food.actapol.net/volume6/issue4/2_4_2007.pdf
- Cilla I, Martínez L, Beltrán JA, Roncalés P (2006) Dry-cured ham quality and acceptability as affected by the preservation system used for retail sale. *Meat Sci* **73**(4), 581-589. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.02.013>
- Daniel R (2005) The metagenomics of soil. *Nat Rev Microbiol* **3**, 470–478. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro1160>

Djinovic J, Popovic A, Jira W (2008) Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in different types of smoked meat products from Serbia. *Meat Sci* **80**, 449–456. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.01.008>

Domingo JL, Nadal M. (2016) Carcinogenicity of consumption of red and processed meat: What about environmental contaminants? *Environ Res* **145**, 109-115. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.11.031>

Đinović J (2008) Hemodinamika policikličnih aromatičnih ugljikovodika u dimljenim proizvodima od mesa (doktorski rad), Kemijski fakultet, Sveučilište u Beogradu, Beograd.

Essumang DK, Dodoo DK, Adjei JK (2013) Effect of smoke generation sources and smoke curing duration on the levels of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) in different suites of fish. *Food Chem Toxicol* **58**, 86-94. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.04.014>

European Food Safety Authority (2008) Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain on a request from the European Commission on polycyclic aromatic hydrocarbons in food. *EFSA J* **724**, 1–114. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2008.724>

Fasano E, Yebra-Pimentel I, Martinez-Carballo E, Simal-Gándara J (2016) Profiling, distribution and levels of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in traditional smoked plant and animal foods. *Food Control* **59**, 581-590. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.06.036>

Gomes A, Santos C, Almeida J, Elias M, Roseiro LC (2013) Effect of fat content, casing type and smoking procedures on PAHs contents of Portuguese traditional dry fermented sausages. *Food Chem Toxicol* **58**, 369-374. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.05.015>

Gupta R, Dutta TK, Kundu SS, Chatterjee A, Gautam M, Sarkar S (2016) Nutritional evaluation of tree leaves of Ayodhya Hills of Purulia District, West Bengal. *Indian J Anim Nutr* **33** (4), 404-410. <http://dx.doi.org/10.5958/2231-6744.2016.00072.4>

Henner P, Schiavon M, Morel JL, Lichtfouse E (1997) Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) occurrence and remediation methods. *Analisis* **25**(9), M56-M59. <https://hal.science/hal-00193277>

Hitzel A, Pöhlmann M, Schwägele F, Speer K, Jira W (2013) Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and phenolic substances in meat products smoked with different types of wood and smoking spices. *Food Chem* **139**(1-4), 955-962. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.02.011>

Hokkanen M, Luhtasela U, Kostamo P, Ritvanen T, Peltonen K, Jestoi MN (2018) Critical effects of smoking parameters on the levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in traditionally smoked fish and meat products in Finland. *J Chem* **2018**, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2018/2160958>

Honikel O, Kim CJ (1986) Causes of development of PSE pork. *Fleischwirtschaft* **66**, 349-353.

Kamens RM, Perry JM, Saucy DA, Bell DA, Newton DL, Barbara B (1985) Factors which influence polycyclic aromatic hydrocarbon decomposition on wood smoke particles. *Environ Int* **11**, 131-136. [https://doi.org/10.1016/0160-4120\(85\)90006-6](https://doi.org/10.1016/0160-4120(85)90006-6)

Karoly D, Gaurina D (2015) Specifikacija proizvoda "Drniški pršut". Udruga proizvođača drniškog pršuta, Driš.

Kovačević D (2001) Kemija i tehnologija mesa i ribe. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera: Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek.

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

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

Krvavica M, Đugum J (2006) Proizvodnja pršuta u svijetu i kod nas. *Meso* **8**(6), 355-365. <https://hrcak.srce.hr/22460>

Ledesma E, Rendueles M, Díaz M (2016) Contamination of meat products during smoking by polycyclic aromatic hydrocarbons: Processes and prevention. *Food Control* **60**, 64–87. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.07.016>

Ledesma J (2014) Conceptual Frameworks and Research Models on Resilience in Leadership. *SAGE Open* **4**(3), 1-8. <https://doi.org/10.1177/2158244014545464>

Lorenzo JM, Purriños L, Bermudez R, Cobas N, Figueiredo M, Garcia Fontán MC (2011) Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in two Spanish traditional smoked sausage varieties: „Chorizo gallego“ and „Chorizo de cebolla“. *Meat Sci* **89**(1), 105-109. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.03.017>

- Malarut J, Vangnai K (2017) Influence of wood types on quality and carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) of smoked sausages. *Food Control* **85**, 98–106. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.09.020>
- Manda P, Dano SD, Ehile ESJ, Koffi M, Amani N, Assi YA (2012) Evaluation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) content in foods sold in Abobo market, Abidjan, Côte d'Ivoire. *J Toxicol Environ Health Sci* **4**(6), 99-105. <https://doi.org/10.5897/JTEHS11.085>
- Mastanjević K, Kartalović B, Lukinac J, Jukić M, Kovačević D, Petrović J, i sur. (2019) Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Traditional Dry Cured Smoked Ham Slavonska Šunka. *Appl Sci* **10**(1), 92. <https://doi.org/10.3390/app10010092>
- Mastanjević K, Kartalović B, Petrović J, Novakov N, Puljić L, Kovačević D, i sur. (2019) Polycyclic aromatic hydrocarbons in the traditional smoked sausage Slavonska kobasica. *J Food Compos Anal* **83**, 103282. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103282>
- Mastanjević K, Puljić L, Kartalović B, Grbavac J, Jukić Grbavac M, Nadaždi H, i sur. (2020) Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in *Heregovački pršut*-Traditionally Smoked Prosciutto. *Int J Environ Res Public Health* **17**(14), 5097.
- Miura K, Shimada K, Sugiyama T, Sato K, Takami A, Chan CK, i sur. (2019) Seasonal and annual changes in PAH concentrations in a remote site in the Pacific Ocean. *Sci Rep* **9**, 12591. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47409-9>
- Mojiri A, Aziz HA, Aziz SQ (2013) Trends in Physical-Chemical Methods for Landfill Leachate Treatment. *Int J Sci Res Environ Sci* **1**(2), 16-25. DOI:10.12983/ijres-2013-p016-025
- Nadaždi H (2020) Sadržaj policikličkih aromatskih ugljikovodika (PAH) u Hercegovačkom pršutu (diplomski rad), Prehrambeno-tehnološki fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek.
- Orecchio S, Ciotti VP, Culotta L (2009) Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in coffee brew samples: analytical method by GC-MS, profile, levels and sources. *Food Chem Toxicol* **47**(4), 819-826. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.01.011>
- Parker JK, Lignou S, Shankland K, Kurwie P, Griffiths HD, Baines DA (2017) Development of a zeolite filter for removing polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from smoke and smoked ingredients while retaining the smoky flavor *J Agric Food Chem* **66**(10), 2449-2458. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b05399>

Patel AB, Shaikh S, Jain KR, Desai C, Madamwar D (2020) Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Sources, Toxicity, and Remediation Approaches. *Front Microbiol.* **11**, 562813. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.562813>

Petričević S (2018) Karakterizacija dalmatinskoga, driškoga, istarskoga i krčkoga pršuta (doktorski rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Petrova MI, Lievens E, Malik S, Imholz N, Lebeer S (2015) Lactobacillus species as biomarkers and agents that can promote various aspects of vaginal health. *Front Physiol* **6**,81. <https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00081>

Pleadin J, Bogdanović T (2016) Chemical hazards in fermented meats. U: Zdolec N, Raton B (ured.) *Fermented Meat Products: Health Aspects*, CRC Press, Taylor and Francis Group, LLC, str. 417-449.

Pöhlmann M, Hitzel A, Schwagele F, Speer K, Jira W (2013) Influence of different smoke generation methods on the contents of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and phenolic substances in Frankfurter-type sausages. *Food Control* **34**(2), 347-355. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.05.005>

Poljanec I, Marušić Radovčić N, Karolyi D, Petričević S, Bogdanović T, Listeš E, i sur. (2019) Polycyclic aromatic hydrocarbons in four different types of Croatian dry-cured hams. *Meso* **21**(5), 458-468. <https://doi.org/10.31727/m.21.5.4>

Poljanec I, Radovčić NM, Petričević S, Karolyi D, Listeš E, Medić H (2021) Proteolysis and protein oxidation throughout the smoked dry-cured ham process. *Food Chem* **362**, 130207. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130207>

Pugliese CE, Anthony L, Strang JF, Dudley K, Wallace GL, Kenworthy L (2015) Increasing adaptive behavior skill deficits from childhood to adolescence in autism spectrum disorder: role of executive function. *J Autism Dev Disord* **45**(6):1579-1587.

Puljić L (2022) Utjecaj različitih postupaka dimljenja na koncentracije policikličkih aromatskih ugljikovodika (PAH) u tradicionalnim mesnim proizvodima s područja Hercegovine (doktorski rad), Prehrambeno-tehnološki fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek.

Puljić L, Mastanjević K, Kartalović B, Kovačević D, Vranešević J, Mastanjević K (2019) The Influence of Different Smoking Procedures on the Content of 16 PAHs in Traditional Dry Cured Smoked Meat “Hercegovačka Pečenica”. *Foods* **8**(12), 690.

Racovita RC, Secuianu C, Ciuca MD, Israel-Roming F (2020) Effects of smoking temperature, smoking time, and type of wood sawdust on polycyclic aromatic hydrocarbon accumulation levels in directly smoked pork sausages. *J Agric Food Chem* **68**(35), 9530-9536. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b03590>

Ravindra K, Sokhi R, Van Grieken R (2008) Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: source attribution, emission factors and regulation. *Atmos Environ* **42**, 2895–2921. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2007.12.010>

Rey-Salgueiro L, Martínez-Carballo E, García-Falcón MS, Simal-Gándara J (2008) Effects of a chemical company fire on the occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in plant foods. *Food Chem* **108**, 347–353. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.10.042>

Siegel RL, Miller KD, Jemal A (2016) Cancer statistics. *CA Cancer J Clin* **66**(1):7-30. <https://doi.org/10.3322/caac.21332>

Singh L, Varshney JG, Agarwal T (2016) Polycyclic aromatic hydrocarbons' formation and occurrence in processed food. *Food Chem* **199**, 768–781. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.074>

Škaljac S, Jokanović M, Tomović V, Ivić M, Tasić T, Ikonić P, i sur. (2018) Influence of smoking in traditional and industrial conditions on colour and content of polycyclic aromatic hydrocarbons in dry fermented sausage “Petrovska klobasa”. *LWT Food Sci Technol* **87**, 158–162. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.038>

Škrbić B, Đurišić-Mladenović N, Mačvanin N, Tjapkin A, Škaljac S (2014) Polycyclic Aromatic Hydrocarbons In Smoked Dry Fermented Sausages with Protected Designation Of Origin Petrovska Klobasa From Serbia. *Maced J Chem Chem Eng* **33**(2), 227–236. <https://doi.org/10.20450/mjcce.2014.358>

Toldrá F (2002) *Dry-Cured Meat Products*, Food and Nutrition Press, Trumbull.

Uredba (2011) Uredba o izmjeni Uredbe (EZ) br. 1881/2006 u pogledu najvećih dopuštenih količina za policikličke aromatske ugljikovodike u hrani. Europska komisija (EZ) br. 835/2011. <http://data.europa.eu/eli/reg/2011/835/oj> Pristupljeno 14. kolovoza 2023.

Veiga P, Pons N, Agrawal A, Oozeer R, Guyonnet D, Brazeilles R, i sur. (2014) Changes of the human gut microbiome induced by a fermented milk product. *Sci Rep* **4**, 6328. <https://doi.org/10.1038/srep06328>

Veiga-da-Cunha M, Chevalier N, Stephenne X, Defour JP, Paczia N, Ferster A, i sur. (2019) Failure to eliminate a phosphorylated glucose analog leads to neutropenia in patients with G6PT and G6PC3 deficiency. *Proc Natl Acad Sci U S A* **116**(4), 1241-1250. <https://doi.org/10.1073/pnas.1816143116>

Vu-Duc T, Huynh CK, Boiteux P (1995) Performance of a chromatographic procedure used in the certification of reference material for polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludge. *Mikrochim Acta* **120**, 271–280. <https://doi.org/10.1007/BF01244437>

Wretling S, Eriksson A, Eskhult GA, Larsson B (2010) Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Swedish smoked meat and fish. *J Food Compos Anal* **23**(3), 264-272. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2009.10.003>

Yebra-Pimentel I, Fernandez-Gonzalez R, Martínez-Carballo E, Simal-Gándara J (2015) A critical review about the health risk assessment of PAHs and their metabolites in foods. *Crit Rev Food Sci Nutr* **55**(10), 1383-1405.

Zachara A, Galkowska D, Juszcak L (2017) Contamination of smoked meat and fish products from Polish market with polycyclic aromatic hydrocarbons. *Food Control* **80**, 45–51. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.04.024>

IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja Ivana Župić izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

A handwritten signature in cursive script, reading "Ivana Župić", written in black ink on a white background. The signature is positioned above a horizontal line.

Vlastoručni potpis