

# Utjecaj tehnoloških operacija na smanjenje koncentracije okratoksiна A tijekom proizvodnje Slavonskog kulena

Kovačević, D.<sup>1</sup>, J. Pleadin<sup>2</sup>, K. Mastanjević<sup>1\*</sup>, J. Frece<sup>3</sup>

znanstveni rad

## Sažetak

U ovom radu istražen je utjecaj pojedinih tehnoloških operacija (dimljenja, sušenja, fermentacije i zrenja) na smanjenje koncentracije okratoksiна A (OTA) u uzorcima Slavonskog kulena čiji je nadjev prethodno kontaminiran s OTA ( $75 \mu\text{g kg}^{-1}$ ). Uzorci sirovog kulena pri-premljeni su prema tradicionalnoj recepturi i podijeljeni u dvije skupine (referentni i kontaminirani s OTA). Sirovinama (mesu, slanini, soli i začinima) te uzorcima kulena u svim proizvodnim fazama (nakon pripreme nadjeva, dimljenja, fermentacije, sušenja i zrenja) primjenom standardnih i internih analitičkih metoda određena su fizikalno-kemijska svojstva, vaganjem gubitak na masi (kalo) te koncentracija OTA primjenom HPLC-FD metode. Koncentracija OTA u sirovom nadjevu ( $1,02 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) posljedica je kontaminiranosti mesa, začinske paprike i češnjaka te se je tijekom proizvodnog procesa, kao i koncentracija OTA u uzorcima koji su kontaminirani, kontinuirano povećavala do vrijednosti  $2,41 \mu\text{g kg}^{-1}$ , odnosno do  $175,82 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Rezultat je to proizvodnog kala, odnosno smanjenja masenog udjela vode u uzorcima. Ukoliko se promjene koncentracije OTA izraze na suhu tvar može se zaključiti da niti pojedine tehnološke operacije, niti vrijeme njihovog trajanja, niti povećanje koncentracije dodanih tvari uslijed dehidratacije (soli i začina), ne utječu na promjenu/smanjenje koncentracije OTA u obje skupine uzorka kulena.

**Ključne riječi:** smanjenje koncentracije OTA, Slavonski kulen, tehnološke operacije

## Uvod

Okratoksin A (OTA) je mikotoksin, sekundarni metabolit kojeg proizvode različite pljesni iz roda *Aspergillus* i *Penicillium* (Moss, 2000; Iacumin i sur., 2009). Brojna istraživanja ukazala su na teratogena, neurotoksična, genotoksična, imunotoksična i nefrotoksična svojstva OTA, a Međunarodna agencija za istraživanje raka klasificirala je ovaj kontaminant u skupinu 2B, mogućih ljudskih karcinogena (IARC, 1993).

Pri tom kontaminacija hrane za životinje, ali i hrane životinjskog podrijetla, predstavlja ozbiljnu opasnost za zdravljeljude i životinja. Među farmskim životinjama, svinje su posebno osjetljive na OTA, s najvećom kumulacijom u bubregu, zatim jetri i mišiću te najmanjom u masnom tkivu (Lusky i sur., 1993; Gareis i Scheuer, 2000; Curtui i sur., 2001; Malagutti i sur., 2005).

U tradicionalnoj hrvatskoj fermentiranoj kobasici Slavonskom kulenu, OTA može biti prisutan uslijed kontaminacije hrane za životinje odnosno putem svinjskog mesa koje se koristi kao sirovina u njegovoj proizvodnji (Pleadin i sur., 2013; Perši i sur., 2014). Također, može nastati kao produkt pljesni iz roda *Aspergillus* i *Penicillium*, a koje spontano obrastaju površinu Slavonskog kulena tijekom dugotrajnog procesa zrenja (Frece i sur., 2010).

Posebno je zabrinjavajuća činjenica da je nastanak OTA vrlo izvjestan pri odgovarajućim uvjetima temperature i vlage tijekom postupka čuvanja trajnih mesnih proizvoda (Amézqueta i sur., 2009). Kritični faktori za tvorbu toksikogenih pljesni te tvorbu toksičnih sekundarnih metabolita, odnosno OTA, su: aktivitet vode (aw) manji od 0,9, postojanje pukotina na površini proizvoda te temperatura manja od  $20^\circ\text{C}$  (Assefa i sur., 2011). Literaturni podaci pokazali su da je među mikotoksinima upravo molekula OTA naročito stabilna te da može preživjeti većinu postupaka obrade hrane, pojavljujući se u gotovim proizvodima, te da ju je nakon kontaminacije hrane vrlo teško ukloniti daljnijim postupcima njene obrade (Moss, 1996). Pri tom obrada hrane može uključivati kuhanje, pečenje, prženje, ali i neke druge postupke, a stupanj redukcije OTA ovisi o parametrima kao što su pH, temperatura i sastav proizvoda, među kojima primjena visoke temperature pri obradi ima najveći efekt na redukciju ovog kontaminanta. Istraživanja su također pokazala da neki procesi smanjuju koncentraciju OTA više ili manje, neki pak značajno, ali ipak da ga ne uspijevaju eliminirati u potpunosti (Bullerman i Bianchini, 2007).

U ovom radu istražen je utjecaj pojedinih tehnoloških

1 Dr. sc. Dragan Kovačević, redoviti profesor, Dr. sc. Krešimir Mastanjević, docent, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek. Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Zavod za prehrambene tehnologije, Kuhačeva 20, 31 000 Osijek.

2 doc. dr. sc. Jelka Pleadin, znanstveni savjetnik, Hrvatski veterinarski institut, Laboratorij za analitičku kemiju, Savska 143, Zagreb

3 Dr. sc. Jadranka Frece, izvanredni profesor, Laboratorij za opću mikrobiologiju i mikrobiologiju namirnica, Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Pierottijeva 6, 10000 Zagreb

operacija (dimljenja, sušenja, fermentacije i zrenja) na smanjenje koncentracije OTA u uzorcima Slavonskog kulena čiji je nadjev prethodno kontaminiran s OTA.

## Materijali i metode

### Priprema uzorka

Tehnološki proces pripreme i proizvodnje Slavonskog kulena proveden je u kontroliranim uvjetima, odnosno laboratorijskom pilot-postrojenju za proizvodnju kulena te primjenom komore za zrenje s mogućnošću programiranja i automatizirane regulacije tehnoloških parametara. Nadjev kulena pripremljen je prema tradicionalnoj recepturi (Kovačević i sur., 2010): svinjsko meso prve i druge kategorije (91,8%), svinjska leđna slanina (5%), češnjak (0,2%), prah crvene ljute paprike (0,4%), prah crvene slatke paprike (0,6%) i sol (2%). Polovica sirovog nadjeva nadjevena je u svinjska slijepa crijeva (lat. *intestinum caecum*) dok je preostali dio, prije punjenja u crijeva, odvagan te mu je dodan OTA u koncentraciji  $75 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Uкупno 14 uzoraka sirovog kulena podijeljeno je u dvije skupine (sa i bez dodatka OTA) te su uzorci podvrgnuti tradicionalnom tehnološkom procesu proizvodnje Slavonskog kulena (Kovačević i sur., 2010, Babić i sur., 2011). Tijekom proizvodnog procesa u 8 faza (sirovi nadjev, 14. dan (nakon procesa dimljenja), 30. dan, 60. dan, 90. dan, 120. dan, 150. dan i 180. dan) provedene su fizikalno-kemijske analize, izmjerena vaganjem gubitak na masi (kalo) te određena koncentracija OTA. Također, OTA je određen i u sirovinama za pripremu nadjeva (mesu, slanini, soli, češnjaku, slatkoj i ljutoj začinskoj paprici).

### Određivanje fizikalno-kemijskih svojstava

Primjenom standardnih i internih analitičkih metoda određena su fizikalno-kemijska svojstva proizvedenih uzoraka kulena. Gravimetrijski je određen udio vode (ISO 1442:1997) uz uporabu termostata (Epsa 2000, Ba-Ri) i sušenje pri  $103^{\circ}\text{C}$ . Uкупne masti određene su metodom po Soxhlet-u (HRN ISO 1443:1999) uz ekstrakciju masti eterom na uređaju za ekstrakciju (Soxtherm 2000, Gerhardt). Udio ukupnih bjelančevina određen je metodom po Kjeldahlu (HRN ISO 937:1999) uz uporabu bloka za razaranje (Unit 8 Basic, Foss) i uređaja za destilaciju i titraciju (Kjeltec 8400, Foss). Kolagen je određen spektrofotometrijski (HRN ISO 3496:1999), putem određivanja hidroksiprolina, uz korištenje spektrofotometra (DR/4000U, Hack). Titacijskom metodom određen je udio natrijevog klorida (Trajković i sur., 1989). Sve kemikalije korištene u analizama bile su analitičke čistoće.

### Određivanje koncentracije OTA

Uzorci kulena homogenizirani su pomoću Grindomix GM 200 (Retsch GmbH), a potom na UltraTurrax DI 25

basic homogenizatoru (IKA®Werke, GmbH&Co.KG). U 5 g uzorka dodano je  $7,5 \text{ mL}$  1% vodene otopine natrijevog hidrogen karbonata i miješano na tresilici 2 min. Zatim je dodano  $17,5 \text{ mL}$  metanola, homogenizirano 30 min uz rotiranje, centrifugirano te odmašćeno i odsoljeno. Pipetirano je  $10 \text{ mL}$  uzorka, dodano  $10 \text{ mL}$  heksana, izmućkano te ostavljeno odstajati do odjeljivanja slojeva. Postupak ekstrakcije je ponovljen sa  $10 \text{ mL}$  heksana, a u  $5 \text{ mL}$  odmašćenog uzorka dodano je  $250 \mu\text{L}$   $0,4 \text{ N}$  otopine  $\text{AgNO}_3$ . Nakon taloženja bijelog praha  $\text{AgCl}$  uzorci su centrifugirani tijekom 5 min pri  $3000$  okretaja i sobnoj temperaturi te potom pročišćeni krutofaznom ekstrakcijom uz primjenu imunoafinitetnih kolona Ochräprep® (R-Biopharm, Rhône Ltd) prema proizvođačkoj uputi.

Analiza uzorka provedena je pomoću HPLC-FD uređaja (Shimadzu Kyoto), sastavljenog od SCL 10 APV kontrolnog modula, CTO 10-ASVP termostata, SPD-M10AVP dioda array detektora, autosamplera SIL-10 ADVP, četverorazinske pumpe LC-10 ATVP i fluorimetrijskog detektora RF-10 AXLVP, uz podršku Class VP Vers. 5.032 softwarea. Korištena je kolona SupelcosilTM LC-18, dimenzije  $25 \text{ cm} \times 4,5 \text{ mm}$ , punjena česticama veličine  $5 \mu\text{m}$ . Kao mobilna faza uz brzinu protoka od  $1 \text{ mL/min}$  korištena je otopina acetonitril/voda/izopropanol/ledena octena kiselina (46:46:6:2). Temperatura kolone bila je  $40^{\circ}\text{C}$ , a detektor je postavljen na valnoj duljini pobude od  $333 \text{ nm}$  i valnoj duljini emisije od  $460 \text{ nm}$ . Volumen injektiranja uzorka bio je  $100 \mu\text{L}$ .

HPLC-FD metoda ranije je validirana određivanjem limita detekcije (LOD) i kvantifikacije (LOQ), linearnosti, selektivnosti, iskorištenja i ponovljivosti mjerena. Provedba validacijskih postupaka opisana je u istraživanju Perši i sur. (2014).

### Rezultati i rasprava

Osnovni kemijski sastav uzorka kulena tijekom tehnološkog procesa prikazan je u Tablici 1. Tijekom proizvodnog procesa maseni udio vode sa  $68 - 69\%$  u obje skupine uzoraka značajno se smanjuje te nakon 6 mjeseci zrenja iznosi  $24 - 25\%$ . Smanjenje masenog udjela vode tijekom procesiranja uzrokuje kalo proizvodnje (gubitak na masi) Slavonskog kulena koji prosječno iznosi  $56,5\%$ . Smanjenje masenog udjela vode dovodi do proporcionalnog povećanja suhe tvari u uzorcima kulena, odnosno povećanja masenog udjela osnovnih gradivnih tvari (bjelančevina, masti, kolagena) te soli ( $\text{NaCl}$ ).

Rezultati određivanja OTA u uzorcima kulena prikazani su u Tablicama 2. i 3. te Slikama 1. i 2. Sirovi nadjev referentnog uzorka u koji nije dodavan OTA ima njegovu početnu koncentraciju od  $1,02 \mu\text{g kg}^{-1}$ , a podrijetlom je iz sirovina: mesa ( $0,97 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), začinskih paprika ( $5,6 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) i češnjaka ( $2,10 \mu\text{g kg}^{-1}$ ). Koncentracija OTA u svim fazama

Tablica 1. Osnovni kemijski sastav i maseni udjeli soli (NaCl) u slavonskom kulenu (REF) i slavonskom kulenu kontaminiranom s okratoksinom A (OTA) tijekom dimljenja, fermentacije i zrenja

		Dani proizvodnje							
		0	14	30	60	90	120	150	180
Voda (%)	REF	68,91 ± 0,21	55,67 ± 0,11	48,92 ± 0,09	43,22 ± 0,15	38,60 ± 0,11	32,27 ± 0,13	29,77 ± 0,08	24,41 ± 0,11
	OTA	68,23 ± 0,15	56,12 ± 0,31	49,14 ± 0,12	43,72 ± 0,11	37,57 ± 0,17	33,33 ± 0,09	30,67 ± 0,11	25,02 ± 0,14
Mast (%)	REF	8,67 ± 0,08	15,92 ± 0,23	17,92 ± 0,11	18,82 ± 0,07	17,39 ± 0,20	18,21 ± 0,12	19,32 ± 0,12	21,54 ± 0,09
	OTA	9,21 ± 0,11	15,83 ± 0,18	17,71 ± 0,06	18,55 ± 0,11	17,73 ± 0,18	17,59 ± 0,10	18,94 ± 0,10	20,89 ± 0,15
Bjelančevine (%)	REF	19,19 ± 0,07	22,32 ± 0,11	23,87 ± 0,12	24,12 ± 0,08	34,84 ± 0,20	37,62 ± 0,14	39,12 ± 0,20	41,78 ± 0,22
	OTA	19,36 ± 0,05	22,48 ± 0,08	23,73 ± 0,10	24,36 ± 0,12	35,27 ± 0,15	38,38 ± 0,17	40,67 ± 0,16	42,12 ± 0,24
Kolagen (%)	REF	1,08 ± 0,31	1,19 ± 0,27	1,56 ± 0,33	2,05 ± 0,41	2,06 ± 0,29	2,43 ± 0,25	2,55 ± 0,33	3,01 ± 0,27
	OTA	1,12 ± 0,25	1,08 ± 0,26	1,49 ± 0,28	1,99 ± 0,31	1,89 ± 0,20	2,41 ± 0,29	2,57 ± 0,40	2,97 ± 0,21
Sol (NaCl) (%)	REF	1,92 ± 0,03	2,71 ± 0,03	3,29 ± 0,06	3,63 ± 0,01	3,75 ± 0,04	4,12 ± 0,02	4,53 ± 0,10	4,75 ± 0,04
	OTA	1,89 ± 0,04	2,58 ± 0,05	3,33 ± 0,04	3,72 ± 0,03	3,81 ± 0,05	4,23 ± 0,05	4,57 ± 0,05	4,80 ± 0,06

Prikazani podaci su srednja vrijednost ± standardna devijacija

Tablica 2. Koncentracije okratoksin A u slavonskom kulenu (REF) i slavonskom kulenu kontaminiranom s okratoksinom A (OTA) tijekom dimljenja, fermentacije i zrenja

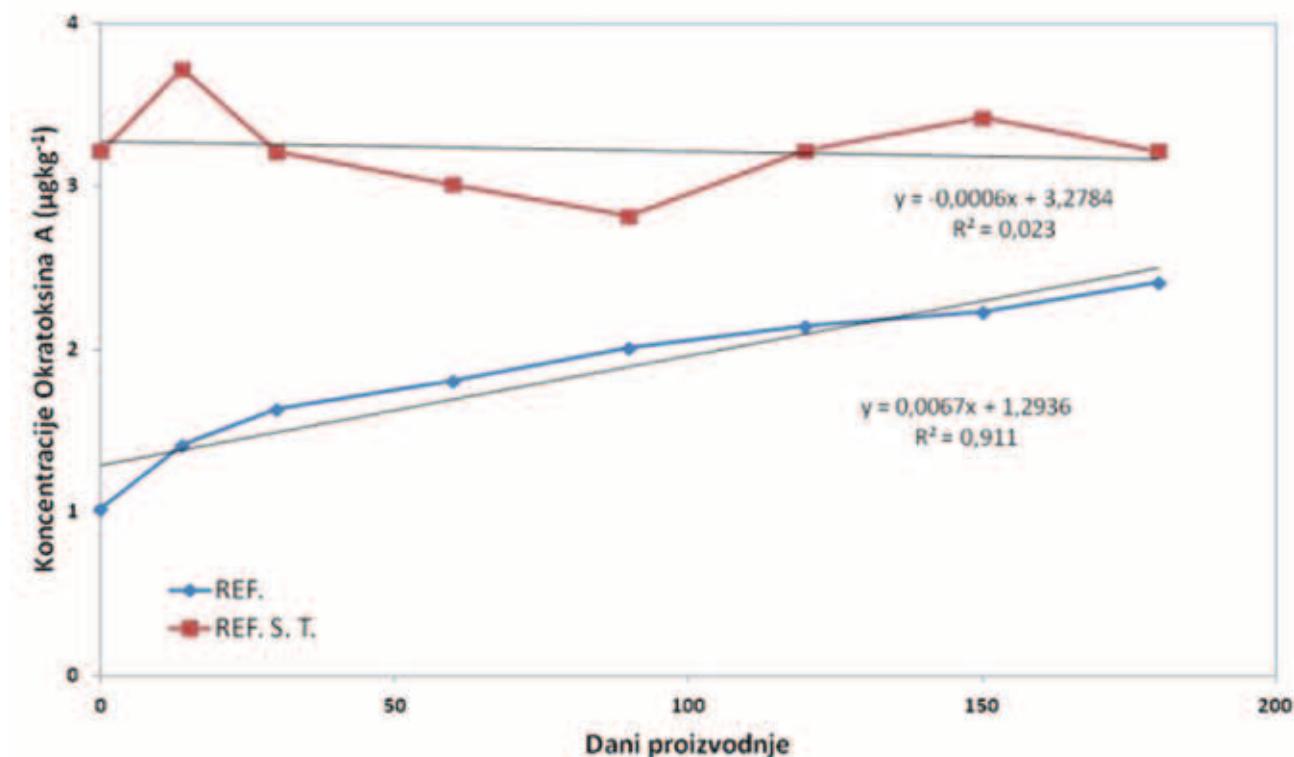
		Dani proizvodnje							
		0	14	30	60	90	120	150	180
Okratoksin A ( $\mu\text{gkg}^{-1}$ )	REF	1,21	1,41	1,63	1,81	2,01	2,14	2,23	2,41
	OTA	74,39	102,91	119,08	131,85	145,54	155,89	162,25	175,82

Tablica 3. Koncentracije okratoksin A (izraženo na suhu tvar) u slavonskom kulenu (REF) i slavonskom kulenu kontaminiranom s okratoksinom A (OTA) tijekom dimljenja, fermentacije i zrenja

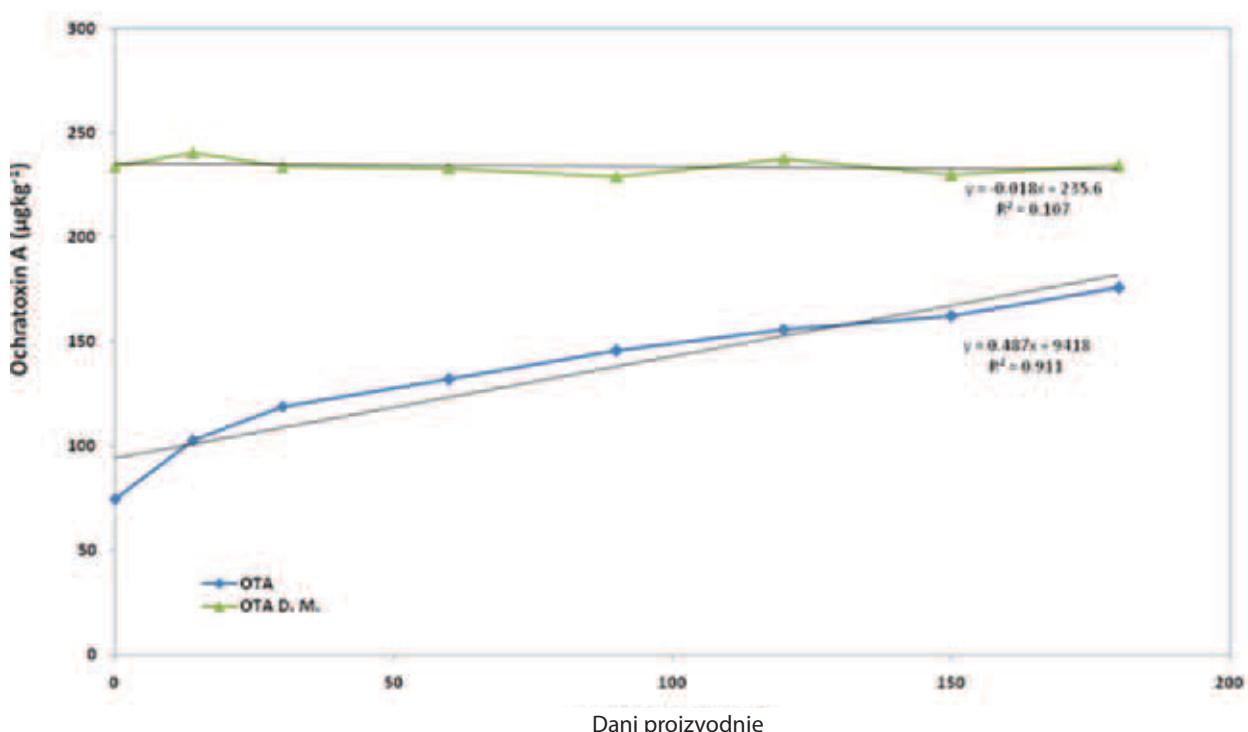
		Dani proizvodnje							
		0	14	30	60	90	120	150	180
Okratoksin A ( $\mu\text{gkg}^{-1}$ )	REF	3,23	3,72	3,21	3,01	2,82	3,22	3,42	3,22
	OTA	234,17	240,53	234,13	233,28	229,12	237,82	230,02	234,49

proizvodnje kontinuirano se linearno povećava (Slike 1. i 2.) što je posljedica gubitka na masi (kala), odnosno smanjenja masenog udjela vode i povećanja masenog udjela suhe tvari u uzorcima kulena. Ukoliko se promjene koncentracije OTA prikažu u grafu ovisnosti koncentracije OTA izražene na suhu tvar o vremenu procesiranja (Slike 1. i 2.) može se zaključiti da niti pojedine tehnološke operacije (dimljenje, fermentacija, sušenje i zrenje), niti vrijeme njihovog trajanja, a niti povećanje koncentracije

dodanih tvari uslijed dehidratacije (sol i začini), ne utječu na promjenu/smanjenje masenog udjela OTA u uzorcima kulena. Prema tome, metode konzerviranja, odnosno tehnološke operacije (sušenje, dimljenje, fermentacija i zrenje) u proizvodnji Slavonskog kulena te dodatak soli i začina, ne smanjuju koncentraciju koncentraciju OTA te se u svrhu smanjenja zdravstvenog rizika uslijed konzumacije kulena kontaminiranog sa OTA, treba djelovati prije svega u fazi pripreme sirovog nadjeva,



Slika 1. Koncentracije okratoksina A u slavonskom kulenu u ovisnosti o vremenu proizvodnje i izraženo na suhu tvar



Slika 2. Koncentracije okratoksina A u slavonskom kulenu kontaminiranom s okratoksinom A (OTA) u ovisnosti o vremenu proizvodnje i izraženo na suhu tvar

odnosno odabira sirovina, mesa i začina koji prethodno nisu kontaminirani ovim kontaminantom.

## Zaključak

Male koncentracije OTA u sirovom nadjevu kulena mogu biti podrijetlom iz sirovina za pripremu nadjeva (mesa, začinske crvene paprike i češnjaka). Kontinuirano linearno povećanje OTA tijekom proizvodnje Slavonskog kulena posljedica je smanjenja masenog udjela vode, odnosno gubitka na masi (kala) uslijed procesa sušenja. Iskazivanje izmjerenih koncentracija OTA na masu suhe tvari uzorka kulena pokazalo je da tehnološke operacije, odnosno metode konzerviranja koje se koriste u tehnologiji proizvodnje kulena (dimljenje, fermentacija, sušenje i zrenje) te dodatak soli i začina, ne utječu na promjenu/smanjenje koncentracije OTA u uzorcima Slavonskog kulena tijekom šestomjesečnog procesiranja.

## Zahvala

Ovaj rad je financirala Hrvatska agencija za hranu putem projekta „Utjecaj površinske pljesni na kontaminaciju slavonskog kulena okratoskinom A tijekom procesa zrenja“.

## Literatura

- Amézqueta, S., E. González-Peña, M. Murillo-Arbizu, AL. De Certain (2009): Ochratoxin A decontamination: A review. Food Control 20, 326-333.
- Asefa, D.T., C.F. Kure, R.O. Gjerde, S. Langsrud, M.K. Omer, T. Nesbakken, I. Skaar (2011): A HACCP plan for mycotoxicogenic hazards associated with dry-cured meat production processes. Food Control 22, 831-837.
- Babić, I., K. Markov, D. Kovačević, A. Trontel, A. Slavica, J. Đugum, K. Čvek, I.K. Svetec, S. Posavec, J. Frece (2011): Identification and characterization of potential autochthonous starter cultures from a Croatian „brand“ product „Slavonski kulen“. Meat Sci. 88, 517-524.
- Bullerman, L.B., A. Bianchini (2007): Stability of mycotoxins during food processing. Int. J. Food Microbiol., 119, 140-146.

Curtui, V. G., M. Gareis, E. Usleber, E. Martlbauer (2001): Survey of Romanian slaughtered pigs for the occurrence of mycotoxins ochratoxin A and B and zearalenone. Food Addit. Contam., 18, 730-738.

Frece, J., K. Markov, D. Kovačević (2010.a): Determination of indigenous microbial populations, mycotoxins and characterization of potential starter cultures in Slavonian kulen. Meso XII (2), 92-98.

Gareis M., R. Scheuer (2000): Ochratoxin A in meat and meat products. Arch. Lebensmittelhyg., 51, 102-104.

HRN ISO 1443 (1999). Meso i mesni proizvodi – Određivanje ukupne količine masti.

HRN ISO 3496 (1994). Meso i mesni proizvodi – Određivanje količine hidroksiprolina.

HRN ISO 937 (1999). Meso i mesni proizvodi – Određivanje količine dušika.

Iacumin, L., L. Chiesa, D. Boscolo, M. Manzano, C. Cantoli, S. Orlic, G. Comi (2009): Moulds and ochratoxin A on surfaces of artisanal and industrial dry sausages. Food Microbiol., 26, 65-70.

IARC (International Agency for Research on Cancer) 1993. Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to humans, Vol. 56. IARC, Lyon.

ISO 1442 (1997). Meat and meat products – Determination of moisture content.

Kovačević, D., K. Mastanjević, D. Šubarić, I. Jerković, Z. Marijanović (2010): Physico-chemical, colour and textural properties of Croatian traditional dry sausage (Slavonian Kulen). Meso, 12, 270-276.

Lusky K., D. Tesch, R. Gobel (1993): Influence of the mycotoxin ochratoxin A on animal health and formation of residues in pigs and different types of sausages derived from these animals. Arch. Lebensmittelhyg., 44, 131-134.

Malagutti, L., M. Zannotti, A. Scampini, F. Sciaraffia (2005): Effect of ochratoxin A on heavy pig production. Anim. Res., 54, 179-184.

Moss M. O. (1996): Mycotoxins. Mycological Research, 100, 513-523.

Moss, M. O. (2000): Toxicogenic Fungi and Mycotoxins. In B. M. Lund, T. C. Baird-Parker & G. W. Gould (Eds.), The Microbiological Safety and Quality of Foods: Volume 1 (pp. 281-304). Maryland: Aspen Publishers Inc.

Perši, N., J. Pleadin, D. Kovačević, G. Scorticchini, S. Milone (2014): Ochratoxin A in raw materials and cooked meat products made from OTA-treated pigs. Meat Sci. 96, 203-210.

Pleardin, J., N. Perši, D. Kovačević, N. Vahčić, G. Scorticchini, S. Milone (2013): Ochratoxin A in traditional dry-cured meat products produced from subchronic exposed pigs. Food Addit. Contam. Part A. 30, 1837-1848.

Trajković, J., M. Mirić, J. Baras, S. Šiler (1983): Analize životnih namirnica, Tehnološko metalurški fakultet, Beograd.

Dostavljeno: 20.3.2014

Prihvaćeno: 30.4.2014.



5.-7. rujna 22. JESENSKI MEĐUNARODNI BJELOVARSKI SAJAM

Poljoprivreda, Stočarstvo, Gospodarstvo i Obrtništvo

22. Državna stočarska izložba

6. LOREKO sajam lova, ribolova, ekologije i ruralnog turizma

## Einfluss der technologischen Operationen auf die Verminderung der Ochratoxinkonzentration A während der Herstellung von Kulen aus Slawonien (Slawonski Kulen)

### Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurde der Einfluss der einzelnen technologischen Operationen (Räuchern, Trocknen, Fermentation und Reifen) untersucht, uzw. auf Verminderung der Ochratoxinkonzentration A (OTA) in Mustern von Slavonski Kulen, dessen Füllung vorher mit OTA ( $75 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) kontaminiert wurde. Die Muster von rohem Kulen wurden nach traditionellem Rezept hergestellt und in zwei Gruppen geteilt (referent und kontaminiert mit OTA). Den Zutaten (Fleisch, Speck, Salz und Gewürze) sowie den Kulenmustern in allen Herstellungsphasen (nach Vorbereitung der Füllung, Räuchern, Fermentation, Trocknen und Reifen) wurden durch Anwendung der standarden und internen analytischen Methoden physikalisch-chemische Eigenschaften bestimmt, durch das Wiegen von Massenverlust (kalo) sowie die Konzentration von OTA durch die Anwendung der HPLC-FD Methode. Die OTA Konzentration im Rohfleisch ( $1,02 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) ist die Folge von Fleischkontaminierung, Gewürzpaprika und Knoblauch. Diese Konzentration und die Konzentration von OTA in Fleischmustern, die kontaminiert wurden, vergrößerte sich kontinuierlich linear während des Herstellungsprozesses bis zu dem Wert  $2,41 \mu\text{g kg}^{-1}$ , bzw. bis  $175,82 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Dies ist das Resultat von Herstellungskalo, bzw. der Verminderung des Wasserfettanteils in den Mustern. Wenn die Konzentrationsveränderungen von OTA auf trockene Substanz ausgedrückt werden, kann man zum folgenden Abschluss kommen: weder einzelne technologische Operationen und ihre Dauer noch die Konzentrationsvergrößerung von zugegebenen Stoffen haben in Folge von Dehydrierung (Salz und Gewürze) einen Einfluss auf Veränderung/Verminderung der Konzentration von OTA in beiden Mustergruppen von Kulen.

**Schlüsselwörter:** Verminderung der Konzentration von OTA, Slavonski Kulen, technologische Operationen

## La influencia de las operaciones tecnológicas sobre la disminución del ocratoxina A durante la producción del kulen de Eslavonia

### Resumen

En este trabajo fue estudiada la influencia de algunas operaciones tecnológicas (el ahumado, el curado, la fermentación y la maduración) sobre la disminución de la concentración del ocratoxina A (OTA) en las muestras del kulen de Eslavonia, cuyo relleno fue previamente contaminado por OTA ( $75 \mu\text{g kg}^{-1}$ ). Las muestras del kulen crudo fueron preparados según la receta tradicional y divididas en dos grupos (referencial y contaminados por OTA). Las cualidades físico-químicas fueron determinadas para las materias primas (carne, panceta, sal y condimentos) y para las muestras del kulen en todas las fases de producción (después de la preparación del relleno, después del ahumado, de la fermentación, curación y maduración) por los métodos analíticos estandarizados e internos. La pérdida de grasa (merma) fue determinada con balanza y la concentración del OTA por el método HPLC-FD. La concentración del OTA en el relleno crudo ( $1,02 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) fue el resultado de la contaminación de carne y de condimentos como el pimiento y el ajo. La concentración del OTA en el relleno crudo y en las muestras contaminadas iba aumentando continuamente durante el proceso de producción hasta el valor de  $2,41 \mu\text{g kg}^{-1}$ , es decir hasta  $175,82 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Es el resultado de la merma de producción, o sea de la disminución del porcentaje de masa del agua en las muestras. Si nos referimos a los cambios de la concentración del OTA en materia seca, llegamos a la conclusión que tanto las operaciones tecnológicas específicas como la duración de estas operaciones y tampoco el aumento de la concentración de materias añadidas influyen sobre el cambio/disminución de la concentración del OTA en ambos grupos de muestras de kulen.

**Palabras claves:** disminución de la concentración del OTA, kulen de Eslavonia, operaciones tecnológicas

## Influenza delle operazioni tecnologiche sulla riduzione della concentrazione di ocratossina A durante la produzione del kulen di Slavonia

### Riassunto

In questo lavoro si esamina l'influenza di singole operazioni tecnologiche (affumicatura, essicazione, fermentazione e maturazione) sulla riduzione della concentrazione di ocratossina A (OTA) nei campioni di kulen di Slavonia il cui impasto sia stato in precedenza contaminato con OTA ( $75 \mu\text{g kg}^{-1}$ ). I campioni di kulen crudo sono preparati secondo una ricetta tradizionale e suddivisi in due gruppi (kulen di riferimento e kulen contaminati con OTA). Le proprietà chimico - fisiche delle materie prime (carne, lardo, sale e spezie) e dei campioni di kulen in ogni fase della produzione (dopo la preparazione dell'impasto, l'affumicatura, la fermentazione, l'essicazione e la maturazione) si determinano con l'applicazione di metodi standard e analitici interni. La perdita di massa (calo) si determina mediante la pesatura, mentre la concentrazione di OTA si stabilisce tramite il metodo HPLC-FD. La concentrazione di OTA nell'impasto crudo ( $1,02 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) è conseguenza della contaminazione della carne, della paprika di condimento e dell'aglio. Nel corso del processo produttivo (ciò vale anche per la concentrazione di OTA nei campioni contaminati) tale concentrazione ha continuato a crescere in modo lineare sino a raggiungere il valore di  $2,41 \mu\text{g kg}^{-1}$  ( $175,82 \mu\text{g kg}^{-1}$  per i campioni). Ciò è dovuto alla perdita di massa, ossia alla riduzione della percentuale d'acqua nei campioni. Se la modificazione dei valori di concentrazione di OTA dovesse riflettersi sulla materia secca, si potrebbe concludere che né le singole operazioni tecnologiche, né la loro durata, né l'aumento della concentrazione di sostanze aggiunte a causa della disidratazione (sale e spezie) possono influenzare la modificazione / la riduzione di concentrazione di OTA in ambedue i gruppi di campioni di kulen.

**Parole chiave:** riduzione della concentrazione di OTA, kulen di Slavonia, operazioni tecnologiche