

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

Mateja LUŠNIC POLAK

**RAZGRADNJA POLIKLORIRANIH BIFENILOV S STARTERSKIMI  
KULTURAMI ZA IZDELAVO SUŠENIH MESNIN**

DOKTORSKA DISERTACIJA

**DEGRADATION OF POLYCHLORINATED BIPHENYLS BY  
COMMERCIAL MEAT STARTER CULTURES**

DOCTORAL DISSERTATION

Ljubljana, 2014

Popravki

Doktorska disertacija je bila opravljena na Katedri za tehnologijo mesa in vrednotenje živil Oddelka za živilstvo, Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani in Nacionalnem inštitutu za javno zdravje (bivši Inštitut za varovanje zdravja v Ljubljani).

Na podlagi Statuta Univerze v Ljubljani ter po sklepu senata Biotehniške fakultete in sklepa Senata Univerze z dne 6. 7. 2011, je bilo potrjeno, da kandidatka izpolnjuje pogoje za neposreden prehod na doktorski študij Bioloških in biotehniških znanosti ter opravljanje doktorata znanosti s področja živilstva. Za mentorja doktorske disertacije je bil imenovan prof. dr. Božidar Žlender.

Mentor: prof. dr. Božidar Žlender

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednica: doc. dr. Barbara Jeršek

Članica: prof. dr. Lea Demšar

Član: prof. dr. Andrej Kirbiš

Datum zagovora:

Podpisana izjavljam, da je disertacija rezultat lastnega raziskovalnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na univerzo neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravici shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Doktorandka:

Mateja Lušnic Polak

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dd
DK	UDK 615.9:661.723:637.5:579.67(043)=163.6
KG	toksične spojine/PCB/poliklorirani bifenili/starterske kulture/komercialne starterske kulture/tekoča gojišča/mesni izdelki/mesna emulzija/suhe salame
AV	LUŠNIC POLAK, Mateja, univ. dipl. inž. živ. tehnol.
SA	ŽLENDER, Božidar (mentor)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Podiplomski študij bioloških in biotehniških znanosti, področje živilstva
LI	2014
IN	RAZGRADNJA POLIKLORIRANIH BIFENILOV S STARTERSKIMI KULTURAMI ZA IZDELAVO SUŠENIH MESNIN
TD	Doktorska disertacija
OP	XV, 90 str., 22 pregl., 37 sl., 1 pril., 59 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
AI	V disertaciji smo želeli preveriti vpliv komercialnih starterskih kultur na razgradnjo polikloriranih bifenilov (PCB) v različnih medijih. Poskus smo razdelili na tri dele. V prvem delu smo kot medij uporabili tekoči gojišči BHI (Brain Hearth Infusion Broth) in MRS (de Man, Rogosa in Sharpe) ter komercialni starterski kulturi Texel DCM-1 in Texel LM-30. V drugem delu smo morebitno razgradnjo PCB spremljali v mesnih emulzijah, kjer smo poleg starterske kulture Texel DCM-1 uporabili še proteinski ekstrakt, pridobljen iz iste starterske kulture. Preverili smo tudi, kako toplotna obdelava mesne emulzije (središčni temperaturi 78 °C in 100 °C) vpliva na vsebnost PCB. V tretjem delu, kjer je bil približek mesni industriji največji, smo razgradnjo PCB med procesom sušenja/zorenja spremljali v suhih salamah. Poleg že omenjenih starterskih kultur smo uporabili še Biostar Sprint in SM-181. V vsakem poskusu smo izvedli drugačno metodo ekstrakcije, predvsem zaradi razlik v uporabljenih medijih. V tekočih gojiščih in mesni emulziji smo za določitev PCB uporabili GC-ECD, v suhih salamah pa GC-MS. V vseh treh poskusih smo dokazali statistično značilno razgradnjo PCB z uporabljenimi starterskimi kulturami. Največjo razgradnjo PCB smo dokazali v poskusu na gojiščih s startersko kulturo Texel DCM-1 ( <i>Staphylococcus carnosus</i> , <i>Staphylococcus xylosus</i> ) v gojišču MRS. Sledila je mesna emulzija, kjer smo maksimalno razgradnjo PCB dosegli pri središčni temperaturi 100 °C, v skupini z dodanim starterjem. Najmanjši odstotek PCB se je razgradil v suhih salamah, kjer je izstopala skupina z dodano startersko kulturo SM-181 ( <i>Lactobacillus sakei</i> HJ-7, <i>Staphylococcus xylosus</i> DD-34).

## KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dd  
DC UDC 615.9:661.723:637.5:579.67(043)=163.6  
CX toxic compounds/PCBs/polychlorinated biphenyls/starter cultures/commercial meat starter cultures/liquid broths/meat products/meat emulsion/dry fermented sausages  
AU LUŠNIC POLAK, Mateja  
AA ŽLENDER, Božidar (supervisor)  
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101  
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Postgraduate Study of Biological and Biotechnical Sciences, Field: Food Science and Technology  
PY 2014  
TI DEGRADATION OF POLYCHLORINATED BIPHENYLS BY COMMERCIAL MEAT STARTER CULTURES  
DT Doctoral dissertation  
NO XV, 90 p., 22 tab., 37 fig., 1 ann., 59 ref.  
LA sl  
AL sl/en  
AB Influence of starter cultures on polychlorinated biphenyls (PCBs) degradation in various media was tested in the frame of the thesis. The experiment was divided into three parts. In the first part liquid broths BHI (Brain Heart Infusion Broth) and MRS (de Man, Rogosa and Sharpe) were used, as well as commercial starter cultures Texel DCM-1 and Texel LM-30. The eventual PCBs degradation in the meat emulsions was tested in the second part in which protein extracts obtained from the same starter culture were added to supplement the used Texel DCM 1 starter culture. Also the influence of heat treatment (core temperature 78 °C and 100 °C) on meat emulsions' PCBs content was tested. In the third part, with the closest connection to real meat industry the PCBs degradation was followed during the dry fermented sausages drying/maturing process. Biostar Sprint and SM-181 were also used, besides the already mentioned starter cultures. A different extraction method was applied in each of the experiments, mainly due to differences in the media used. GC-ECD was used to determine PCBs concentration in liquid media and meat emulsions and GC-MS was used in dry fermented sausages. Statistically significant PCBs degradation with added starter cultures was proved in all the experiments. The highest PCBs degradation has been determined in the experiment with a Texel DCM-1 (*Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus xylosus*) starter culture in MRS nutrient medium. Meat emulsion followed in which maximal degradation was reached at core temperature 100 °C and with added starter. The lowest percentage of PCBs degradation was observed in dry fermented sausages samples, among which the sample with starter culture SM-181 (*Lactobacillus sakei* HJ-7, *Staphylococcus xylosus* DD-34) exhibited highest degradation rate.

## KAZALO VSEBINE

<b>KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA .....</b>	<b>III</b>
<b>KEY WORDS DOCUMENTATION .....</b>	<b>IV</b>
<b>KAZALO VSEBINE.....</b>	<b>V</b>
<b>KAZALO PREGLEDNIC .....</b>	<b>VIII</b>
<b>KAZALO SLIK.....</b>	<b>X</b>
<b>KAZALO PRILOG.....</b>	<b>XIV</b>
<b>OKRAJŠAVE IN SIMBOLI .....</b>	<b>XV</b>
<b>1 UVOD .....</b>	<b>1</b>
1.1 CILJI RAZISKOVANJA IN DELOVNE HIPOTEZE .....	2
<b>2 PREGLED OBJAV .....</b>	<b>3</b>
2.1 SPLOŠNE LASTNOSTI PCB .....	3
2.2 UPORABA PCB V INDUSTRIJI.....	4
<b>2.2.1 Hladno onesnaževanje (povečanje koncentracije PCB v vodi, zraku, zemlji in živih organizmih).....</b>	<b>5</b>
<b>2.2.2 Vroče onesnaževanje (razpadanje PCB pri povišani temperaturi v nekontroliranem okolju).....</b>	<b>5</b>
2.3 SLOVENSKA ZAKONODAJA O PCB.....	6
2.4 POLIKLORIRANI DIBENZOFURANI (PCDF) IN POLIKLORIRANI DIBENZODIOKSINI (PCDD).....	7
<b>2.4.1 Ekvivalent toksičnosti .....</b>	<b>7</b>
2.5 IZPOSTAVLJENOST PCB MED RAZLIČNIMI SKUPINAMI PREBIVALSTVA .....	8
2.6 VPLIV PCB NA ZDRAVJE LJUDI .....	9
2.7 BIODEGRADACIJA (BIOLOŠKA RAZGRADNJA) PCB V OKOLJU .....	10
<b>2.7.1 Anaerobna transformacija PCB .....</b>	<b>11</b>
<b>2.7.2 Aerobna deklorinacija .....</b>	<b>12</b>
2.8 VSEBNOST PCB V HRANI.....	13
2.9 RAZGRADNJA PCB S STARTERSKIMI KULTURAMI.....	17
2.10 STARTERSKE KULTURE .....	18
<b>2.10.1 Mlečnokislinske bakterije.....</b>	<b>19</b>
<b>2.10.2 Mikrokokki .....</b>	<b>20</b>
2.11 IZDELAVA SUHE KLOBASE.....	21
<b>2.11.1 Zorenje .....</b>	<b>22</b>
<b>3 MATERIAL IN METODE .....</b>	<b>25</b>

3.1	MATERIAL IN NAČRT POSKUSA .....	25
<b>3.1.1</b>	<b>Spremljanje razgradnje PCB v tekočih gojiščih.....</b>	<b>25</b>
3.1.1.1	Izvedba poskusa .....	26
3.1.1.2	Mikrobiološka analiza .....	26
<b>3.1.2</b>	<b>Spremljanje razgradnje PCB v mesni emulziji .....</b>	<b>27</b>
3.1.2.1	Izdelava mesne emulzije .....	28
3.1.2.2	Izolacija proteinov (proteinski ekstrakt).....	28
3.1.2.3	Izvedba poskusa .....	28
<b>3.1.3</b>	<b>Spremljanje razgradnje PCB v suhih salamah.....</b>	<b>29</b>
3.1.3.1	Izdelava suhih salam .....	30
3.2	METODE .....	32
<b>3.2.1</b>	<b>Določanje osnovne kemijske sestave suhih salam z metodo NIR.....</b>	<b>32</b>
<b>3.2.2</b>	<b>Določanje PCB v gojiščih.....</b>	<b>32</b>
3.2.2.1	Postopek ekstrakcije PCB .....	32
3.2.2.2	Ekstrakcija s trdno fazo (SPE).....	32
3.2.2.3	Plinska kromatografija .....	32
3.2.2.4	Umeritvene krivulje.....	35
3.2.2.5	Statistična analiza podatkov .....	37
<b>3.2.3</b>	<b>Določanje PCB v mesni emulziji .....</b>	<b>38</b>
3.2.3.1	Postopek ekstrakcije PCB .....	38
3.2.3.2	Ekstrakcija s trdno fazo (SPE).....	38
3.2.3.3	Plinska kromatografija .....	38
3.2.3.4	Statistična analiza podatkov .....	40
<b>3.2.4</b>	<b>Določanje PCB v suhih salamah .....</b>	<b>41</b>
3.2.4.1	Postopek ekstrakcije PCB .....	41
3.2.4.2	Plinska kromatografija .....	41
3.2.4.3	Statistična analiza podatkov .....	43
<b>4</b>	<b>REZULTATI.....</b>	<b>44</b>
4.1	SPREMLJANJE RAZGRADNJE PCB V TEKOČIH GOJIŠČIH .....	44
<b>4.1.1</b>	<b>Vpliv dodatka PCB na rast starterskih kultur .....</b>	<b>44</b>
<b>4.1.2</b>	<b>Razgradnja PCB.....</b>	<b>47</b>
4.2	SPREMLJANJE RAZGRADNJE PCB V MESNIH EMULZIJAH.....	55
<b>4.2.1</b>	<b>Presna mesna emulzija.....</b>	<b>55</b>
<b>4.2.2</b>	<b>Toplotno obdelana mesna emulzija (središčna temperatura 78 °C).....</b>	<b>56</b>
<b>4.2.3</b>	<b>Toplotno obdelana mesna emulzija (središčna temperatura 100 °C).....</b>	<b>57</b>
4.3	SPREMLJANJE RAZGRADNJE PCB V SUHIH SALAMAH.....	62
<b>4.3.1</b>	<b>Spremljanje procesa sušenja/zorenja salam .....</b>	<b>62</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Vsebnosti PCB v suhih salamah.....</b>	<b>65</b>
<b>4.3.3</b>	<b>Vsebnosti PCB v suhi snovi salam .....</b>	<b>67</b>

<b>5</b>	<b>RAZPRAVA IN SKLEPI.....</b>	<b>75</b>
5.1	RAZPRAVA.....	75
5.1.1	Spremljanje razgradnje PCB s komercialnimi starterskimi kulturami v tekočih gojiščih.....	75
5.1.2	Spremljanje razgradnje PCB s komercialnimi starterskimi kulturami v mesni emulziji.....	76
5.1.3	Spremljanje razgradnje PCB s komercialnimi starterskimi kulturami v suhih salamah.....	77
5.2	SKLEPI.....	80
<b>6</b>	<b>POVZETEK (SUMMARY).....</b>	<b>81</b>
6.1	POVZETEK .....	81
6.2	SUMMARY .....	83
<b>7</b>	<b>VIRI .....</b>	<b>85</b>

**ZAHVALA**

**PRILOGA**



## KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Primeri uporabe PCB v industriji (Costabeber in Emanuelli, 2003) .....	4
Preglednica 2: Ekvivalentni faktorji toksičnosti (TEF) (EFSA, 2012) .....	8
Preglednica 3: Ekvivalenti toksičnosti (TEQ) v analiziranih vzorcih hrane (Chovancova in sod., 2005) .....	14
Preglednica 4: Vsebnost PCDD, PCDF in non-orto PCB (pg/g maščobe) v različnih vrstah mesa (Papadopoulos in sod., 2002) .....	15
Preglednica 5: Vsebnost PCB (ng/g) v različni vrsti hrane (Voorspoels in sod., 2008) .....	16
Preglednica 6: Vsebnost PCB (ppb) v različnih vrstah mesa (MeeKyung, 2004; Hribar, 2008).....	17
Preglednica 7: Mikroorganizmi, zastopani v komercialnih starterskih kulturah (Čavlek, 1997).....	19
Preglednica 8: Komercialne mešanice starterskih kultur za hitro fermentirane klobase (Marianski in Marianski, 2009) .....	21
Preglednica 9: Vpliv starterskih kultur na razvoj senzoričnih lastnosti fermentiranih klobas med zorenjem (Čavlek, 1997).....	23
Preglednica 10: Sestavine za izdelavo mesne emulzije.....	28
Preglednica 11: Sestavine za izdelavo suhih salam.....	30
Preglednica 12: Tehnološki parametri med sušenjem/zorenjem salam.....	31
Preglednica 13: Parametri plinske kromatografije za določanje vsebnosti PCB v gojiščih.....	33
Preglednica 14: Parametri plinske kromatografije za določanje vsebnosti PCB v mesni emulziji .....	39
Preglednica 15: Parametri nastavitve GC-MS.....	42
Preglednica 16: Razgradnja skupnih in posameznih PCB v tekočih gojiščih BHI in MRS s starterskima kulturama Texel DCM-1 in Texel LM-30 med 14-dnevno inkubacijo (336 ur) pri 30 °C. V gojišče smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix.....	47
Preglednica 17: Ostanek skupnih in posameznih PCB v presni (toplotno neobdelani) mesni emulziji brez ali z dodano startersko kulturo oz. proteinskim ekstraktom iz iste starterske kulture, po 72-urni inkubaciji pri 4 °C. V mesno emulzijo smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix .....	55
Preglednica 18: Ostanek skupnih in posameznih PCB v toplotno obdelani (središčna temperatura 78 °C) mesni emulziji brez ali z dodano startersko kulturo oz. proteinskim ekstraktom iz iste starterske kulture, po 72-urni inkubaciji pri 4 °C. V mesno emulzijo smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix .....	56
Preglednica 19: Ostanek skupnih in posameznih PCB v toplotno obdelani (središčna temperatura 100 °C) mesni emulziji brez ali z dodano startersko kulturo oz. proteinskim ekstraktom iz iste starterske kulture, po 72-urni inkubaciji pri 4 °C. V mesno emulzijo smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix .....	57
Preglednica 20: Spreminjanje osnovnih kemijskih parametrov (beljakovin, maščob in vode) v suhih salamah med 28-dnevnim sušenjem/zorenjem, brez oz. z dodanimi starterskimi kulturami. V maso za salame smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix .....	63

Preglednica 21: Vsebnost skupnih in posameznih PCB ( $\mu\text{g}/\text{kg}$  salame) v suhih salamah med 28-dnevnim sušenjem/zorenjem, brez oz. z dodanimi starterskimi kulturami. V maso za salame smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix ..... 65

Preglednica 22: Vsebnost skupnih in posameznih PCB ( $\mu\text{g}/\text{kg}$  suhe snovi) v suhih salamah med 28-dnevnim sušenjem/zorenjem, brez oz. z dodanimi starterskimi kulturami. V maso za salame smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix ..... 68

## KAZALO SLIK

Slika 1: Strukturna formula PCB (Wiegel in Wu, 2000) .....	3
Slika 2: Možna pot anaerobne razgradnje višje klorirane PCB kongenere (Fish in Principe, 1994).....	11
Slika 3: Možna pot aerobne oksidativne razgradnje bifenila (Bevinakatti in Ninnebar, 1992) .....	12
Slika 4: Kromatogram standardne raztopine PCB Congener mix, določene z GC- $\mu$ ECD (koncentracija posamezne kongenere: 10 ppb).....	33
Slika 5: Kromatogram vzorca gojišča MRS s startersko kulturo Texel DCM-1 in dodatkom standardne raztopine PCB Congener Mix ob času 0, določenega z GC- $\mu$ ECD .....	34
Slika 6: Umeritvene krivulje posameznih standardov PCB v koncentracijah od 1 do 10 ppb (A – PCB 10; B – PCB 28; C – PCB 52).....	35
Slika 7: Umeritvene krivulje posameznih standardov PCB v koncentracijah od 1 do 10 ppb (D – PCB 138; E – PCB 153; F – PCB 180) .....	36
Slika 8: Kromatogram standardne raztopine PCB Congener mix, določene z GC- $\mu$ ECD (koncentracija posamezne kongenere: 10 ppb).....	39
Slika 9: Kromatogram vzorca mesne emulzije s startersko kulturo Texel DCM-1 in dodatkom standardne raztopine PCB Congener Mix pri 4 °C, določenega z GC- $\mu$ ECD .....	40
Slika 10: Kromatogram standardne raztopine PCB Congener mix, določene z GC-MS (koncentracija posamezne kongenere: 10 ppb).....	42
Slika 11: Kromatogram vzorca suhe salame s startersko kulturo Texel DCM-1 in dodatkom standardne raztopine PCB Congener Mix po 28 dneh sušenja/zorenja, določenega z GC-MS.....	43
Slika 12: Rastna krivulja starterske kulture Texel DCM-1 ( <i>S. carnosus</i> , <i>S. xylosus</i> ) v gojišču MRS med 14-dnevno (336 ur) inkubacijo pri 30 °C z dodatkom 50 $\mu$ l acetona (negativna kontrola) oz. 50 $\mu$ l standardne raztopine PCB Congener Mix v acetonu.....	44
Slika 13: Rastna krivulja starterske kulture Texel DCM-1 ( <i>S. carnosus</i> , <i>S. xylosus</i> ) v gojišču BHI med 14-dnevno (336 ur) inkubacijo pri 30 °C z dodatkom 50 $\mu$ l acetona (negativna kontrola) oz. 50 $\mu$ l standardne raztopine PCB Congener Mix v acetonu.....	45
Slika 14: Rastna krivulja starterske kulture Texel LM-30 ( <i>L. sakei</i> , <i>S. carnosus</i> , <i>S. xylosus</i> ) v gojišču MRS med 14-dnevno (336 ur) inkubacijo pri 30 °C z dodatkom 50 $\mu$ l acetona (negativna kontrola) oz. 50 $\mu$ l standardne raztopine PCB Congener Mix v acetonu .....	45
Slika 15: Rastna krivulja starterske kulture Texel LM-30 ( <i>L. sakei</i> , <i>S. carnosus</i> , <i>S. xylosus</i> ) v gojišču BHI med 14-dnevno (336 ur) inkubacijo pri 30 °C z dodatkom 50 $\mu$ l acetona (negativna kontrola) oz. 50 $\mu$ l standardne raztopine PCB Congener Mix v acetonu .....	46
Slika 16: Razgradnja PCB 10 s starterskima kulturama Texel DCM-1 in Texel LM-30 v gojiščih MRS in BHI med 14-dnevno inkubacijo (336 ur) pri 30 °C. V gojišče smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih.....	50

- Slika 17: Razgradnja PCB 28 s starterskima kulturama Texel DCM-1 in Texel LM-30 v gojiščih MRS in BHI med 14-dnevno inkubacijo (336 ur) pri 30 °C. V gojišče smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih..... 51
- Slika 18: Razgradnja PCB 52 s starterskima kulturama Texel DCM-1 in Texel LM-30 v gojiščih MRS in BHI med 14-dnevno inkubacijo (336 ur) pri 30 °C. V gojišče smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih..... 51
- Slika 19: Razgradnja PCB 138 s starterskima kulturama Texel DCM-1 in Texel LM-30 v gojiščih MRS in BHI med 14-dnevno inkubacijo (336 ur) pri 30 °C. V gojišče smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih..... 52
- Slika 20: Razgradnja PCB 153 s starterskima kulturama Texel DCM-1 in Texel LM-30 v gojiščih MRS in BHI med 14-dnevno inkubacijo (336 ur) pri 30 °C. V gojišče smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih..... 52
- Slika 21: Razgradnja PCB 180 s starterskima kulturama Texel DCM-1 in Texel LM-30 v gojiščih MRS in BHI med 14-dnevno inkubacijo (336 ur) pri 30 °C. V gojišče smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih..... 53
- Slika 22: Razgradnja skupnih PCB s starterskima kulturama Texel DCM-1 in Texel LM-30 v gojiščih MRS in BHI med 14-dnevno inkubacijo (336 ur) pri 30 °C. V gojišče smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih..... 53
- Slika 23: Razgradnja PCB 10 v mesni emulziji brez (kontrola) ali z dodano startersko kulturo Texel DCM-1 (+starter) oz. proteinskim ekstraktom iz iste starterske kulture (+proteinski ekstrakt), presni (4 °C) in toplotno obdelani (78 in 100 °C), po 72-urni inkubaciji pri 4 °C. V mesno emulzijo smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih..... 58
- Slika 24: Razgradnja PCB 28 v mesni emulziji brez (kontrola) ali z dodano startersko kulturo Texel DCM-1 (+starter) oz. proteinskim ekstraktom iz iste starterske kulture (+proteinski ekstrakt), presni (4 °C) in toplotno obdelani (78 in 100 °C), po 72-urni inkubaciji pri 4 °C. V mesno emulzijo smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih..... 58
- Slika 25: Razgradnja PCB 52 v mesni emulziji brez (kontrola) ali z dodano startersko kulturo Texel DCM-1 (+starter) oz. proteinskim ekstraktom iz iste starterske kulture (+proteinski ekstrakt), presni (4 °C) in toplotno obdelani (78 in 100 °C), po 72-urni inkubaciji pri 4 °C. V mesno emulzijo smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih..... 59
- Slika 26: Razgradnja PCB 138 v mesni emulziji brez (kontrola) ali z dodano startersko kulturo Texel DCM-1 (+starter) oz. proteinskim ekstraktom iz iste starterske kulture (+proteinski ekstrakt), presni (4 °C) in toplotno obdelani (78 in 100 °C), po 72-urni inkubaciji pri 4 °C. V mesno emulzijo smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih..... 59
- Slika 27: Razgradnja PCB 153 v mesni emulziji brez (kontrola) ali z dodano startersko kulturo Texel DCM-1 (+starter) oz. proteinskim ekstraktom iz iste starterske kulture (+proteinski ekstrakt), presni (4 °C) in toplotno obdelani (78 in 100 °C), po 72-urni inkubaciji pri 4 °C. V mesno emulzijo smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih..... 60
- Slika 28: Razgradnja PCB 180 v mesni emulziji brez (kontrola) ali z dodano startersko kulturo Texel DCM-1 (+starter) oz. proteinskim ekstraktom iz iste starterske kulture (+proteinski ekstrakt), presni (4 °C) in toplotno obdelani (78 in 100 °C), po

72-urni inkubaciji pri 4 °C. V mesno emulzijo smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih .....	60
Slika 29: Razgradnja skupnih PCB v mesni emulziji brez (kontrola) ali z dodano startersko kulturo Texel DCM-1 (+starter) oz. proteinskim ekstraktom iz iste starterske kulture (+proteinski ekstrakt), presni (4 °C) in toplotno obdelani (78 in 100 °C), po 72-urni inkubaciji pri 4 °C. V mesno emulzijo smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih .....	61
Slika 30: Izguba mase med 28-dnevnim sušenjem/zorenjem salam brez (PCBKS – kontrola) oz. z dodanimi starterskimi kulturami (PCB1S – starterska kultura Texel DCM-1, PCB2S – starterska kultura Texel LM-30, PCB3S – starterska kultura Biostar Sprint, PCB4S – starterska kultura SM-181). V maso za salame smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih.....	62
Slika 31: Razgradnja PCB 10 v suhih salamah med 28-dnevnim sušenjem/zorenjem brez (PCBKS –kontrola) oz. z dodanimi starterskimi kulturami (PCB1S – starterska kultura Texel DCM-1, PCB2S –starterska kultura Texel LM-30, PCB3S – starterska kultura Biostar Sprint, PCB4S – starterska kultura SM-181). V maso za salame smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih .....	70
Slika 32: Razgradnja PCB 28 v suhih salamah med 28-dnevnim sušenjem/zorenjem brez (PCBKS –kontrola) oz. z dodanimi starterskimi kulturami (PCB1S – starterska kultura Texel DCM-1, PCB2S –starterska kultura Texel LM-30, PCB3S – starterska kultura Biostar Sprint, PCB4S – starterska kultura SM-181). V maso za salame smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih .....	71
Slika 33: Razgradnja PCB 52 v suhih salamah med 28-dnevnim sušenjem/zorenjem brez (PCBKS –kontrola) oz. z dodanimi starterskimi kulturami (PCB1S – starterska kultura Texel DCM-1, PCB2S –starterska kultura Texel LM-30, PCB3S – starterska kultura Biostar Sprint, PCB4S – starterska kultura SM-181). V maso za salame smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih .....	71
Slika 34: Razgradnja PCB 138 v suhih salamah med 28-dnevnim sušenjem/zorenjem brez (PCBKS –kontrola) oz. z dodanimi starterskimi kulturami (PCB1S – starterska kultura Texel DCM-1, PCB2S –starterska kultura Texel LM-30, PCB3S – starterska kultura Biostar Sprint, PCB4S – starterska kultura SM-181). V maso za salame smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih .....	72
Slika 35: Razgradnja PCB 153 v suhih salamah med 28-dnevnim sušenjem/zorenjem brez (PCBKS –kontrola) oz. z dodanimi starterskimi kulturami (PCB1S – starterska kultura Texel DCM-1, PCB2S –starterska kultura Texel LM-30, PCB3S – starterska kultura Biostar Sprint, PCB4S – starterska kultura SM-181). V maso za salame smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih .....	72
Slika 36: Razgradnja PCB 180 v suhih salamah med 28-dnevnim sušenjem/zorenjem brez (PCBKS –kontrola) oz. z dodanimi starterskimi kulturami (PCB1S – starterska kultura Texel DCM-1, PCB2S –starterska kultura Texel LM-30, PCB3S – starterska kultura Biostar Sprint, PCB4S – starterska kultura SM-181). V maso za salame smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih .....	73

Slika 37: Razgradnja skupnih PCB v suhih salamah med 28-dnevnim sušenjem/zorenjem brez (PCBKS – kontrola) oz. z dodanimi starterskimi kulturami (PCB1S – starterska kultura Texel DCM-1, PCB2S – starterska kultura Texel LM-30, PCB3S – starterska kultura Biostar Sprint, PCB4S – starterska kultura SM-181). V maso za salame smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih..... 73

## **KAZALO PRILOG**

**Priloga A:** Seznam PCB kongener (EPA, 2003)

## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

BHI	Brain Hearth Infusion Broth
DDT	dikloro-difenil-trikloroetan
EFSA	European Food Safety Authority
EPA	Environmental Protection Agency
GC- $\mu$ ECD	plinska kromatografija z detektorjem na zajetje elektronov
GC-MS	plinska kromatografija sklopljena z masnim detektorjem
GDL	glukono-delta-lakton
LAB	Lactic acid bacteria
MKB	mlečnokislinske bakterije
ML	mejna vrednost
MRS	<i>Lactobacillus</i> Broth, de Man, Rogosa and Sharpe
MSA	Mannitol Salth Broth Culture Media
NIR	bližnje infrardeče območje
PCB	poliklorirani bifenili
PCCY	poliklorirani krizeni
PCDD	poliklorirani dibenzodioksini
PCDF	poliklorirani dibenzofurani
PCPY	poliklorirani pireni
PTFE	teflon
RT	retenzijski čas
SIM	Single Ion Monitoring
SPE	ekstrakcija s trdno fazo
TCB	triklorobenzeni
TCDD	2,3,7,8-tetraklorodibenzodioxin
TEF	ekvivalentni faktor toksičnosti
TEQ	ekvivalent toksičnosti
TWI	sprejemljiv tedenski vnos
WHO	World Health Organization



## 1 UVOD

Poliklorirani bifenili (PCB) so skupina sintetičnih organskih molekul z visoko stopnjo toksičnosti in odpornosti. Prav njihove ugodne fizikalno-kemijske lastnosti so v preteklosti omogočile široko uporabo v industriji, kjer je prišlo do nemalo nesreč. Počasna razgradnja in sposobnost bioakumulacije v človeškem organizmu, kar ima lahko trajne posledice ali vodi celo v smrt, sta dovolj velika razloga za ugotavljanje in spremljanje njihove vsebnosti v prehranski verigi.

PCB prištevamo med klorirane ciklične ogljikovodike. Poznamo 209 kongener glede na položaj klora v molekuli. Glede na koncentracijo klora, ki se ga vstavi pri proizvodnji, delimo PCB na lažje in težje klorirane. V industriji so predvsem zaradi boljše obstojnosti prevladovali mešanice z večjim deležem klora. Ena najbolj razširjenih komercialnih mešanic, katere uporabo smo beležili tudi v Sloveniji, poznamo pod imenom Arochlor.

Pri vročem onesnaževanju (gorenju) PCB se med drugim tvorijo tudi dibenzofurani in dibenzodiodksini, kateri spadajo v skupino dioksinov in so še posebej toksični. Dvanajst kongener PCB kaže podobne učinke toksičnosti, zato jih prištevamo v skupino »dioksinom podobni PCB«.

PCB so, kljub prepovedi uporabe, v okolju še vedno prisotni. Ljudje so izpostavljeni PCB zlasti pri uživanju hrane. Predvidevajo, da se kar 90 % teh komponent dnevno vnese s hrano, le 10 % preko zraka. Glavni viri PCB so predvsem živila živalskega izvora, zlasti meso, mleko, mlečni izdelki in ribe.

Študije o vsebnosti PCB v številnih državah in območjih znotraj posameznih držav vodijo do različnih rezultatov, kar pripisujemo dejstvu, da je bila uporaba posameznih mešanic PCB raznolika, veliko pa je odvisno tudi od ozaveščenosti države glede nevarnosti njihove uporabe.

Meso in mesni izdelki naj bi v primerjavi z drugimi živali prispevali 14–19 % v kumulativni toksični učinek PCB. V ta namen bi bilo potrebno v proizvodnji živil razviti tehnološke postopke, s katerimi bi zmanjšali tveganje za zdravje ljudi.

Prve raziskave kažejo na sposobnost razgradnje zaostalih PCB s komercialnimi mešanicami starterskih kultur, ki so v današnjem času nepogrešljive v proizvodnji fermentiranih mesnih izdelkov. Uporabljajo se z namenom zagotoviti optimalne tehnološke pogoje proizvodnje, skrajšati trajanje proizvodnje ter pridobiti značilno barvo in aromo izdelka.

Študije se nanašajo predvsem na razgradnjo PCB s startersko kulturo *Staphylococcus xylosus* v različnih gojiščih in mesnih mešanicah. Možnost, da imajo ti mikroorganizmi sposobnost razgradnje, v mesni industriji predstavlja velik izziv. To pomeni, da bi lahko z aplikacijo pravilne tehnologije zmanjšali nevarnost, povezano z ostanki škodljivih PCB.

### 1.1 CILJI RAZISKOVANJA IN DELOVNE HIPOTEZE

Namen raziskave je bil proučiti učinek različnih komercialnih mešanic starterskih kultur na spremembo oziroma zmanjšanje vsebnosti PCB v fermentiranem mesnem izdelku – suhi salami. S poskusom smo se želeli kar najbolj približati pogojem v industriji. Morebitno razgradnjo PCB smo preverjali tudi v tekočih gojiščih in mesni emulziji.

Naše raziskovalno delo je temeljilo na naslednjih hipotezah:

#### Hipoteza 1

Pričakovali smo razgradnjo PCB s komercialnimi mešanicami starterskih kultur v vseh treh uporabljenih medijih – gojiščih, mesni emulziji in suhih salamah.

#### Hipoteza 2

Glede na podatke iz literature smo predvideli, da bodo v razgradnjo PCB vključene zlasti bakterije vrste *Staphylococcus xylosus*.

#### Hipoteza 3

Pričakovali smo, da bodo v proces razgradnje vključeni predvsem nižje klorirani PCB.

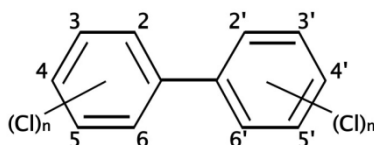
#### Hipoteza 4

Pri poskusu na gojiščih smo pričakovali boljše rezultate v primerjavi z mesno emulzijo in fermentiranimi mesnimi izdelki – suho salamo.

## 2 PREGLED OBJAV

### 2.1 SPLOŠNE LASTNOSTI PCB

Poliklorirani bifenili (PCB) spadajo v skupino kloriranih cikličnih ogljikovodikov. Sestavljeni so iz dvojnega benzenovega obroča (bifenila), na katerega so z zunanje strani vezani atomi klor. Njihova molekulska formula je  $C_{12}H_{10-n}Cl_n$ , kjer je  $1 < n < 10$  (Wiegel in Wu, 2000) (slika 1).



Slika 1: Strukturna formula PCB (Wiegel in Wu, 2000)

Figure 1: Structural formula of PCB (Wiegel and Wu, 2000)

V procesu kloriranja bifenila, v prisotnosti katalizatorja, dobimo polikloriran bifenil, za katerega je značilno različno število atomov klor. Glede na njihovo število imamo 10 variant polikloriranega bifenila (mono-, di-, tri-, tetra-,...) in 209 kongener – različnih oblik molekul glede na položaj klor. Poimenovanje posameznih kongener je relativno zapleten in kompleksen proces. Poznanih je več možnih načinov, vendar se najpogosteje uporablja razvrščanje posameznih kongener od mono- do dekaklorobifenilov in dodeljevanje ustreznega številčnega zaporedja od 1 do 209 (Guitart in sod., 1993; Storelli in sod., 2003; Mills in sod., 2007; Field in Sierra-Alvarez, 2008).

PCB lahko na osnovi strukturnih lastnosti in toksičnosti razdelimo v dve skupini. Skupino »dioksinom podobni PCB« sestavlja 12 kongener (mono-*orto* in non-*orto*), za katere je značilno, da lahko preidejo v koplanarno strukturo in kažejo podobne učinke toksičnosti kot dioksini. V drugo skupino, ki ne kaže podobnih znakov toksičnosti kot dioksini, pa prištevamo ostale PCB (di-*orto*). Med temi se šest kongener navaja kot primerne indikatorje za določanje različnih PCB v vzorcih (PCB 10, PCB 28, PCB 52, PCB 138, PCB 153 in PCB 180) (Bascompta in sod., 2002; Zuccato in sod., 2008).

PCB prištevamo med ksenobiotike, kar pomeni, da v naravi niso prisotni in se jih pridobiva sintetično. Gre za brezbarvne (včasih rahlo rumenkaste) tekočine z zelo karakterističnim in neugodnim vonjem, ki draži sluznico nosa, grla in oči. Lastnosti posameznih kongener so odvisne predvsem od stopnje kloriranja molekule. Lahko se nahajajo v obliki visoko mobilnih brezbarvnih tekočin, v obliki viskoznih oljnatih tekočin, lahko pa tudi v obliki temnejših smol. Nižje klorirani PCB so ponavadi brezbarvne oljnote tekočine, visoko

klorirani PCB pa so bolj podobni mastnim voskastim snovem. PCB veljajo za organske spojine, kar pomeni, da so slabo topni v vodi, zelo dobro pa v olju in maščobi. Njihova topnost v vodi pada z naraščajočo stopnjo kloriranja. Razlike v topnosti se lahko pojavijo tudi med posameznimi kongenerami z enakim številom klorovih atomov (Field in Sierra-Alvarez, 2008).

## 2.2 UPORABA PCB V INDUSTRIJI

PCB so bili zaradi zelo dobrih tehnoloških lastnosti (negorljivosti, kemijske stabilnosti in visokega vrelišča) v široki uporabi, še posebej v industriji (preglednica 1). Proizvodnja se je začela leta 1929 v ZDA v proizvodnji izolacije, od leta 1930 do sredine osemdesetih pa je bila uporaba razširjena tudi pri nas (Polič in sod., 1993; Abad in sod., 2002; Costabeber in sod., 2006).

### Preglednica 1: Primeri uporabe PCB v industriji (Costabeber in Emanuelli, 2003)

Table 1: Industrial applications of PCB (Costabeber and Emanuelli, 2003)

Delovanje in uporaba	Primeri
dielektrik, izolacijske in hladilne tekočine v elementih električnih naprav	v transformatorjih, usmernikih, kondenzatorjih, tudi v električnih aparatih (bela tehnika)
hidravlična olja	uporaba v rudarstvu
mehčala in protipožarna sredstva za lake in smole	oljni, emulzijski protipožarni premazi, barve, npr. tiskarske, tekstilne, disperzijske na osnovi vinilkloridnih smol, nitroceluloznih smol, epoksi smol, polivinilacetatnih smol; druga uporaba: polituren, črnila, premazi za tla, beton ali les
mehčala v kitih, izravnalnih, tesnilnih in zalivalnih masah	trajno elastične tesnilne mase v fugah med gradbenimi elementi; tudi v raztezni in stični fugah, fugah med steno in stropom ali v fugah pri oknih in vratih
mehčala za plastične mase	ovoji za kable
maziva	olja v menjalnikih, olja v vrtnalnikih, olja v visokotlačnih črpalkah, masti za vijake, imerzijska topila
insekticidi, sredstvo za varstvo rastlin	dodatki

Prva molekula PCB je bila odkrita leta 1865 v katranski smoli, leta 1881 pa prvič sintetizirana v laboratoriju. Glede na koncentracijo klora, ki ga vstavijo pri proizvodnji, ločimo lažje in težje klorirane PCB. Za komercialno rabo so se, predvsem zaradi boljše obstojnosti, uporabljale mešanice z višjim deležem klora. Proizvajale so se pod različnimi imeni kot so Fenclor, Kanechlor, Phenclor, Arochlor in številne druge. Arochlor je veljala

za eno najbolj razširjenih komercialnih mešanic, katerega uporabo so beležili tudi v Sloveniji. Poznanih je več različnih tipov, vsak ima pripadajočo številko, ki določa stopnjo kloriranja. Na primer, pri Arochloru 1254 predstavlja klor 54 % teže molekule, število 12 pa se nanaša na število ogljikovih atomov v bifenilu. V tehnološke namene je bila najpogosteje uporabljena mešanica, kjer predstavlja klor od 42 do 60 % teže molekule (Kim in sod., 2004; Koppe in Keys, 2004).

Široka uporaba PCB v industriji in nepravilno ravnanje z njihovimi odpadki je v svetu privedlo do velikih onesnaženj, ki so na ljudeh pustile trajne posledice ali celo povzročile smrt. Glede na način poznamo dve vrsti onesnaževanja s PCB, in sicer hladno in toplo onesnaževanje (Polič in sod., 1993).

### **2.2.1 Hladno onesnaževanje (povečanje koncentracije PCB v vodi, zraku, zemlji in živih organizmih)**

Do hladnega onesnaževanja prihaja zaradi razprševanja, škropljenja, razsutja ali izlitja snovi, ki vsebujejo PCB kot dodatke ali zaradi razlitja čistega industrijskega PCB, npr. iz transformatorja ali kondenzatorja.

Prvi primer nesreče kot posledice hladnega onesnaževanja je bila kontaminacija riževega polja na Japonskem leta 1968 (Yao in sod., 2002). V Sloveniji je bilo največje onesnaženje okolja posledica uporabe PCB v proizvodnji kondenzatorjev v tovarni Iskra v Semiču leta 1983. Prišlo je do kontaminacije kraškega področja in vodotokov v bližini tovarne. Izvir Krupe naj bi prištevali med najbolj onesnažene izvire na svetu in hkrati edini vodni vir v Evropi s tako visoko koncentracijo PCB (Polič in sod., 1993; Harlander in Miljavac, 2007).

ISKRA je leta 1986 uspešno sanirala odlagališče industrijskih PCB odpadkov. Izgradnja betonskega plašča je za stalno ločila kontaminirani material od okolja ter tako preprečila nadaljnje primarno onesnaževanje reke Krupe s PCB (Polič in sod., 1993).

### **2.2.2 Vroče onesnaževanje (razpadanje PCB pri povišani temperaturi v nekontroliranem okolju)**

Do vročega onesnaževanja prihaja pri požarih, ko snovi ali naprave, polnjene s PCB, nekontrolirano gorijo v prisotnosti zraka. Piralenski transformatorji in kondenzatorji so negorljivi, vendar pride ob požaru v transformatorski postaji zaradi druge opreme do pirolize (termičnega razpadanja) PCB. Pri tem se ustvarjajo plini, ki vsebujejo: klorovodike (HCl), triklorobenzen (TCB), poliklorirane pirene (PCPY), poliklorirane

krizene (PCCY), poliklorirane dibenzofurane (PCDF) in poliklorirane dibenzodioksine (PCDD) (Polič in sod., 1993).

Na zaplete zaradi vročega onesnaževanja s PCB je javnost postala pozorna po nesrečah na transformatorjih, ko se je nastajanje dioksina povežalo s katastrofalnimi nesrečami v kemičnih tovarnah v ZDA, Italiji in Indiji (Polič in sod., 1993).

Po nesreči v Sevesu (Italija) 1976 se je začel dioksin pogosteje omenjati. V tovarni, ki je iz klorofena (vsebuje PCB) proizvajala deodorante in dezinfekcijska sredstva, je prišlo do eksplozije. Nad okolico se je razširil velik oblak in povzročil množično zastrupitev živine. V Sloveniji ni bilo uradno evidentiranih nesreč, čeprav je bilo po neuradnih podatkih kar nekaj eksplozij piralenskih kondenzatorjev v kompenzacijskih napravah (Polič in sod., 1993).

### 2.3 SLOVENSKA ZAKONODAJA O PCB

Program odstranjevanja PCB je za Slovenijo predstavljal obvezo, da naj bi do konca leta 2010 poskrbela za končno oskrbo vseh PCB naprav, ki vsebujejo olja z več kot 500 mg PCB/kg. Za PCB kontaminirane naprave, ki vsebujejo olja v koncentracijskem območju 50–500 mg PCB/kg, pa poskrbi za dekontaminacijo, v kolikor se življenjska doba teh naprav še ni iztekla (Operativni program odstranjevanja..., 2009).

Osnovni pristop pri ravnanju s PCB napravami ali PCB odpadki je drugačen kot pri ravnanju z drugimi odpadki, pri katerih imata snovna ali energetska izraba prednost pred drugimi oblikami končne oskrbe. Cilj je opuščanje PCB v celoti, zato je po njihovi dekontaminaciji in razgradnji izvedljiva le ena od oblik končne oskrbe (npr. sežig). Do omejitve in prepovedi uporabe PCB v tehnološke namene je v svetu prihajalo postopoma (Operativni program odstranjevanja..., 2009).

Najprej je sredi sedemdesetih prišlo do prepovedi uporabe PCB v odprtih sistemih (npr. barve, aditivi). Zaprti sistemi, energetske piralenske transformatorji in kondenzatorji so se še lahko uporabljali, vendar se je tudi na tem področju zakonodaja postopoma zaostila. Sledila je prepoved proizvodnje PCB kot produkta kemijske industrije in prepoved proizvodnje piralenskih transformatorjev in kondenzatorjev ter omejitev njihove uporabe (Operativni program odstranjevanja..., 2009).

V začetku osemdesetih so prenehali z uporabo PCB v elektro industriji (proizvodnja nazadnje ustavljena v Franciji leta 1984). Nekaj let kasneje se je Evropa poenotila glede ravnanja s piralenskimi transformatorji in kondenzatorji z obvezo končne zamenjave te

opreme do leta 2000 in nato leta 1996 ta rok podaljšala do konca leta 2010 (Operativni program odstranjevanja..., 2009).

Leta 1985, po ekološki katastrofi v reki Krupi, je Slovenija sprejela odločbo o prepovedi uporabe PCB v proizvodnji kondenzatorjev v podjetju ISKRA, Tovarni kondenzatorjev Semič (Operativni program odstranjevanja..., 2009).

## 2.4 POLIKLORIRANI DIBENZOFURANI (PCDF) IN POLIKLORIRANI DIBENZODIOKSINI (PCDD)

Poliklorirani dibenzofurani (PCDF) in poliklorirani dibenzodioxini (PCDD) spadajo v skupino halogeniranih organskih spojin, ki jih imenujemo dioksini in so posebej nevarni. Osnovno strukturo vseh dioksinov predstavljata dva benzenova obroča, povezana z enojnim kisikovim mostom (furani) ali dvojnimi kisikovimi mostovi (dioksini) (Turrio-Baldassarri in sod., 2009). Klorovi atomi so pritrjeni na osnovno strukturo na enega od osmih možnih mest v molekuli. Glede na število klorovih atomov in njihove pozicije v obroču poznamo 210 kongenerov: 75 PCDD in 125 PCDF (Koppe in Keys, 2004).

Toksičnost PCDD je odvisna od števila in položaja klorovih atomov v molekuli. Internacionalna agencija za raziskave raka je leta 1997 2,3,7,8-tetraklorodibenzodioxin (TCDD) ovrednotila kot kancerogenega za človeka. Toksičnost je povezana s pripenjanjem na arilni ogljikovodikov receptor (Ah receptor), s čimer se inducira sinteza proteinov. Skrb povzročajo predvsem tiste spojine, ki imajo klor na pozicijah 2,3,7 in 8, kar ustreza 17 kongenerom. Sem prav tako prištevamo 12 kongenerov iz skupine »dioksinom podobni PCB«, ki so se sposobni vezati na Ah receptor (Mocarelli in sod., 2008).

### 2.4.1 Ekvivalent toksičnosti

Za določitev ocene tveganja je bil razvit ekvivalent toksičnosti (TEQ), kateri nam pomaga določiti kumulativno toksičnost omenjenih spojin. Po definiciji je najbolj toksični kongener (TCDD) dodeljena vrednost 1. Ekvivalentni faktorji toksičnosti (TEF) za ostale toksične dioksine in »dioksinom podobne PCB« znašajo med 0 in 1, kar prikazuje obseg njihove strupenosti v primerjavi z TCDD. TEF vrednosti je prva predlagala WHO, leta 2005 pa objavila posodobitev (preglednica 2) (Charnley in Kimbrough, 2006; EFSA, 2012).

**Preglednica 2: Ekvivalentni faktorji toksičnosti (TEF) (EFSA, 2012)**

**Table 2: Toxicity equivalency factors (TEFs) (EFSA, 2012)**

	WHO-TEF <sub>98</sub>	WHO-TEF <sub>05</sub>
<b>PCDD</b>		
2,3,7,8-TCDD	1	1
<b>non-orto PCB</b>		
PCB 77	0,0001	0,0001
PCB 81	0,0001	0,0003
PCB 126	0,1	0,1
PCB 169	0,1	0,03
<b>mono-orto PCB</b>		
PCB 105	0,0001	0,00003
PCB 114	0,0005	0,00003
PCB 118	0,0001	0,00003
PCB 123	0,0001	0,00003
PCB 156	0,0005	0,00003
PCB 157	0,0005	0,00003
PCB 167	0,00001	0,00003
PCB 189	0,00001	0,00003

WHO-TEF<sub>98</sub>: ekvivalentni faktor toksičnosti, predlagan leta 1998; WHO-TEF<sub>05</sub>: ekvivalentni faktor toksičnosti, predlagan leta 2005

Na osnovi najbolj občutljivih negativnih učinkov pri spremljanju dioksinov in PCB v hrani in krmi je bil leta 2001 določen tudi sprejemljiv tedenski vnos (TWI) za TCDD, ostale 2, 3, 7, 8-substituirane PCDD in PCDF ter »dioksinom podobne PCB«, in sicer 14 pg TEQ/kg telesne teže. Pred kratkim je Agencija za zaščito okolja v ZDA ponovno analizirala ključna vprašanja povezana s toksičnostjo dioksinov in PCB ter predlagala referenčni odmerek za kronično oralno izpostavljenost, ki znaša  $7 \times 10^{-10}$  mg/kg telesne teže dnevno, kar predstavlja ekvivalent 4,9 pg/kg telesne teže na teden (EFSA, 2012).

Pri reševanju načina za aktivno zmanjšanje PCB in dioksinov so bile določene največje mejne vrednosti (ML) za vsoto dioksinov, vsoto »dioksinom podobnih PCB« in vsoto šestih indikatorjev PCB v krmi in hrani. Največje mejne vrednosti so izražene kot TEQ<sub>WHO05</sub> za dioksine in »dioksinom podobne PCB« in na neposredno vsoto šestih indikatorjev PCB. Evropska komisija je poleg ML za dioksine in »dioksinom podobne PCB« postavila še opozorilne vrednosti (AL) kot orodje za njihovo zgodnje opozarjanje. Izražene so kot TEQ<sub>WHO05</sub> (EFSA, 2012).

## 2.5 IZPOSTAVLJENOST PCB MED RAZLIČNIMI SKUPINAMI PREBIVALSTVA

Visoka stabilnost na številne fizikalne in kemijske vplive, zelo počasna razgradnja, vse to so razlogi za kopičenje PCB v okolju, predvsem v zraku, vodi, tleh in hrani. PCB lahko po



zraku prepotujejo velike razdalje in se nalagajo daleč od mesta izpusta (Borja in sod., 2005).

V letih med 2008 in 2010 je bila v številnih evropskih državah najbolj izpostavljena skupina malčkov in drugih otrok. Povprečna izpostavljenost za vsoto dioksinov in »dioksinom podobnih PCB« je znašala med 1,08 in 2,54 pg TEQ<sub>WHO05</sub>/kg telesne teže dnevno. Posledično bi med 7 in 52,9 % posameznikov presegalo vrednost TWI (14 pg TEQ<sub>WHO05</sub>/kg telesne teže) kar ustreza 2 pg TEQ<sub>WHO05</sub>/kg telesne teže dnevno (EFSA, 2012).

Pri mladostnikih, odraslih in starejših je bila v primerjavi z malčki in otroci dokazana manjša povprečna izpostavljenost, in sicer med 0,57 in 1,67 pg TEQ<sub>WHO05</sub>/kg telesne teže. Odstotek posameznikov, ki presegajo sprejemljiv tedenski vnos, znaša med 1,0 % in 26,2 %, odvisno od skupine prebivalstva (EFSA, 2012).

Manjša izpostavljenost v primerjavi z malčki in otroci je bila dokazana tudi pri dojenčkih, in sicer 1,1 pg TEQ<sub>WHO05</sub>/kg telesne teže dnevno (EFSA, 2012).

Mleko in mlečni izdelki prispevajo največji delež k skupni izpostavljenosti PCB predvsem v skupini dojenčkov in malčkov, ribe in ostala morska hrana pa v skupinah mladostnikov, odraslih in starejših. K skupni izpostavljenosti pomembno prispevajo tudi meso in mesni izdelki (EFSA, 2012).

Splošno zmanjšanje izpostavljenosti dioksinom in »dioksinom podobnih PCB« je bilo zabeleženo med leti 2002 in 2004 ter 2008 in 2010, in sicer med 16,6 in 79,3 %, odvisno od skupine prebivalstva. Zmanjšanje je najverjetneje posledica evropskega upravljanja z ukrepi za zmanjšanje izpostavljenosti prebivalstva, do neke mere pa tudi izboljšanje analitskih metod in spremembe zasnove programa vzorčenja skozi leta (EFSA, 2012).

## 2.6 VPLIV PCB NA ZDRAVJE LJUDI

Preko prehranske verige se PCB kopičijo v živalih, posledično prehajajo tudi v človeški organizem. Več kot 90 % PCB pride v telo s hrano, le 10 % z vdihavanjem zraka (Dobson in Esch, 1993; Liem in sod., 2000; Fromberg in sod., 2011). Vstopajo lahko preko gastrointestinalnega trakta, kože ali pljuč. Od tam se preko krvnega obtoka transportirajo do jeter, različnih mišic in maščobnega tkiva, kjer se akumulirajo. Raziskave kažejo, da lahko PCB privedejo do različnih neželenih zdravstvenih težav, kar je predvsem odvisno od starosti, spola in delov telesa, v katerih se kopičijo. PCB naj bi bili tudi karcinogeni. Pri ljudeh, izpostavljenim večjim količinam, se je pojavila redka oblika raka na jetrih in

maligni melanom. Pojavile so se tudi različne akutne oblike kožnih bolezni, poznane kot klorove akne, bolezni jeter, vključno s hepatitisom, izguba telesne teže, prizadetost imunskih funkcij, poškodbe centralnega živčnega sistema, ki so imele za posledico številne glavobole, omotice, depresijo in utrujenost. Ostali neželeni stranski učinki izpostavljenosti PCB so še poškodbe jeter, želodca in ščitnice, različne vedenjske motnje in prizadetost reprodukcije (Costabeber in sod., 2006).

## 2.7 BIODEGRADACIJA (BIOLOŠKA RAZGRADNJA) PCB V OKOLJU

V okolju poteka proces biološke razgradnje oziroma biodegradacije z različnimi mikroorganizmi. V splošnem lahko rečemo, da mikroorganizmi s proizvodnjem specifičnih encimov povzročijo razgradnjo okoljskih onesnaževalcev na enostavnejše, manj nevarne komponente (Sierra in sod., 2003; Borja in sod., 2005).

Proces biodegradacije najpogosteje poteka v dveh oblikah, in sicer v obliki mineralizacije in ko-metabolizma. V procesu mineralizacije pristojni mikroorganizmi izkoriščajo vir ogljika onesnaževalcev, energija, ki se pri tem sprošča, se porablja za njihovo razgradnjo. V nasprotju pa ko-metabolizem zahteva dodatno, sekundarno spojino kot vir ogljika in energije, istočasno pa poteče tudi razgradnja onesnaževalcev. V primeru, da produkti ko-metabolizma predstavljajo predmet nadaljnje razgradnje, pride do procesa mineralizacije, v nasprotnem primeru je razgradnja nepopolna. To lahko vodi v nastanek in akumulacijo metabolitov, ki so bolj toksični kot matična molekula (Borja in sod., 2005).

Učinkovitost biodegradacije je odvisna od številnih okoljskih dejavnikov, in sicer koncentracije okoljskega onesnaževalca, same strukture in topnosti molekule. Ključno vlogo v procesu biodegradacije predstavlja topnost. Spojine, ki so visoko topne v vodi, so bistveno lažje dostopne mikroorganizmom v primerjavi s tistimi, kjer je topnost zelo slaba. Težje klorirani PCB so v vodi praktično netopni, kar pomeni, da lahko pričakujemo večjo obstojnost teh spojin na proces biodegradacije. Pomembno vlogo v procesu igra tudi koncentracija onesnaževalcev. Majhna koncentracija je lahko nezadostna za indukcijo ustreznih razgradnih encimov, na drugi strani pa lahko zelo velike koncentracije onesnaževalcev povzročijo toksičnost teh spojin za mikroorganizme (Field in sod., 2008).

Ostali dejavniki, ki vplivajo na proces biodegradacije so temperatura, pH, prisotnost toksičnih ali inhibitornih substanc, konkurenčnih substratov, razpoložljivost oziroma primernost prejemnikov elektronov ter interakcij med mikroorganizmi. Vsi omenjeni dejavniki se med seboj prepletajo in vplivajo na nepredvidljivost procesa biodegradacije (Abramowicz, 1995).

Uporaba mikroorganizmov, aerobnih in anaerobnih, je edini poznani način razgradnje PCB v tleh in vodnih sistemih. Anaerobne bakterije so prilagojene na onesnaževalce z veliko koncentracijo ogljika predvsem zaradi difuzijskih omejitev kisika v visoko koncentriranih sistemih. V anaerobnem okolju prihaja do reduktivnih transformacij, v katerih je klor nadomeščen z vodikom. Aerobne bakterije v primerjavi z anaerobnimi rastejo hitreje. Na ta način lahko vzdržujejo visoko stopnjo razgradnje, ki se nanaša na proces mineralizacije komponent (Borja in sod., 2005).

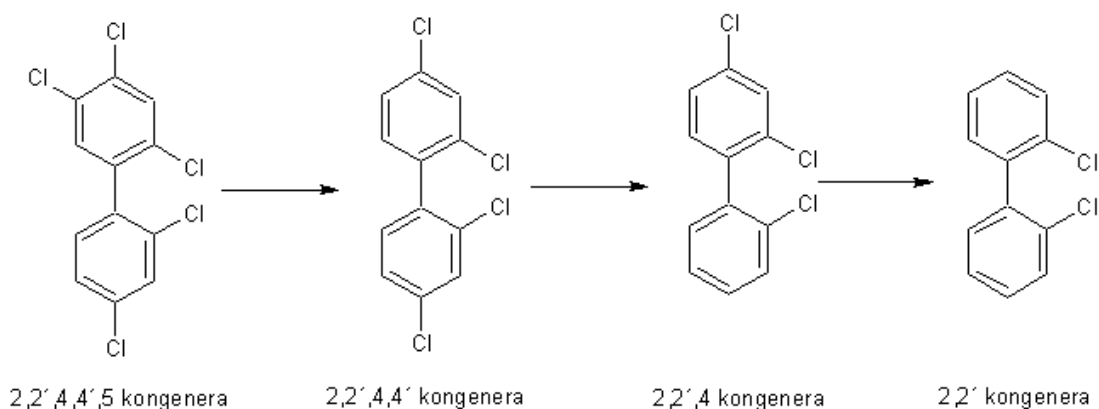
Končni produkti v procesu biološke razgradnje PCB naj bi teoretično bili le še CO<sub>2</sub>, klor in voda, kljub temu pa nastaja benzoat. V procesu razgradnje se z bifenilnih obročev najprej odcepi klor, nato sledi cepitev in oksidacija bifenila (Borja in sod., 2005).

### 2.7.1 Anaerobna transformacija PCB

Za anaerobno transformacijo kloriranih organskih spojin je značilna reduktivna deklorinacija, kjer poteka zamenjava klorovega atoma z vodikovim atomom na bifenilnem obroču (Wiegel in Wu, 2000):



Izoliranih je bilo več bakterij sposobnih anaerobne deklorinacije, in sicer *Desulfomonile tiedjei*, *Desulfitobacterium*, *Dehalobacter restrictus*, *Dehalospirillum multivorans*, *Desulforomonas chloroethenica*, *Dehalococcoides ethenogenes* in fakultativno anaerobni *Enterobacter* (Mohn in Tiedje, 1992).



Slika 2: Možna pot anaerobne razgradnje višje klorirane PCB kongenere (Fish in Principe, 1994)

Figure 2: Potential pathway for anaerobic dechlorination of a highly chlorinated congener (Fish and Principe, 1994)

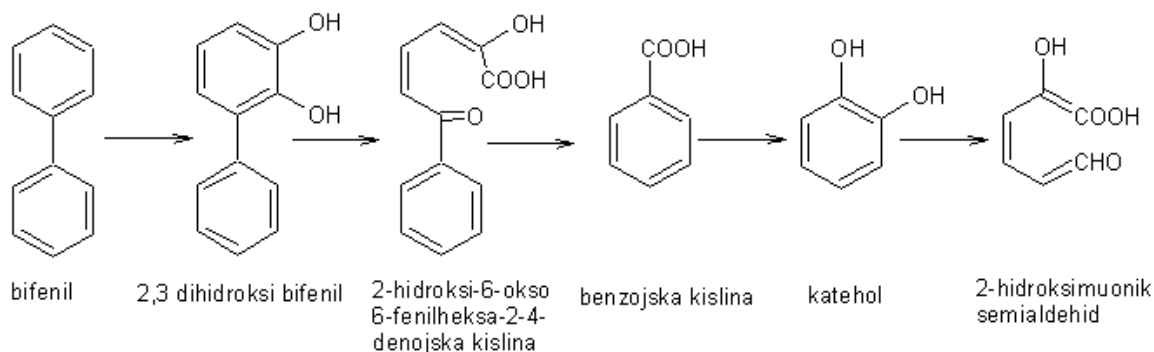
Anaerobna deklorinacija PCB poteka v tleh in sedimentih. Obstaja več poti reduktivne deklorinacije, kar je predvsem posledica delovanja različnih mikrobnih populacij (slika 2). Skupna lastnost reduktivne deklorinacije je, da je značilna za težje klorirane, *meta* in *para* substituirane PCB. Raziskava je pokazala, da v sedimentih narašča delež lažje kloriranih kongener (mono- in di-), zmanjšuje pa se delež težje kloriranih kongener (tri-, tetra- in višji klorobifenili). Nastali produkti so manj toksični in se lahko razgradijo na aeroben način. Takšen tip biodegradacije je uporaben tudi za mešanice Arochlor 1254 in 1260, katerih uporaba je bila razširjena tudi v Sloveniji (Borja in sod., 2005).

Anaerobna deklorinacija zmanjšuje potencialno tveganje in izpostavljenost PCB. Potencialni nastanek karcinogeneze je povezan s stopnjo kloriranja PCB. PCB z dvema *para* in dvema ali več *meta* substituentami ter brez *orto* substituent kažejo lastnosti podobne dioksinom. Koplanarne PCB kongenere, kot so 3,4,5,3',4'- in 3,4,5,3',4',5'-klorobifenil pa se rade vežejo na receptorje dioksinov. Odcep klorovega atoma z *meta* in *para* mesta, ki je kataliziran z anaerobno deklorinacijo, vodi do bistvenega zmanjšanja koplanarnih, dioksinu podobnih kongener v mešanicah PCB (Borja in sod., 2005).

### 2.7.2 Aerobna deklorinacija

Lažje klorirani PCB, ki nastajajo v procesu deklorinacije visoko kloriranih PCB, so substrati za aerobne bakterije (Bevinakatti in Ninnebar, 1992).

Aerobna oksidativna razgradnja vključuje dve skupini genov. Prva skupina je odgovorna za preoblikovanje (transformacijo) PCB kongener do klorobenzojske kisline, druga pa je odgovorna za razgradnjo omenjene kisline (slika 3). Skupni rastni substrat za bakterije, sposobne razgradnje PCB, je bifenil oziroma monoklorobifenil (Field in Sierra-Alvarez, 2007).



Slika 3: Možna pot aerobne oksidativne razgradnje bifenila (Bevinakatti in Ninnebar, 1992)

Figure 3: Possible pathway for the aerobic oxidative degradation of biphenyl (Bevinakatti and Ninnebar, 1992)

Kot prva sposobna aerobne biodegradacije se omenja bakterija rodu *Achromobacter*, razgrajevala naj bi več vrst izomerov PCB. Kasneje so poročali tudi o drugih rodovih, kot so *Nocardia*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes* in *Acinetobacter*. V glavnem naj bi potekala razgradnja mono-, di- in triklorobifenilov, manj je takšnih, ki so sposobni razgradnje visoko kloriranih bifenilov (Bevinakatti in Ninnebar, 1992; Wiegel in Wu, 2000).

Značilnosti aerobne razgradnje PCB (Borja in sod., 2005):

- večje število klorovih atomov zmanjšuje hitrost razgradnje PCB,
- dva klorova atoma v *orto* poziciji na istem ali na dveh aromatskih obročih PCB inhibirata biodegradacijo,
- v primeru, da so klorovi atomi na obeh obročih, se bo prvi hidroksiliral obroč z manj klorovimi atomi,
- kongenere, ki imajo klorove atome le na enem obroču, se hidroksilirajo hitreje kot tiste, ki imajo sicer enako število klorovih atomov, vendar so ti porazdeljeni na obeh obročih,
- razgradnja poteka hitreje, če je substituiran ogljikov atom med dvema nesubstituiranima ogljikovima atomoma,
- visoko klorirane kongenere PCB z 2,3,4-triklorofenilno skupino se v aerobnem procesu biodegradacije težje razgrajujejo,
- razpad najprej poteče na nesubstituiranem obroču.

## 2.8 VSEBNOST PCB V HRANI

Toksičnost, termodinamska stabilnost, počasni in kompleksni mehanizmi razgradnje v okolju, predvsem pa sposobnost bioakumulacije v živih organizmih, so vzrok za ugotavljanje in spremljanje koncentracije skupnih in posameznih PCB v različnih vrstah hrane. Dokazana je bila več kot 90 % izpostavljenost PCB v prehranski verigi (Focant in sod., 2004; Darnerud in sod., 2006). Glavni viri PCB so predvsem živila živalskega izvora, zlasti meso, mleko, mlečni izdelki in ribe (Chovancova in sod., 2005). Posebej obsežne raziskave potekajo na območjih, kjer je bila uporaba PCB največja. Vsebnosti PCB se lahko za podobne skupine živil močno razlikujejo, kar je odvisno predvsem od intenzivnosti kontaminacije posameznih območij (Costabeber in sod., 2006).

Rezultati monitoringa PCB in dioksinov v različnih vzorcih hrane in krme, zbranih med letom 1995 in 2008, iz številnih držav članic EU, so pokazali večjo vsebnost v krmi in hrani živalskega izvora v primerjavi z rastlinskim izvorom. Največje koncentracije dioksinov in »dioksinom podobnih PCB« so bile izmerjene v izdelkih iz jeter, tako iz morskih kot tudi kopenskih živali (povprečno 32,6 pg TEQ<sub>WHO98/g</sub>), sledilo je meso jegulj

(povprečno 6,7 pg TEQ<sub>WHO98/g</sub>) in ribje olje za krmo živali (povprečno 10,0 pg TEQ<sub>WHO98/g</sub> na suho snov) (EFSA, 2012).

Največje vrednosti PCB so bile izmerjene v izdelkih živali morskega izvora (od 23,3 µg/kg za meso rib do 223 µg/kg za meso jegulj), sledijo izdelki kopenskih živali (od 1,04 µg/kg za svinjsko mast do 16,7 µg/kg za izdelke iz jajc) in krma za ribe in hišne živali (11,1 µg/kg suhe snovi). PCDD predstavljajo med 30 in 74 % celotnega TEQ, odvisno od skupine hrane oziroma krme, mono-*orto* PCB pa med 15 in 45 % »dioksinom podobnih PCB« (EFSA, 2012).

Chovancova in sod. (2005) so preverjali vsebnosti PCB (izražene kot vrednosti TEQ) v različnih vrstah živil živalskega izvora (preglednica 3).

**Preglednica 3: Ekvivalenti toksičnosti (TEQ) v analiziranih vzorcih hrane (Chovancova in sod., 2005)**

**Table 3: Toxicity equivalency (TEQ) in analysed food samples (Chovancova et al., 2005)**

<b>Vrsta živila</b>	<b>non-orto PCB TEQ (pg/g mašč.)</b>	<b>mono-orto PCB TEQ (pg/g mašč.)</b>
mast (domača)	0,26	0,62
svinjina (trg)	0,029	0,12
govedina (trg)	2,02	0,67
piščanec (trg)	0,22	0,19
jajca (trg)	0,69	0,81
jajca (domača)	30,9	11,9
mleko (domače)	1,74	0,20
maslo (trg)	0,94	0,24
maslo (domače)	3,18	1,13
ribe (trg)	0,17	0,034

V jajcih so bile izmerjene večje vrednosti PCB v primerjavi z drugimi živali. Vsebnost v domačih jajcih se je bistveno razlikovala od tistih, dobljenih na trgu. Tako visoko onesnaženost jajc s PCB pripisujejo predvsem krmi živali, ki verjetno izhaja iz kontaminiranega okolja, v bližini katerega je v preteklosti potekala proizvodnja PCB. Prav tako so bile za domače maslo značilne bistveno večje vrednosti PCB v primerjavi z maslom s trga. Toksični ekvivalenti vseh analiziranih vzorcev niso presegali vrednosti, določene z uredbo (Chovancova in sod., 2005).

Raziskava na grškem trgu (Papadopoulos in sod., 2002) je vključevala določanje vsebnosti polikloriranih dibenzofuranov (PCDF), polikloriranih dibenzodioksinov (PCDD) in non-*orto* PCB v različnih vrstah mesa (preglednica 4).

**Preglednica 4: Vsebnost PCDD, PCDF in non-orto PCB (pg/g maščobe) v različnih vrstah mesa (Papadopoulos in sod., 2002)**

**Table 4: Levels of PCDDs, PCDFs and non-ortho PCBs (pg/g fat) in various samples of meat (Papadopoulos et al., 2002)**

Parameter	Govedina	Jagnjetina	Svinjina	Perutnina	Goveja jetra
2,3,7,8-TCDD	0,07	0,09	0,08	0,06	0,11
vsota PCDD/F	10,94	8,78	23,29	5,55	169,92
TEQ PCDD/F	0,55	0,46	0,39	0,30	1,64
PCB 77	10,66	14,05	90,87	1,76	38,50
PCB 81	0,58	1,11	50,31	2,61	0,09
PCB 126	3,92	3,60	4,33	0,29	0,10
PCB 169	1,22	2,11	23,92	3,56	1,00
vsota non-orto PCB	16,37	20,87	169,4	8,22	39,70
TEQ non-orto PCB	0,41	0,38	0,69	0,06	0,02

Ekvivalenti toksičnosti za vsoto PCDD/F in non-orto PCB so bili (preglednica 4) manjši v primerjavi z ostalimi, izmerjenimi v drugih evropskih in mediteranskih državah. Prav tako je izstopal vzorec svinjine, kjer sta bila TEQ in vsebnost PCB bistveno večja v primerjavi z ostalimi vrstami mesa. V tem primeru obstaja možnost kontaminacije krme za vzrejo prašičev (Papadopoulos in sod., 2002).

V Braziliji so ugotavljali vsebnost posameznih PCB (PCB 10, PCB 28, PCB 52, PCB 138, PCB 153 in PCB 180) v različnih vrstah mesa (svinjina in govedina) in mesnih izdelkih. Mesni izdelki so vsebovali bistveno manjše količine PCB glede na največjo dovoljeno koncentracijo PCB (3000 ng/g maščobe). Glede na dovoljeno vsebnost PCB (200 ng/g maščobe), ki jo je postavila evropska skupnost, pa je izstopal en vzorec (Costabeber in sod., 2006).

Glede maksimalne vsebnosti PCB v svinjini in govedini ZDA nima omejitve. Kljub temu analizirani vzorci mesa niso presegali meje, ki je določena za ribe (2000 ng/g maščobe) in perutnino (3000 ng/g maščobe) (Costabeber in sod., 2006).

V splošnem se je izkazalo, da je vsebnost PCB večja v mesnih izdelkih v primerjavi z mesom, in sicer v naslednjem vrstnem redu: mesni izdelki > svinjina > govedina (Costabeber in sod., 2006).

V analiziranih vzorcih je bil v največjih količinah zastopan PCB 52 (5,18 ng/g maščobe), sledijo PCB 180 (1,69 ng/g maščobe), PCB 10 (1,35 ng/g maščobe), PCB 28 (1,19 ng/g maščobe), PCB 153 (0,47 ng/g maščobe) in PCB 138 (0,43 ng/g maščobe). Vsota vseh PCB je znašala 10,30 ng/g maščobe (Costabeber in sod., 2006).

Med mesnimi izdelki je bila največja vsebnost skupnih PCB določena v hot dog klobasi (31,19 ng/g maščobe), največji delež je prispeval PCB 52. Izdelek z drugo največjo vsebnostjo PCB je bila posebna klobasa (10,44 ng/g maščobe), z največjim deležem PCB 10. S 7,45 ng PCB/g maščobe je sledilo konzervirano meso, najmanjša vsebnost PCB pa je bila določena v salami (3,27 ng/g maščobe) (Costabeber in sod., 2006).

V belgijsko raziskavo (Voorspoels in sod., 2008) o vsebnosti različnih PCB (23 kongener) so bile vključene različne vrste mesa, ribe, jajca in mlečni proizvodi (preglednica 5).

**Preglednica 5: Vsebnost PCB (ng/g) v različni vrsti hrane (Voorspoels in sod., 2008)**

**Table 5: PCB levels (ng/g) in different foods (Voorspoels et al., 2008)**

Vrsta hrane	Vsota PCB (ng/g)
<b>Ribe in morska hrana</b>	
sardine	1,2
kozice	1,7
skuša	4,0
postrv	3,1
losos	24
<b>Mesni izdelki</b>	
goveji steak	0,15
piščančja prsa	0,12
mleto meso	0,72
salama	0,85
<b>Jajca in mlečni izdelki</b>	
sir	2,4
jajca	1,4
bio jajca	35
maslo	2,9
bio maslo	6,2

Na prvem mestu v vsebnosti PCB so bile ribe, kljub velikim razlikam med posameznimi vrstami. Sledili so mlečni izdelki in jajca, na zadnjem mestu pa so bili meso in mesni izdelki. Največja koncentracija skupnih PCB je bila izmerjena v svežem fileju lososa (36 ng/g), najmanjša pa v govejem steaku in piščančjih prsah. Glede na dobljene podatke je bil ocenjen tudi povprečni dnevni vnos PCB, ki je v omenjeni študiji znašal med 404 in 535 ng/dan. Različni podatki o dnevni vnosih PCB so dokaj primerljivi, kljub temu, da se nanašajo na živila iz geografsko popolnoma različnih področij. Nekateri so poročali o vrednostih 615 ng/dan in 1200 ng/dan (Darnerud in sod., 2006). Kljub temu, da ribe predstavljajo le majhen delež v prehrani Belgijcev, največ prispevajo k dnevni vnosu PCB (približno 45 %). Meso in mesni izdelki predstavljajo približno 20 % dnevnega vnosa PCB, mlečni izdelki in jajca pa nekoliko manj (pod 20 %) (Voorspoels in sod., 2008).



V študijo o divjačinskem mesu so bili vključeni jeleni in divji prašiči, slovenskega in poljskega porekla. V obeh vrstah živali je bilo identificiranih devet PCB kongener (PCB 26, PCB 34, PCB 43, PCB 52, PCB 16, PCB 116, PCB 153, PCB 156 in PCB 180). V živalih poljskega izvora je bila vsebnost PCB večja kot v živalih slovenskega izvora. Vsebnost PCB je bila zaradi večje vsebnosti maščobe bistveno večja pri divjem prašiču (1503 ppb – Poljska; 133 ppb – Slovenija) kot pri jelenu (63 ppb – Poljska; 62 ppb – Slovenija). Tudi sama slanina poljskih prašičev je vsebovala več PCB kot slanina slovenskega izvora. Količina PCB v mišičnini poljskega in slovenskega jelena je bila primerljiva. Opazna je bila tudi razlika v vsebnosti posameznih PCB. Količina PCB 34 in PCB 180 je bila večja v jelenih, in sicer v poljskih jelenih je bilo več PCB 180, v slovenskih pa več PCB 34 (Hribar, 2008; Polak in sod., 2008).

Dobljeni rezultati kažejo na večjo onesnaženost mesa živali poljskega izvora, na kar vpliva predvsem položaj države v zgodovini in njena slaba ozaveščenost o nevarnosti uporabe PCB za človeka in njihovega odlaganja v okolje (Hribar, 2008).

V primerjavi z drugimi vrstami mesa (govedina, svinjina, perutnina) vsebuje divjad bistveno večje količine PCB, kar je verjetno posledica drugačnih in nekontroliranih pogojev prehranjevanja (preglednica 6).

**Preglednica 6: Vsebnost PCB (ppb) v različnih vrstah mesa (MeeKyung, 2004; Hribar, 2008)**

**Table 6: Levels of PCBs (ppb) in various type of meat (MeeKyung, 2004; Hribar, 2008)**

Vrsta mesa	Vsota PCB (ppb)
govedina	0,465
svinjina	0,384
piščanec	0,460
jelen	62,900
divji prašič	818,350

## 2.9 RAZGRADNJA PCB S STARTERSKIMI KULTURAMI

Podatki številnih raziskav kažejo, da so PCB, kljub prepovedi uporabe, v okolju in posledično v hrani še vedno prisotni. Glede na pomembnost in količino uživanja je potrebno izpostaviti predvsem meso in mesne izdelke. Pojavila se je ideja, da bi v proizvodnji živil razvili takšne tehnološke postopke, ki bi zmanjšali tveganje za zdravje ljudi, povzročeno s prisotnostjo rezidualnih PCB (Focant in sod., 2004; Schepens in sod., 2006). Raziskave se nanašajo predvsem na mikroorganizme komercialnih starterskih kultur, ki so danes praktično nepogrešljive v proizvodnji suhih klobas. Njihova uporaba nam zagotavlja konstantno in visoko raven kakovosti izdelkov (Costabeber in sod., 2006).

Leães in sod. (2006) so na to temo izvedli študijo, kjer so skušali preveriti sposobnost razgradnje posameznih PCB s startersko kulturo *Staphylococcus xylosus* v tekočem mediju in mesni mešanici.

Na stopnjo in obseg razgradnje PCB vplivajo številni dejavniki kot so temperatura, vrednost pH in vsebnost ogljikovih spojin. Mikroorganizmi naj bi najprej razgrajevali ostale prisotne organske komponente, šele nazadnje PCB. Najprej poteka razgradnja tistih PCB, ki imajo vezan klor na mestu *para* (4 in 4') in *meta* (3, 3', 5 in 5') (Borja in sod., 2005).

Kljub temu, da bakterija vrste *S. xylosus* dokazano razgrajuje posamezne PCB v tekočih gojiščih, pa je njena sposobnost razgradnje bistveno manjša v mesnih mešanicah. Opazno se je zmanjšala samo koncentracija PCB 10, kar kaže na to, da naj bi ta starterska kultura imela v mesu omejeno sposobnost razgradnje (Leães in sod., 2006).

Prav tako so ugotovili, da naj bi bila razgradnja PCB povezana tudi s stopnjo kloriranja. Tako se je v mesni mešanici razgrajeval samo PCB 10 (dva klorova atoma), medtem ko je bila razgradnja višje kloriranih PCB zanemarljiva (Leães in sod., 2006).

Abraham in sod. (2002) menijo, da so številni mikroorganizmi sposobni razgradnje nižje kloriranih PCB v aerobnih pogojih, medtem ko naj bi razgradnja visoko kloriranih PCB večinoma potekala v anaerobnih razmerah.

V mesni mešanici so proučevali tudi razgradnjo organoklorinih pesticidov (sorodne spojine PCB) s kulturami *Lactobacillus plantarum* in *Micrococcus varians*. Ugotovili so zmanjšanje koncentracije DDT-ja (dikloro-difenil-trikloroetan) in lindana (Abou-Arab, 2002).

## 2.10 STARTERSKE KULTURE

Starterske kulture so definirane kot tekoče, zmrznjene ali liofilizirane mono-, združene ali mešane kulture živih mikroorganizmov z encimskim potencialom, ki v pogojih fermentacije odločilno vplivajo na oblikovanje lastnosti izdelka – fermentiranega živila. Tako opredeljene starterske kulture ustrezajo definiciji aditivov za živila, saj se dodajajo med njihovo proizvodnjo, da bi se ohranila oziroma izboljšala vrednost izdelka v najširšem pomenu besede (Smole Možina in Raspor, 1994).

Prednosti uporabe starterskih kultur so naslednje (Hansen, 2002):

- povečana stabilnost in zmanjšana higienska tveganja proizvodnega procesa,
- možnost kontrole in regulacije fermentacijskega procesa, kar zagotavlja konstantno in visoko raven kakovosti izdelkov,
- krajši čas sušenja/zorenja ter s tem izboljšana ekonomičnost proizvodnje,
- možnosti za zmanjšano uporabo nekaterih kemijskih aditivov, na primer protimikrobnih sredstev in kemijskih zakisovalcev (glukono-delta-lakton (GDL)),
- izboljšana prehranska vrednost fermentiranih živil (lažja prebavljivost, večja vsebnost peptidov, aminokislin, prostih maščobnih kislin, zmanjšanje ostankov kemijskih dodatkov),
- oblikovanje specifičnih senzoričnih lastnosti (vpliv starterskih kultur na barvo, aromo, teksturo in zunanji videz).

Komercialne starterske kulture sestavljajo predstavniki bakterij, kvasovk in plesni (preglednica 7). Vsi ti mikroorganizmi so podvrženi številnim raziskavam, saj je potrebno vedeti ali pride med procesom fermentacije, ki jo ti mikroorganizmi vodijo, do tvorbe produktov, ki bi lahko negativno vplivali na kakovost končnega izdelka. Za proces fermentacije je torej pomembno, kako se starterska kultura odziva na spremembe različnih dejavnikov, kot so temperatura,  $a_w$ , sestava medija, itd. Uporabljeni organizmi so aerobi ali fakultativno anaerobi, kar pomeni, da rastejo predvsem na površini klobas, lahko pa tudi v notranjosti (Smole Možina in Raspor, 1994).

**Preglednica 7: Mikroorganizmi, zastopani v komercialnih starterskih kulturah (Čavlek, 1997)**

**Table 7: Commercial meat starter cultures (Čavlek, 1997)**

---

BAKTERIJE:
<i>Lactobacillus</i> : <i>L. plantarum</i> , <i>L. sakei</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>L. pentosus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. alimentarius</i>
<i>Pediococcus</i> : <i>P. acidilactici</i> , <i>P. pentosaceus</i>
<i>Staphylococcus</i> : <i>S. xylosus</i> , <i>S. carnosus</i>
<i>Micrococcus</i> : <i>M. varians</i>
<i>Streptomyces</i> sp.: <i>S. griseus</i>
KVASOVKE:
<i>Debaryomyces</i> : <i>D. hansenii</i>
PLESNI:
<i>Penicillium</i> : <i>P. nalgiovense</i>

---

### 2.10.1 Mlečnokislinske bakterije

Industrijsko najpomembnejšo skupino bakterij predstavljajo mlečnokislinske bakterije. Njihov najpomembnejši protimikrobni/varovalni učinek je posledica tvorbe organskih kislin med fermentacijo ogljikovih hidratov (Meszaroš, 2000). Povečana kislost ter

posledično zmanjšana vrednost pH (okoli 5 ali manj) imata številne ugodne učinke na tehnološki proces, kakovost in obstojnost izdelka:

- omogočata selekcijo karakteristične mikroflore in inhibicijo neželene; dodani mikroorganizmi že v prvih fazah sušenja prevladajo nad avtohtono mikrofloro,
- vplivata na oblikovanje primerne teksture, zmanjša se namreč sposobnost mišičnih proteinov za vezanje vode, kar omogoča učinkovitejši proces dehidracije,
- predstavljata selektivni dejavnik pri kontroli encimskih reakcij, ki prispevajo k oblikovanju arome,
- pospešujeta reakcije redukcije, potrebne za oblikovanje primerne barve (Ordenez in sod., 1999).

Za številne predstavnike mlečnokislinskih bakterij je značilna visoka metabolna aktivnost, zlasti pri višjih temperaturah fermentacije (do 40 °C). To nam omogoča skrajšanje proizvodnega procesa, hkrati pa se ta lastnost pogosto odraža kot neželen kisel priokus končnega izdelka (preglednica 8) (Hansen, 2002).

Za nekatere mlečnokislinske bakterije je značilna prisotnost encimov katalaz, kateri razgrajujejo perokside. Ti so v nadevu klobas izrazito nezaželeni, saj povzročajo številne oksidacijske procese. To lahko vodi do pojava diskoloracij in žarkosti (Hansen, 2002).

Dokazano je tudi, da mlečnokislinske bakterije s svojimi lipolitičnimi in proteolitičnimi encimi prispevajo k razvoju značilnega okusa in arome suhih klobas (Leroy in sod., 2006).

### **2.10.2 Mikrokoki**

Druga skupina starterskih kultur so različni mikrokoki, ki predstavljajo pomemben delež avtohtone mikroflore fermentiranih mesnih izdelkov. Najpomembnejša rodova sta *Micrococcus* in *Staphylococcus* (preglednica 8). Stafilokoki imajo zaradi fakultativno anaerobnega metabolizma naravno selekcijsko prednost pred mikrokoki, ki so sposobni le aerobnega načina pridobivanja energije. Pomembna lastnost mikrokokov je sposobnost redukcije nitratov v nitrite, zaradi prisotnih nitrat reduktaz. Posledično pride do hitrega razvoja rdeče barve razsoljenega mesa, ki je značilna tudi za suhe klobase. Stafilokoki, predvsem *S. carnosus* in *S. xylosus*, preko razgradnje aminokislin (zlasti levcina, izolevcina in valina) in prostih maščobnih kislin, pomembno vplivajo na oblikovanje značilne arome (Ravyts in sod., 2010). V salamah, fermentiranih z bakterijo vrste *S. xylosus*, se tvorijo številne aromatične komponente. Posebej je potrebno omeniti spojino 3-metilbutanal, katera izboljša senzorične lastnosti klobase, predvsem aromo. Omenjena spojina naj bi nastajala v procesu mikrobiološke razgradnje levcina (Beck in sod., 2002; Sondergaard in Stahnke, 2002).

**Preglednica 8: Komercialne mešanice starterskih kultur za hitro fermentirane klobase (Marianski in Marianski, 2009)**

**Table 8: Commercial starter cultures for fast fermented sausages (Marianski and Marianski, 2009)**

Ime	Bakterije	Značilnost
F-RM-52	<i>L. sakei</i> , <i>S. carnosus</i>	
F-RM-7	<i>L. sakei</i> , <i>S. carnosus</i> , <i>S. xylosum</i>	
F-SC-111	<i>L. sakei</i> , <i>S. carnosus</i>	
F-1	<i>P. pentosaceus</i> , <i>S. xylosum</i>	hitre kulture, namenjene za fermentacijo pri temperaturi 22–32 °C
LP	<i>P. pentosaceus</i>	
LL-1	<i>L. curvatus</i>	
CSL	<i>L. curvatus</i> , <i>Micrococcaceae</i> spp.	
LL-2	<i>L. curvatus</i>	
F-2	<i>L. farciminis</i> , <i>S. carnosus</i> , <i>S. xylosum</i>	
LHP	<i>P. acililactici</i> , <i>P. pentosaceus</i>	posebno hitre kulture, namenjene za fermentacijo pri temperaturi 26–38 °C
CSB	<i>P. acililactici</i> , <i>Micrococcaceae</i> spp.	posebno hitre kulture, namenjene za fermentacijo pri temperaturi 30–45 °C
F-PA	<i>P. acililactici</i>	pri temperaturi 30–45 °C
HPS	<i>P. acililactici</i>	zelo hitre kulture, namenjene za fermentacijo pri temperaturi 32–45 °C

## 2.11 IZDELAVA SUHE KLOBASE

Suhe klobase prištevamo med trajne mesnine, izdelane iz mletega mesa (običajno mesa prašičev) in slanine. Dodatki (aditivi) so zelo raznoliki, njihova izbira je odvisna predvsem od same tehnologije izdelave in premera klobase. Osnovni dodatek je kuhinjska sol, ki vpliva na tehnološke lastnosti nadeva (boljše povezovanje), deluje kot konzervans (zniža  $a_w$ ), hkrati pa oblikuje značilne senzorične lastnosti suhe klobase. Pomemben aditiv predstavlja tudi nitritna sol, ki izboljša barvo in mikrobiološko obstojnost. Drugi dodatki, ki se še uporabljajo v proizvodnji suhih klobas so sladkorji (laktoza, saharoza) in razne začimbe (črni poper in česen – najpogosteje uporabljeni) (Satler in Žlender, 2001).

Začetek izdelave suhe klobase predstavlja izbiro ustrezne surovine. Najprimernejše je sveže svinjsko meso normalne kakovosti (pH 5,4–5,8). Tako mišičnina kot slanina morata biti pred razdevanjem ohlajeni ali celo namrznjeni, saj lahko le na ta način izdelamo nadev s primernim mozaikom. Priporočljiva je čvrsta hrbtna slanina, ker vsebuje manj nenasičenih maščobnih kislin. Za le-te je značilno, da med procesom sušenja/zorenja oksidirajo in povzročajo žarkost klobas (Satler in Žlender, 2001).

Po izbiri ustrezne surovine sledi priprava, mešanje in polnjenje nadeva v naravne ali umetne ovitke. Naslednji fazi sta sušenje (z dimljenjem ali brez) in zorenje. Ta dva procesa potekata sočasno pri kontrolirani temperaturi in relativni vlažnosti. Nadev sveže klobase je

občutljiv na kvar, zato mora postopek sušenja/zorenja na začetku potekati počasi, pri temperaturi do 14 °C, kasneje se temperatura postopno dviguje, vendar ne nad 18 °C. Relativna vlaga mora biti na začetku sušenja med 85 in 90 %, nato pa počasi pada proti 70 %. Med zorenjem potekajo številni biokemijski, mikrobiološki in fizikalni procesi, ki vodijo do oblikovanja značilne arome, teksture in barve izdelka. Kljub sušenju (izgubljanju vode) postanejo izdelki mehkejši, poveča se sočnost, izboljšata se vonj in okus (Satler in Žlender, 2001).

### **2.11.1 Zorenje**

Med procesom zorenja poteka razgradnja beljakovin, maščob in ogljikovih hidratov, kjer sodelujejo lastni encimi mišičnine in mastnine ter encimi naravno prisotnih ali dodanih kultur mikroorganizmov (preglednica 9) (Čavlek, 1997; Žlender, 2001).

Prva faza zorenja predstavlja fermentacijo sladkorjev pod vplivom glikolitičnih encimov ali pa je rezultat metabolne aktivnosti prisotne mikroflore. Mikroorganizmi najprej razgradijo dodane sladkorje. Šele, ko je vir teh sladkorjev porabljen, pričnejo aerobni in fakultativno anaerobni mikroorganizmi razgrajevati aminokislino, ki jim služijo kot vir ogljika in energije (Žlender, 2001).

Količina in vrsta dodanega sladkorja vplivata na hitrost in obseg tvorbe mlečne kisline pod vplivom prisotne mikroflore. Tako prevelika količina hitro-fermentirajočih sladkorjev (glukoza) povzroči hitro zmanjšanje vrednosti pH, posledično to pomeni zaustavljeno rast na kislost občutljivih bakterij, ki lahko prispevajo k oblikovanju zelenih lastnosti klobas. Po drugi strani pa premajhna količina dodanega sladkorja (ali izbira sladkorja, ki se počasi razgradi) vpliva na rast neželenih mikroorganizmov, še posebej pri zorenju pri višjih temperaturah (Čavlek, 1997).

Mikroorganizmi v sušenih klobasah dodane sladkorje najprej razgradijo na organske kisline, kasneje pa tudi na alkohole, aceton, vodik in ogljikov dioksid. Med mlečnokislinsko fermentacijo homofermentativne bakterije vodijo do tvorbe zelene mlečne kisline, medtem ko heterofermentativne bakterije iz istih rodov poleg mlečne kisline tvorijo tudi precej etanola, očetno in metanojsko kislino, ki pa neugodno vplivajo na aromo mesnin. Večja količina CO<sub>2</sub> lahko povzroča luknjičavost mesnin (Bem in Adamič, 1991).

**Preglednica 9: Vpliv starterskih kultur na razvoj senzoričnih lastnosti fermentiranih klobas med zorenjem (Čavlek, 1997)**

**Table 9: Effect of starter cultures on the development of the sensory properties of dry fermented sausages during ripening (Čavlek, 1997)**

Lastnost	Delovanje mikroorganizma	MKB	Mikrokoki	Kvasovke	Plesni
barva	redukcija nitrita	-	+++	-	-
	zmanjšanje vrednosti pH	+++	+	-	-
	poraba O <sub>2</sub>	-	++	-	-
	razgradnja H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	-	++	-	+
aroma	tvorba kisline	+++	+	+	-
	proteoliza	-	+	+	++
	lipoliza	-	++	++	++
	razgradnja H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	-	+++	+	++
tekstura	zmanjšanje vrednosti pH	+++	-	-	-
učinek konzerviranja	zmanjšanje vrednosti pH	+++	-	-	-
	redukcija nitrata	-	++	-	-
	inhibicija mikroflore	++	-	-	+++
površina proizvoda	zaščita pred dehidracijo	-	-	-	+++
	zaščita pred kisikom in svetlobo	-	-	+	+++
	zunANJI izgled	-	-	+	+++
higienski pomen	razgradnja reziduov nitrita	+	++	-	-
	zaščita pred mikotoksini	-	-	-	+++

Legenda: +++ zelo dobra aktivnost, ++ dobra aktivnost, + slaba aktivnost, - ni aktivnosti

MKB – mlečnokislinske bakterije

Legend: +++ very good activity, ++ good activity, + poor activity, - no activity

LAB – Lactic acid bacteria

Med zorenjem poteka tudi encimska razgradnja proteinov. Encimi cepijo beljakovine na polipeptide, peptide ter v manjši meri na proste aminokislino in njihove elementarne sestavine. Posledično pride do spremembe mikrostrukture, fragmentacija mišičnih vlaken pa je glavni vzrok mehčanja mišičnine med zorenjem. Razgradnja poteka pod vplivom proteolitičnih endogenih encimov kot so kalpaini, katepsini, peptidaze, aminopeptidaze, manjši vpliv imajo proteolitični mikrobní encimi. Za želen senzorični učinek naj bi bila bistvenega pomena aktivnost endogenih proteaz v začetni fazi zorenja, bakterijske proteaze pa so pomembne v kasnejših fazah. Mikroorganizmi lahko razgrajujejo že hidrolizirane proteine do stopnje peptidov in aminokislin, v procesu deaminacije in dekarboksilacije pa poteka razgradnja aminokislin, kar pomembno prispeva k oblikovanju arome (Bem in Adamič, 1991).

Na razvoj arome ter značilnega vonja sušenih klobas vplivajo tudi encimski procesi v maščobnem tkivu (lipoliza). Gre za encimsko razgradnjo mastnine na glicerol, proste maščobne kisline, monogliceride in digliceride. Sodelujejo tako lipaze mišičnine kot tudi

lipaze mikrobiološkega izvora. Bistveni pomen pri oblikovanju arome imajo maščobne kisline, nasičene in nenasičene, ki delujejo kot prekurzorji za nastanek manjših molekul z močno izraženimi aromatičnimi lastnostmi. Proces oksidacije vodi do nastanka aldehydov, ketonov in maščobnih kislin s kratkimi verigami. Majhne količine teh spojin ugodno vplivajo na oblikovanje značilne arome, medtem ko večje količine niso zaželeno, ker ustvarijo neprijetno aromo po žarkem (Bem in Adamič, 1991).

Na razvoj arome, pri suhih salamah eni najpomembnejših senzoričnih lastnosti, vplivajo poleg endogenih encimov tudi avtohtona mikroflora, dodane starterske kulture ter ustrezna mešanica začimb (Bem in Adamič, 1991).



### 3 MATERIAL IN METODE

#### 3.1 MATERIAL IN NAČRT POSKUSA

Poskus smo glede na medij, v katerem smo spremljali morebitno razgradnjo PCB z različnimi komercialnimi mešanici starterskih kultur, razdelili na tri dele:

- poskus na tekočih gojiščih,
- poskus na mesni emulziji,
- poskus na fermentiranem mesnem izdelku – suhi salami.

##### 3.1.1 Spremljanje razgradnje PCB v tekočih gojiščih

V poskus smo vključili:

- gojišče **BHI** (Brain Heart Infusion Broth) (Fluka, 53286): 37 g gojišča smo raztopili v 1 l destilirane vode. Sledila je sterilizacija z avtoklaviranjem pri 121 °C, 15 minut,
- gojišče **MRS Broth** (*Lactobacillus* Broth, de Man, Rogosa in Sharpe) (Fluka, 69966): 51 g gojišča smo raztopili v 1 l destilirane vode in dodali 1 ml Tween 80 (Sigma, P8074). Vsebinsko smo zavreli, da se je popolnoma raztopila. Sledila je sterilizacija z avtoklaviranjem pri 121 °C, 15 minut,
- komercialni mešanici starterskih kultur **Texel DCM-1** (*Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus xylosus*) in **Texel LM-30** (*Lactobacillus sakei*, *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus xylosus*) (Danisco Texel, Francija). Inokulum (aktivno kulturo) smo pripravili po navodilih proizvajalca: 5 mg starterske kulture smo raztopili v 50 ml predhodno pripravljene gojišča,
- 10 ml standardne raztopine **PCB Congener Mix** (Supelco, 47330-U), ki vsebuje PCB 10 (2,6-diklorobifenil), PCB 28 (2,4,4'-triklorobifenil), PCB 52 (2,2',5,5'-tetraklorobifenil), PCB 138 (2,2',3,4,4',5'-heksaklorobifenil), PCB 153 (2,2',4,4',5,5'-heksaklorobifenil) in PCB 180 (2,2',3,4',4,5,5'-heptaklorobifenil). Koncentracija posamezne kongenere je znašala 10 µg/ml. Izooktan smo odparili ter suh preostanek raztopili v acetonu,
- florisil (Fluka, 46382) smo predhodno aktivirali 12 ur pri 150 °C, potem pa deaktivirali z dodatkom 3 ut. % vode.

### 3.1.1.1 Izvedba poskusa

Centrifugirke (Sarstedt, 62.548.004) smo napolnili s 50 ml gojišča BHI oziroma MRS ter dodali aktivno kulturo Texel DCM-1 oziroma Texel LM-30 (končna koncentracija: 5 mg/50 ml). Pripravili smo štiri eksperimentalne skupine:

- **BHI/DCM-1:** gojišče BHI + starterska kultura Texel DCM-1
- **BHI/LM-30:** gojišče BHI + starterska kultura Texel LM-30
- **MRS/DCM-1:** gojišče MRS + starterska kultura Texel DCM-1
- **MRS/LM-30:** gojišče MRS + starterska kultura Texel LM-30

V vse štiri skupine (v vsaki po 54 centrifugirk) smo na koncu dodali po 50 µl standardne raztopine PCB Congener Mix oziroma 50 µl acetona (Sigma-Aldrich, 650501) (kot negativno kontrolo). Sledila je 14-dnevna (336 ur) inkubacija v vodni kopeli pri 30 °C. Prvo vzorčenje smo izvedli v času 0, naslednja pa po 4, 24, 48, 72, 96, 168, 240 in 336 urah. Pri vsakem vzorčenju smo iz kopeli vzeli po dve centrifugirki (paralelki) ter jih zamrznili do nadaljnjih analiz. Eksperimentalne skupine smo pripravili v treh ponovitvah.

### 3.1.1.2 Mikrobiološka analiza

V poskusu smo preverili vpliv dodatka standardne raztopine PCB Congener Mix (priprava v poglavju 3.1.1) na rast starterskih kultur Texel DCM-1 (*S. carnosus*, *S. xylosus*) in Texel LM-30 (*L. sakei*, *S. carnosus*, *S. xylosus*) v gojiščih BHI in MRS, med 14-dnevno inkubacijo (336 ur) pri 30 °C. Priprava gojišč, aktivne kulture in eksperimentalnih skupin so opisani v poglavjih 3.1.1. in 3.1.1.1. Vzorčenja smo opravili v času 0, po 4, 24, 48, 72, 96, 168, 240 in 336 urah.

#### Določitev števila preživelih bakterij z metodo štetja kolonij na trdem gojišču

Za določitev števila bakterij smo uporabili metodo štetja kolonij na trdem gojišču (SIST EN ISO 4833, 2003). Uporabili smo neselektivno gojišče triptični soja agar (TSA) (Oxoid, CM0131, Anglija), ki smo ga pripravili po navodilih proizvajalca: 40 g gojišča smo raztopili v 1 l destilirane vode. Sledila je sterilizacija z avtoklaviranjem pri 121 °C, 15 minut. Vsebino smo ohladili na 45–50 °C, nato pa jo aseptično vlili v petrijeve plošče.

V 9 ml fiziološke raztopine smo dodali 1 ml vzorca (iz centrifugirke) in vsebino premešali na vrtničnem mešalu (Yellowline TTS2, IKA, ZDA). Postopek smo ponavljali do ustreznega redčitve. 0,1 ml ustreznega razredčenega vzorca smo nato cepili na predhodno pripravljeno gojišče TSA v dveh paralelkah ter ga razmazali po površini s sterilno palčko. Sledila je 24-urna inkubacija pri 37 °C.

### Izračun števila bakterij v gojišču

Po končani inkubaciji smo na gojišču TSA prešteli zrasle kolonije ter izračunali število preživelih bakterij  $N$ , pri čemer smo upoštevali le gojišča, na katerih je zraslo od 15 do 300 kolonij. Pri izračunu smo uporabili enačbo:

$$N = \frac{\sum C}{(n_1 + 0,1n_2)d} \quad \dots (1)$$

$N$  št. preživelih bakterij v CFU/ml

$\sum C$  vsota vseh kolonij na števni plošči

$n_1$  št. prešteti plošč pri prvi razredčitvi

$n_2$  št. prešteti plošč pri drugi razredčitvi

$d$  razredčitveni faktor pri prvi upoštevanem razredčitvi

### **3.1.2 Spremljanje razgradnje PCB v mesni emulziji**

V poskus smo vključili:

- gojišče **MSA** (Mannitol Salt Broth Culture Media) (Merck, 1.05404): 96,02 g gojišča smo raztopili v 1 l destilirane vode. Vsebinsko smo segreli, da se je popolnoma raztopila. Sledila je sterilizacija z avtoklaviranjem pri 121 °C, 15 minut,
- startersko kulturo **Texel DCM-1** (*Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus xylosus*) (Danisco Texel, Francija). Inokulum (aktivno kulturo) smo pripravili po navodilih proizvajalca: 100 mg kulture smo raztopili v 1 l predhodno pripravljene gojišča MSA. Sledila je inkubacija pri 30 °C, 72 ur (vodna kopel),
- proteinski ekstrakt, ki smo ga pridobili iz aktivne kulture (opis v poglavju 3.1.2.2),
- 10 ml standardne raztopine **PCB Congener Mix** (Supelco, 47330-U), ki vsebuje PCB 10 (2,6-diklorobifenil), PCB 28 (2,4,4'-triklorobifenil), PCB 52 (2,2',5,5'-tetraklorobifenil), PCB 138 (2,2',3,4,4',5'-heksaklorobifenil), PCB 153 (2,2',4,4',5,5'-heksaklorobifenil) in PCB 180 (2,2',3,4',4,5,5'-heptaklorobifenil). Koncentracija posamezne kongenere je znašala 10 µg/ml. Izooktan smo predhodno odparili in suh preostanek raztopili v 250 g rastlinskega olja (koncentracija posamezne kongenere je znašala 40 ng/g olja),
- florisil (Fluka, 46382) smo predhodno aktivirali 12 ur pri 150 °C, potem pa deaktivirali z dodatkom 3 ut. % vode.

### 3.1.2.1 Izdelava mesne emulzije

#### Preglednica 10: Sestavine za izdelavo mesne emulzije

Table 10: Ingredients for the production of meat emulsion

Sestavine	%	g (skupaj 1 kg)
35 % govedine (stegno)	35	350
20 % svinjine (stegno)	20	200
25 % rastlinskega olja	25	250
1,5 % NaCl	1,5	15
0,1 % saharoze	0,1	1
20 % hladne vode/starterske kulture/proteinskega ekstrakta	20	200

Meso smo očistili veziva, hrustancev, maščobnega tkiva ter ga zmleli v volku skozi luknjačo premera 5 mm. Dodali smo NaCl in saharozo ter vsebino dobro premešali in homogenizirali v kutru (Stephan, 2400 obratov/min), na koncu pa dodali 25 % rastlinskega olja, v katerem smo predhodno raztopili standardno raztopino PCB Congener Mix (končna koncentracija 40 ng/g maščobe) (preglednica 10).

### 3.1.2.2 Izolacija proteinov (proteinski ekstrakt)

Po končani inkubaciji starterske kulture (30 °C, 72 ur) (poglavje 3.1.2) smo alikvot (200 ml) inokuluma vmešali v predhodno pripravljeno mesno emulzijo (poglavje 3.1.2.3), preostanek (200 ml) pa centrifugirali pri 1750 × g, 10 minut (Eppendorf, Centrifuge 5810). Proteine v supernatantu (vsebujejo različne encime) smo oborili z dodatkom amonijevega sulfata ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (Merck, 1.01217) do 70 % nasičenja in pustili čez noč pri 4 °C. Sledilo je centrifugiranje na 10000 × g, 15 minut pri 4 °C. Supernatant smo zavrgli, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> oborino (vsebuje proteine) pa raztopili v 200 ml fiziološke raztopine.

### 3.1.2.3 Izvedba poskusa

Predhodno pripravljeno mesno emulzijo smo razdelili v tri eksperimentalne skupine:

- mesna emulzija z 20 % vode (**kontrola**),
- mesna emulzija, kjer smo 20 % vode nadomestili z aktivno startersko kulturo (**+starter**),
- mesna emulzija, kjer smo 20 % vode nadomestili s proteinskim ekstraktom (**+proteinski ekstrakt**).

Sledilo je polnjenje mase v 50 ml centrifugirke in inkubacija pri 4 °C (hladilnik), 72 ur.

Po inkubaciji smo skupine mesnih emulzij (**kontrola**, **+starter**, **+proteinski ekstrakt**) razdelili v tri podskupine:

- presna mesna emulzija, ohlajena na 4 °C (**kontrola/4**, **+starter/4**, **+proteinski ekstrakt/4**),
- mesna emulzija, toplotno obdelana z vodno paro do središčne temperature 78 °C (**kontrola/78**, **+starter/78**, **+proteinski ekstrakt/78**),
- mesna emulzija, toplotno obdelana z vodno paro do središčne temperature 100 °C (**kontrola/100**, **+starter/100**, **+proteinski ekstrakt/100**).

Toplotna obdelava mesnih emulzij z vodno paro je trajala 45–55 minut, dokler ni bila dosežena zelena središčna temperatura (78 °C oz. 100 °C) (komora Fessman). Po doseženi središčni temperaturi je sledilo 60-minutno hlajenje. Ohlajene vzorce mesnih emulzij smo skupaj s presnimi hranili v hladilniku dodatnih 24 ur, nato pa jih zamrznili do nadaljnjih analiz. Eksperimentalne skupine mesnih emulzij smo pripravili v treh ponovitvah.

### 3.1.3 Spremljanje razgradnje PCB v suhih salamah

V poskus smo vključili:

- komercialne mešanice starterskih kultur: **Texel DCM-1** (*Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus xylosus*) (Danisco-**Texel**, Francija), **Texel LM-30** (*Lactobacillus sakei*, *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus xylosus*) (Danisco-**Texel**, Francija), **Biostar Sprint** (*Lactobacillus sakei*, *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus xylosus*) (Wiberg) in **SM-181** (*Lactobacillus sakei* HJ-7, *Staphylococcus xylosus* DD-34) (CHR Hansen, Danska). Priprava aktivne kulture: 0,2 g posamezne starterske kulture smo vmešali v 2 kg mase za salame,
- 10 ml standardne raztopine **PCB Congener Mix** (Supelco, 47330-U), ki vsebuje PCB 10 (2,6-diklorobifenil), PCB 28 (2,4,4'-triklorobifenil), PCB 52 (2,2',5,5'-tetraklorobifenil), PCB 138 (2,2',3,4,4',5'-heksaklorobifenil), PCB 153 (2,2',4,4',5,5'-heksaklorobifenil) in PCB 180 (2,2',3,4',4,5,5'-heptaklorobifenil). Koncentracija posamezne kongenere je znašala 10 µg/ml. Izooktan smo predhodno odparili, suh preostanek pa raztopili v 10 ml rastlinskega olja. Tako pripravljeno mešanico smo previdno vmešali v 1 kg drobno zmlete govedine (končna koncentracija posamezne kongenere je znašala 10 µg/kg salame).

### 3.1.3.1 Izdelava suhih salam

#### Preglednica 11: Sestavine za izdelavo suhih salam

**Table 11: Ingredients for the production of dry fermented sausages**

Sestavine	%	kg (skupaj 10 kg)
govedina	10	1
svinjina, hlajena	15	1,5
svinjina, namrznjena	60	6
hrbtna slanina	15	1,5
nitritna sol	2,5	250
poper	0,3	30
česen granulat	0,5	50

Izdelavo salam in postopek sušenja/zorenja smo izvedli v tehnološkem laboratoriju katedre za tehnologijo mesa in vrednotenje živil. Suhe salame smo izdelali po klasični recepturi (preglednica 11). Namrznjeno svinjino smo zmleli na volku skozi luknjačo premera 12 mm, nato pa dodali na kocke narezano slanino in začimbe (poper, česen granulat). Vse skupaj smo dobro premešali, dodali nitritno sol in ohlajeno svinjino, ki smo jo zmleli na volku skozi luknjačo premera 12 mm. Govedino smo zmleli dvakrat skozi luknjačo premera 3 mm, dodali PCB Congener mix (priprava opisana v poglavju 3.1.3). Vse skupaj smo dobro premešali, dokler masa ni postala homogena (pri tem smo pazili, da temperatura ni presegla 5 °C). Tako pripravljeno maso smo razdelili v 5 eksperimentalnih skupin (glede na vrsto dodane komercialne starterske kulture) po 2 kg:

- **PCBKS** (brez starterske kulture),
- **PCB1S** (starterska kultura Texel DCM-1),
- **PCB2S** (starterska kultura Texel LM-30),
- **PCB3S** (starterska kultura Biostar Sprint),
- **PCB4S** (starterska kultura SM-181).

Pripravljeno maso smo s polnilnikom polnili v prepustne kolagenske ovitke. V vsaki eksperimentalni skupini smo izdelali 12 salam s težo približno 160 g. Po polnjenju smo salame obesili. Sledil je 28-dnevni proces sušenja/zorenja. Tehnološki parametri so zbrani v preglednici 12.

**Preglednica 12: Tehnološki parametri med sušenjem/zorenjem salam**

**Table 12: Technological parameters during drying/ripening of dry fermented sausages**

Faza/čas (h)	Temperatura (°C)	Relativna vlaga (%)
1. faza/18	22–24	85–90
2. faza/24	21–23	60–65
3. faza/24	20–22	70–75
4. faza/24	18–20	73–78
5. faza/24	16–18	75–80
6. faza/24	14–16	78–83
do konca zorenja	13–15	80–85

Prvo vzorčenje smo opravili na dan izdelave (čas 0), ostala pa po 4, 7, 14, 21 in 28 dneh. Iz vsake eksperimentalne skupine smo vzeli po dve salami (paralelki), jih vakuumsko zapakirali ter zamrznili do nadaljnjih analiz. Tekom sušenja/zorenja smo spremljali izgubo mase – salame smo pri vsakem vzorčenju stehali. Po končanem procesu sušenja/zorenja smo na vseh vzorcih salam opravili analizo osnovne kemijske sestave.

## 3.2 METODE

### 3.2.1 Določanje osnovne kemijske sestave suhih salam z metodo NIR

Vsebnost beljakovin, maščob in vode smo določili z aparatom Food Scan™ Meat Analyser (FOSS, Danska), ki je posebej namenjen za meso in mesne izdelke. Na podlagi bližnjega infrardečega območja (NIR) določa kemijske lastnosti v mesu in mesnih izdelkih.

Homogenizirane vzorce smo prenesli v čiste okrogle pladnje (FOSS, 60000304), jih razmazali in zgladili površino vzorca. Tako pripravljene pladnje smo vstavili v aparat, sledil je izpis rezultatov na ekranu. Ponovljivost meritev smo zagotovili s šestkratnim analiziranjem istega vzorca, pri katerem je koeficient variabilnosti za vsebnost vode, beljakovin in maščob znašal manj kot 0,2 %.

### 3.2.2 Določanje PCB v gojiščih

#### 3.2.2.1 Postopek ekstrakcije PCB

V 100 ml erlenmajerice s pokrovčkom na navoj smo prenesli 50 ml vzorca (celotno vsebino centrifugirke), dodali 50 ml hexana (Fluka, 34484) in stresali na elektromagnetnem mešalniku RT 10 power IKAMAG® (IKA, 2930500) 12 ur. Nato smo dodali 1 g NaOH (Sigma-Aldrich, 306576) in stresali še 0,5 ure. Vsebino smo prelili v lij ločnik in organsko fazo zbirali v 50 ml centrifugirke (Sarstedt, 62.548.004). Vzorci so bili tako pripravljene za postopek SPE.

#### 3.2.2.2 Ekstrakcija s trdno fazo (SPE)

Stekleno kromatografsko kolono s stekleno frito in PTFE ventilom (35 ml) (Lenz, 5.4507.03) smo predhodno napolnili s 15 ml heksana (Fluka, 34484), 2 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Merck, 1.06649) in 5 g florisila ter jo kondicionirali s heksanom do višine 1 cm nad plastjo florisila. Na kolono smo nanесли ves vzorec (50 ml) in eluat zavrgli. Sledil je nanos 10 ml mobilne faze heksan (Fluka, 34484) : diklorometan (Merck, 1.06044) (4:1). Eluat smo zbirali v 25 ml steklene bučke. Sledilo je odparevanje topila na rotavaporju (R-210/215) (225 mbar, 40 °C) do približno 1 ml ostanka. Ostanek smo prenesli v steklene vial (Supelco, 27002-U) in dopolnili s heksanom (Fluka, 34484) do 1,5 ml. Vzorce smo zamrznili do nadaljnjih analiz na GC-μECD.

#### 3.2.2.3 Plinska kromatografija

Vsebnost PCB smo določili s plinsko kromatografijo (GC) na plinskem kromatografu Agilent 6890N, z detektorjem na zajetje elektronov (μECD). Uporabili smo kapilarno kolono Rtx-CLPesticides (Restek, 11141) (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm).



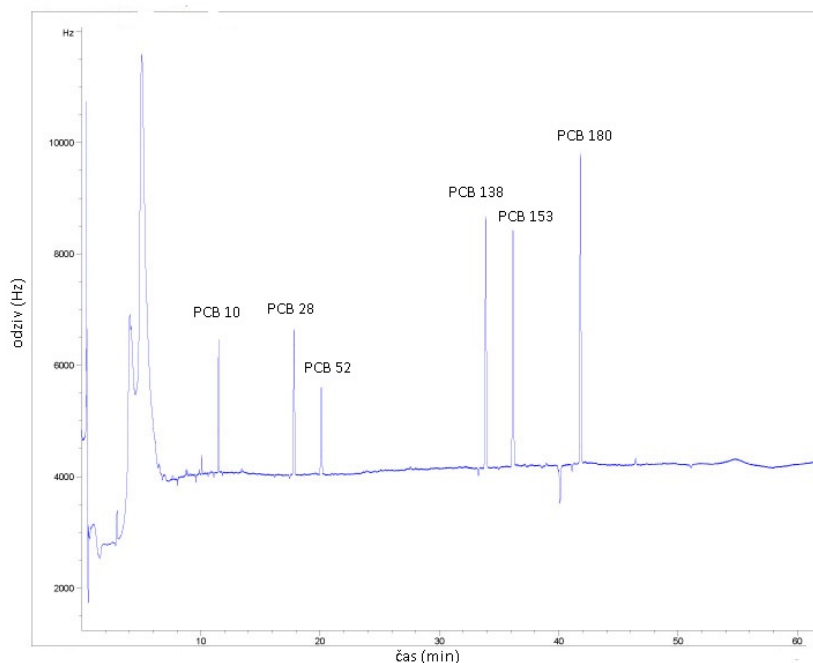
Temperaturni program za ločevanje in detekcijo: 60 °C (1 min); 20 °C/min do 180 °C (10 min), 2 °C/min do 230 °C (20 min); temperatura injektorja 250 °C; injektor: pulsed splitless, volume 1 µl; temperatura detektorja µECD: 300 °C; nosilni plin: He, 0,6 ml/min; maskirni plin: N<sub>2</sub>, 25 ml/min.

Parametri plinske kromatografije so zbrani v preglednici 13. Primera kromatogramov standardne raztopine PCB Congener Mix in vzorca gojišča sta prikazana na slikah 4 in 5.

**Preglednica 13: Parametri plinske kromatografije za določanje vsebnosti PCB v gojiščih**

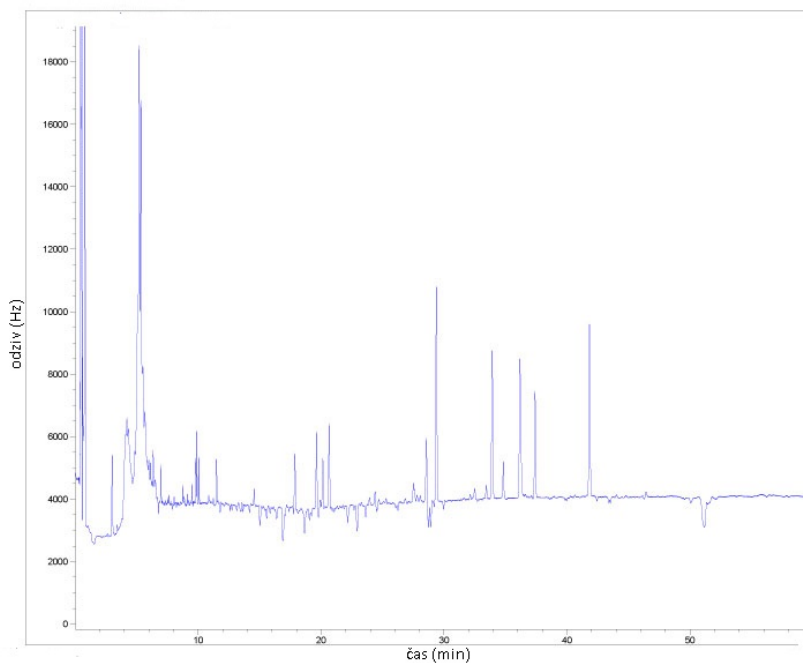
**Table 13: Gas chromatography parameters for determination of PCBs in liquid media**

Parameter	PCB 10	PCB 28	PCB 52	PCB 138	PCB 153	PCB 180
retenzijski čas (min)	11,50	17,82	20,11	36,15	33,89	41,82
izkoristek metode (%)	78,0	87,1	75,8	105,4	115,4	97,1
ponovljivost metode (%)	97,3	96,8	99,1	97,2	98,2	97,5
naklon umeritvene k.	838,9	1563,8	1455,9	3586,9	3105,1	4246,8
R <sup>2</sup>	0,9995	0,9998	0,9980	0,9974	0,9942	0,9997
meja detekcije (ppb)	1	1	1	0,3	0,3	0,25
meja kvantifikacije (ppb)	3	3	3	1	1	0,75



**Slika 4: Kromatogram standardne raztopine PCB Congener mix, določene z GC-µECD (koncentracija posamezne kongenere: 10 ppb)**

**Figure 4: Chromatogram of standard solution of PCB Congener Mix, determined on GC-µECD (concentration of each congener: 10 ppb)**

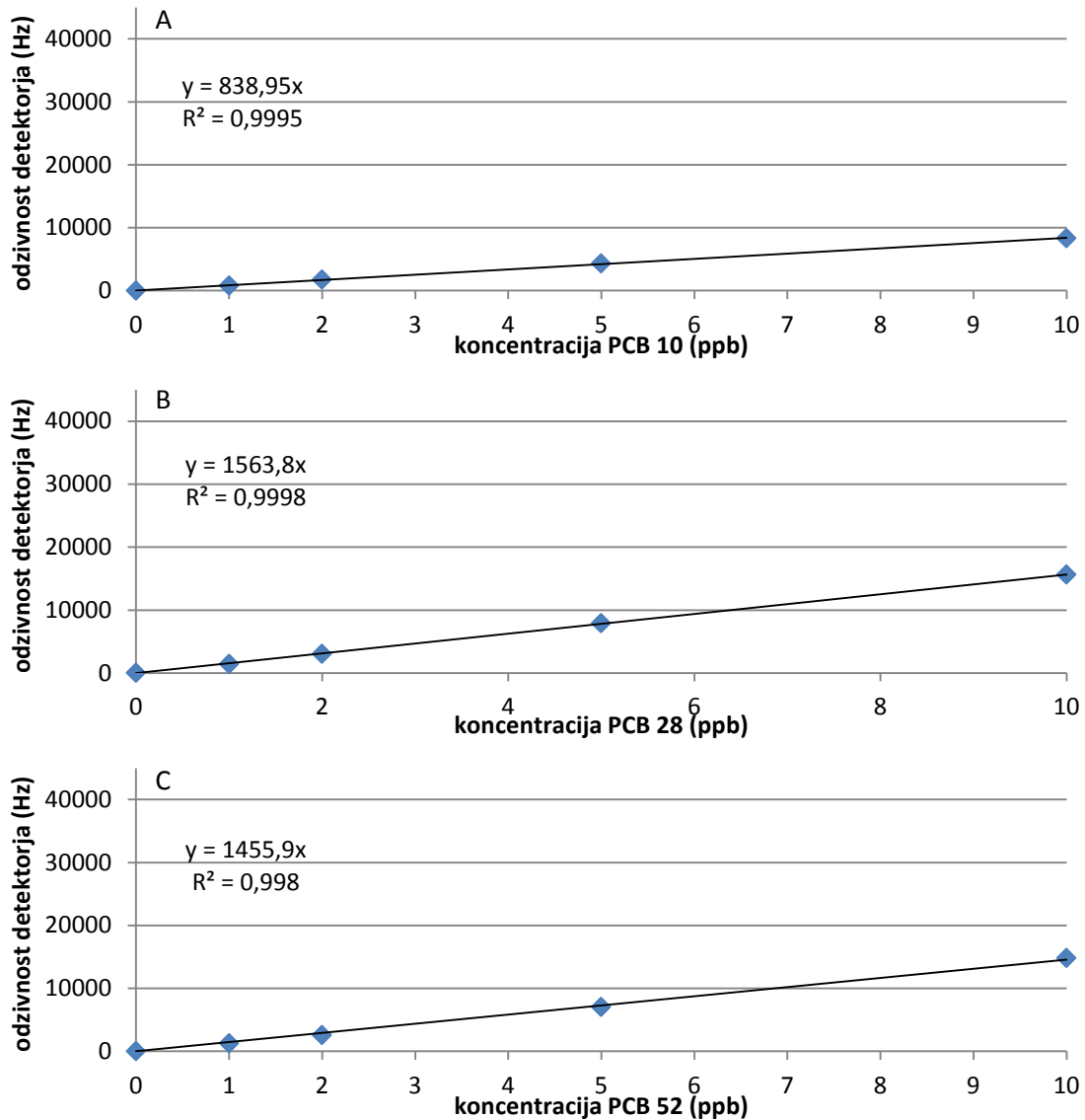


**Slika 5: Kromatogram vzorca gojišča MRS s startersko kulturo Texel DCM-1 in dodatkom standardne raztopine PCB Congener Mix ob času 0, določenega z GC- $\mu$ ECD**

**Figure 5: Chromatogram of MRS culture media sample with addition of a starter culture Texel DCM-1 and standard solution of PCB Congener Mix at time 0, determined on GC- $\mu$ ECD**

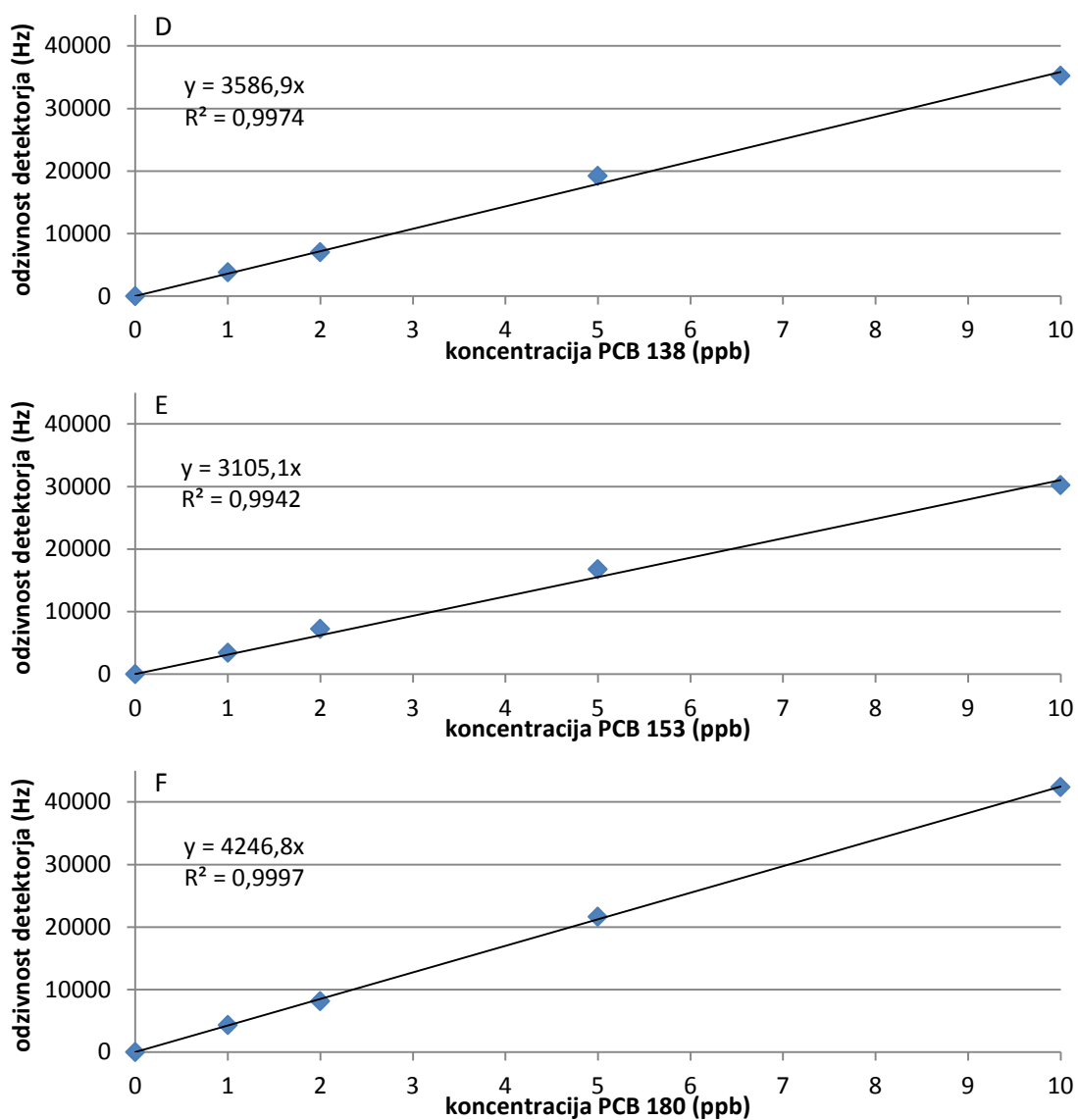
### 3.2.2.4 Umeritvene krivulje

Umeritvene krivulje posameznih standardov PCB so prikazane na slikah 6 in 7.



Slika 6: Umeritvene krivulje posameznih standardov PCB v koncentracijah od 1 do 10 ppb (A – PCB 10; B – PCB 28; C – PCB 52)

Figure 6: Calibration curves of each PCB standards in concentration from 1 to 10 ppb (A – PCB 10; B – PCB 28; C – PCB 52)



Slika 7: Umeritvene krivulje posameznih standardov PCB v koncentracijah od 1 do 10 ppb (D – PCB 138; E – PCB 153; F – PCB 180)

Figure 7: Calibration curves of each PCB standards in concentration from 1 to 10 ppb (D – PCB 138; E – PCB 153; F – PCB 180)

### 3.2.2.5 Statistična analiza podatkov

V poskusu zbrane podatke smo pripravili in uredili s programom EXCEL XP. Osnovne statistične parametre smo izračunali s postopkom MEANS, s postopkom UNIVARIATE pa smo podatke testirali na normalnost porazdelitve (SAS Software, 1999). Rezultati poskusa so bili analizirani po metodi najmanjših kvadratov s postopkom GLM. Za analizo vsebnosti PCB v gojiščih smo uporabili statistični model (1), v katerega smo vključili fiksne vplive časa inkubacije (0–14 dni), eksperimentalne skupine (BHI/DCM-1, BHI/LM-30, MRS/DCM-1, MRS/LM-30) in ponovitve (1–3), kot tudi interakcijo med časom inkubacije in eksperimentalno skupino. Povprečne vrednosti za eksperimentalne skupine so bile izračunane z Duncanovim testom in primerjane pri 5 % tveganju.

### 3.2.3 Določanje PCB v mesni emulziji

#### 3.2.3.1 Postopek ekstrakcije PCB

V čašo smo odtehtali 10 g ( $\pm 0,001$  g) predhodno homogeniziranega vzorca, dodali 10 g  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (Merck, 1.06649), vsebino dobro premešali ter previdno prenesli v celulozne ekstrakcijske tulce. Tulce smo položili v Soxhlet ekstraktorje, v 250 ml bučke nalili 120 ml heksana (Fluka, 34484) ter jih spojili z ekstraktorji. Sledila je 18-urna ekstrakcija v vodni kopeli (95 °C). Po končani ekstrakciji smo topilo v bučkah odparili na rotavaporju (R-210/215) (310 mbar, 40 °C) do približno 5 ml ostanka, ga prenesli v 10 ml merilne bučke in dopolnili s heksanom (Fluka, 34484). Vzorci so bili tako pripravljene za postopek SPE.

#### 3.2.3.2 Ekstrakcija s trdno fazo (SPE)

Stekleno kromatografsko kolono s stekleno frito in PTFE ventilom (35 ml) (Lenz, 5.4507.03) smo predhodno napolnili z 20 ml heksana (Fluka, 34484), 2 g  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (Merck, 1.06649) in 6 g florisila ter jo kondicionirali s heksanom do višine 1 cm nad plastjo florisila. Na kolono smo nanesti 2,5 ml vzorca in eluat zavrgli. Sledila je elucija vzorca s 30 ml mobilne faze heksan (Fluka, 34484) : diklorometan (Merck, 1.06044) (4:1). Eluat smo zbirali v 50 ml bučke. Topilo smo odparili na rotavaporju (R-210/215) (310 mbar, 40 °C) do približno 1,3 ml ostanka. Ostanek smo nato prenesli v steklene vialo (Supelco, 27002-U) in dopolnili s heksanom do 2 ml. Tako pripravljene vzorce smo zamrzili do nadaljnjih analiz na GC- $\mu$ ECD.

#### 3.2.3.3 Plinska kromatografija

Vsebnost PCB smo določili s plinsko kromatografijo (GC) na plinskem kromatografu Agilent 6890N, z detektorjem na zajetje elektronov ( $\mu$ ECD). Uporabili smo kapilarno kolono Rtx-CLPesticides (Restek, 11141) (30 m  $\times$  0,25 mm  $\times$  0,25  $\mu$ m).

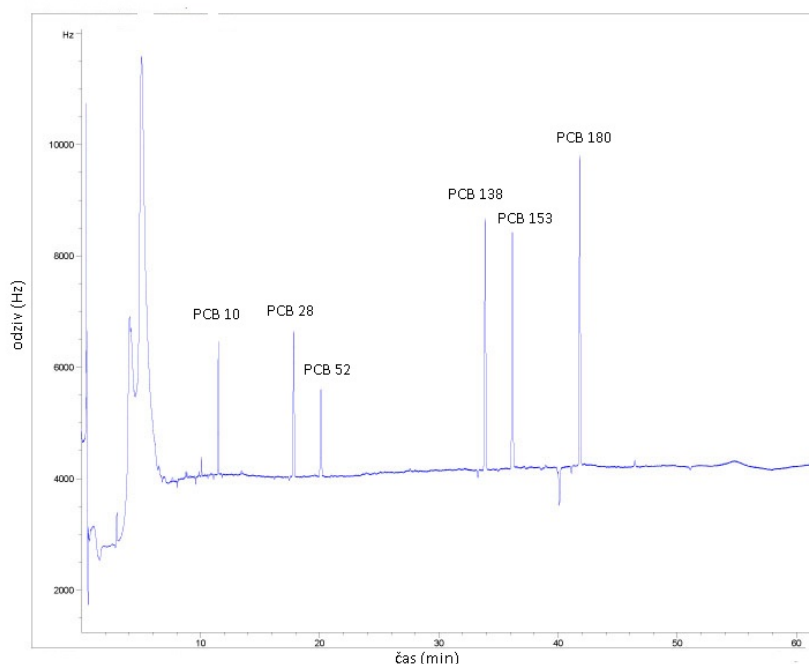
Temperaturni program za ločevanje in detekcijo: 60 °C (1 min); 20 °C/min do 180 °C (10 min), 2 °C/min do 230 °C (20 min); temperatura injektorja 250 °C; injektor: pulsed splitless, volume 1  $\mu$ l; temperatura detektorja  $\mu$ ECD: 300 °C; nosilni plin: He, 0,6 ml/min; maskirni plin:  $\text{N}_2$ , 25 ml/min.

Parametri plinske kromatografije so zbrani v preglednici 14. Primera kromatogramov standardne raztopine PCB Congener Mix in vzorca mesne emulzije sta prikazana na slikah 8 in 9.

**Preglednica 14: Parametri plinske kromatografije za določanje vsebnosti PCB v mesni emulziji**

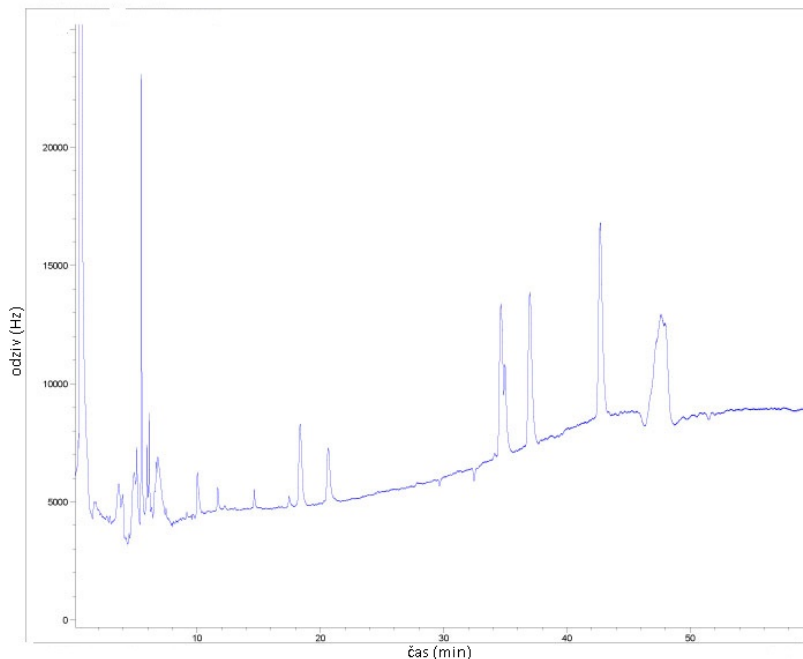
**Table 14: Gas chromatography parameters for determination of PCBs in meat emulsion**

Parameter	PCB 10	PCB 28	PCB 52	PCB 138	PCB 153	PCB 180
retenzijski čas (min)	11,49	17,80	20,09	36,13	33,87	41,80
izkoristek metode (%)	72,0	85,8	70,1	100,4	105,4	96,6
ponovljivost metode (%)	97,3	96,8	99,1	97,2	98,2	97,5
naklon umeritvene k.	813,5	1544,7	1489,1	3571,9	3207,1	4223,4
R <sup>2</sup>	0,9997	0,9995	0,9990	0,9984	0,9962	0,9997
meja detekcije (ppb)	2	2	2	1	1	1
meja kvantifikacije (ppb)	6	6	6	3	3	3



**Slika 8: Kromatogram standardne raztopine PCB Congener mix, določene z GC- $\mu$ ECD (koncentracija posamezne kongenere: 10 ppb)**

**Figure 8: Chromatogram of standard solution of PCB Congener Mix, determined on GC- $\mu$ ECD (concentration of each congener: 10 ppb)**



**Slika 9: Kromatogram vzorca mesne emulzije s startersko kulturo Texel DCM-1 in dodatkom standardne raztopine PCB Congener Mix pri 4 °C, določenega z GC- $\mu$ ECD**

**Figure 9: Chromatogram of a meat emulsion sample with addition of a starter culture Texel DCM-1 and standard solution of PCB Congener Mix at 4 °C, determined on GC- $\mu$ ECD**

#### 3.2.3.4 Statistična analiza podatkov

V poskusu zbrane podatke smo pripravili in uredili s programom EXCEL XP. Osnovne statistične parametre smo izračunali s postopkom MEANS, s postopkom UNIVARIATE pa smo podatke testirali na normalnost porazdelitve (SAS Software, 1999). Rezultati poskusa so bili analizirani po metodi najmanjših kvadratov s postopkom GLM. Uporabili smo dva statistična modela. Za analizo vsebnosti PCB v presnih emulzijah smo uporabili statistični model (2), v katerega smo vključili fiksni vpliv eksperimentalne skupine (kontrola/4, +starter/4 in +proteinski ekstrakt/4). Za analizo vsebnosti PCB v toplotno obdelanih emulzijah pa smo uporabili statistični model (3), v katerega smo vključili fiksni vpliv eksperimentalne skupine (kontrola/4, kontrola/78, kontrola/100; +starter/78, +starter/100; +proteinski ekstrakt/78, +proteinski ekstrakt/100). Povprečne vrednosti za eksperimentalne skupine so bile izračunane z Duncanovim testom in primerjane pri 5 % tveganju.



### 3.2.4 Določanje PCB v suhih salamah

#### 3.2.4.1 Postopek ekstrakcije PCB

V čašo smo odtehtali 5 g ( $\pm 0,001$  g) predhodno homogeniziranega vzorca, dodali 10 g  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (Merck, 1.06649) in 20  $\mu\text{l}$  standardne raztopine PCB 155 (LGC, U-RPC-046S) (kot interni standard). Vsebino smo dobro premešali ter previdno prenesli v celulozne ekstrakcijske tulce. Sledila je ekstrakcija z 80 ml heksana (Fluka, 34484) na Soxtec<sup>TM</sup> 2050 (Automatic System) (12 ur, 180 °C). Po končani ekstrakciji smo heksan prelili v 100 ml bučke z okroglim dnom, sledilo je odparevanje topila na rotavaporju (R-210/215) (310 mbar, 40 °C). Preostanek smo raztopili v 10 ml heksana (Fluka, 34484). Tako pripravljene vzorce smo ohladili na 4 °C. 1 ml ohlajenega vzorca smo odpipetirali v epruvete s pokrovčki na navoj (Assistent, 976). Sledilo je odparevanje topila v vakuumski centrifugi. Dodali smo 5 ml acetonitrila (Fluka, 34967) in vsebino za 15 minut prenesli v ultrazvočno kopel (Bransonic 3510E-DTH, Branson, Nemčija). Sledilo je 10-minutno centrifugiranje pri  $3000 \times g$  (Eppendorf, centrifuge 5810). Po centrifugiranju smo supernatant prenesli v Supel<sup>TM</sup> QuE Z-Sep+ centrifugirke (Supelco, 55296-U). Vsebino smo 1 minuto močno stresali, sledilo je ponovno centrifugiranje na  $3000 \times g$ , 10 minut (Eppendorf, centrifuge 5810). Supernatant smo prenesli v epruvete s pokrovčki na navoj (Assistent, 976) in topilo odparili v vakuumski centrifugi. Preostanek smo raztopili v 100  $\mu\text{l}$  heksana (Fluka, 34484). Vzorci so bili tako pripravljene za nadaljnjo analizo na GC-MS.

#### 3.2.4.2 Plinska kromatografija

Vsebnost PCB smo določili s plinsko kromatografijo (GC) na plinskem kromatografu Agilent 7890A sklopljenim z masnim detektorjem (MS) Agilent 5975C VL MSD, z avtomatskim vzorčevalnikom Gerstel MPS2 (Gerstel). Uporabili smo kapilarno kolono HP-5MS (Agilent Technologies, 19091S-433) (30 m  $\times$  0,25 mm  $\times$  0,25  $\mu\text{m}$ ).

Temperaturni program za ločevanje in detekcijo: 60 °C (1 min); 20 °C/min do 180 °C (10 min), 2 °C/min do 230 °C (20 min); temperatura injektorja 250 °C; injektor: pulsed splitless, volume 1  $\mu\text{l}$ ; temperatura izvora detektorja: 250 °C; temperature kvadropola: 150 °C; nosilni plin: He, 1,0 ml/min; maskirni plin:  $\text{N}_2$ , 25 ml/min.

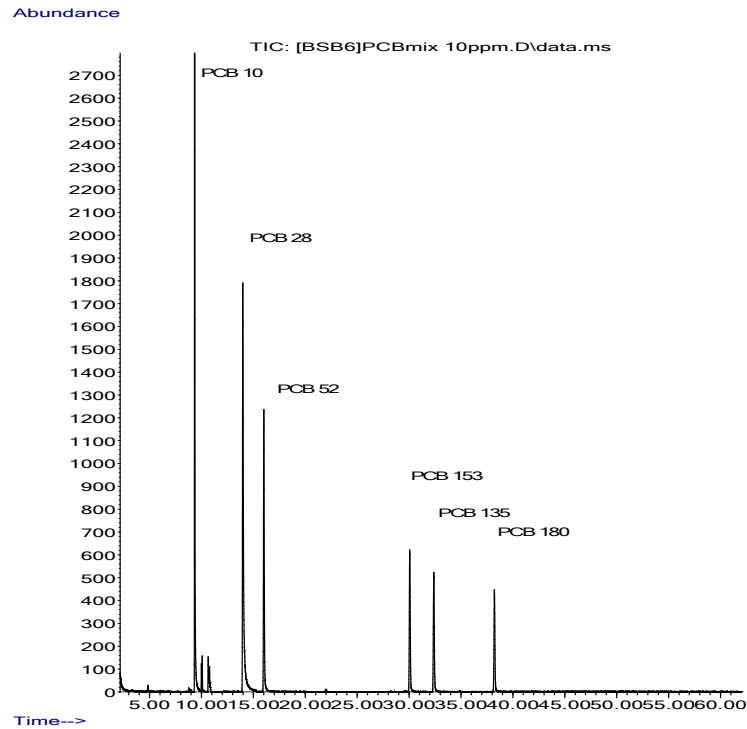
Parametri nastavitve GC-MS so zbrani v preglednici 15. Primera kromatogramov standardne raztopine PCB Congener Mix in vzorca suhe salame sta prikazana na slikah 10 in 11.

**Preglednica 15: Parametri nastavitve GC-MS**

**Table 15: GC-MS acquisition parameters**

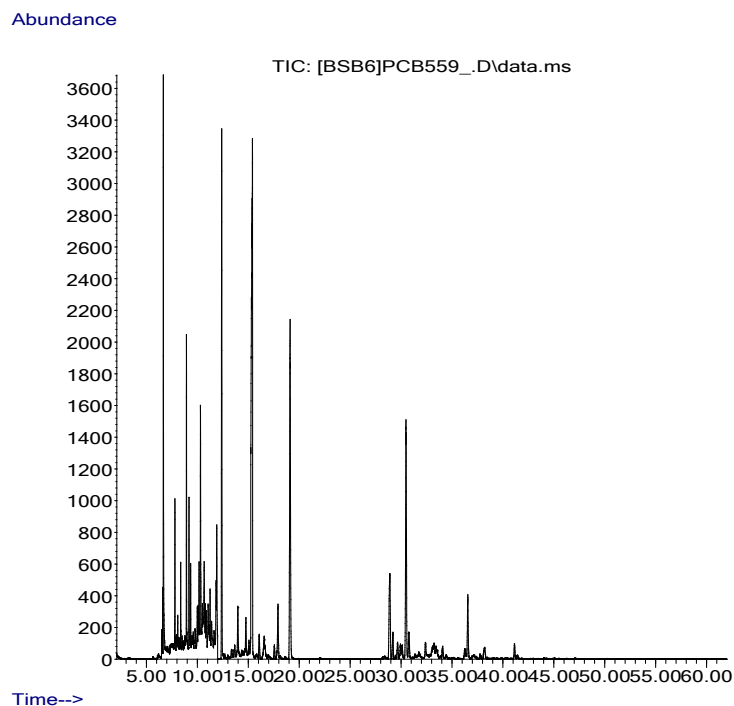
PCB	RT (min)	SIM snemanje			Odzivnost detektorja
		Q1*	Q2	Q3	
PCB 10	9,35	222	224		1,875
PCB 28	13,98	256	258	260	1,677
PCB 52	16,00	292	255	220	1,425
PCB 155 IS	21,96	360			1
PCB 153	30,04	360	290	218	1,102
PCB 138	32,36	360	290	218	1,010
PCB 180	38,19	394	324	252	0,998

RT – retenzijski čas, SIM – Single Ion Monitoring, Q1\* – fragment kvantifikacije  
 RT – Retention time, SIM – Single Ion Monitoring, Q1\* – Quantification fragment



**Slika 10: Kromatogram standardne raztopine PCB Congener mix, določene z GC-MS (koncentracija posamezne kongenere: 10 ppb)**

**Figure 10: Chromatogram of standard solution of PCB Congener Mix, determined on GC-MS (concentration of each congener: 10 ppb)**



**Slika 11: Kromatogram vzorca suhe salame s startersko kulturo Texel DCM-1 in dodatkom standardne raztopine PCB Congener Mix po 28 dneh sušenja/zorenja, določenega z GC-MS**

**Figure 11: Chromatogram of dry fermented sausage sample with addition of a starter culture Texel DCM-1, after 28 days of drying/ripening, determined on GC-MS**

### 3.2.4.3 Statistična analiza podatkov

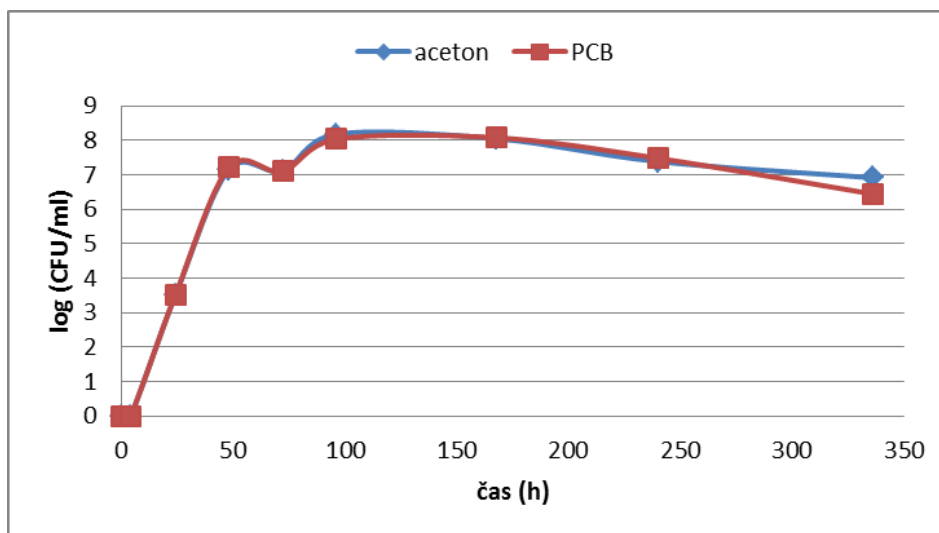
V tem poskusu zbrane podatke smo zopet pripravili in uredili s programom EXCEL XP. Osnovne statistične parametre smo izračunali s postopkom MEANS, s postopkom UNIVARIATE pa smo podatke testirali na normalnost porazdelitve (SAS Software, 1999). Za analizo vsebnosti PCB v suhih salamah smo uporabili statistični model (4), v katerega smo vključili fiksne vplive časa sušenja/zorenja (0–28 dni), eksperimentalne skupine (PCBKS, PCB1S, PCB2S, PCB3S, PCB4S) in ponovitve (1–3), kot tudi interakcijo med časom sušenja/zorenja in eksperimentalno skupino. Povprečne vrednosti za eksperimentalne skupine so bile izračunane z Duncanovim testom in primerjane pri 5 % tveganju.

## 4 REZULTATI

### 4.1 SPREMLJANJE RAZGRADNJE PCB V TEKOČIH GOJIŠČIH

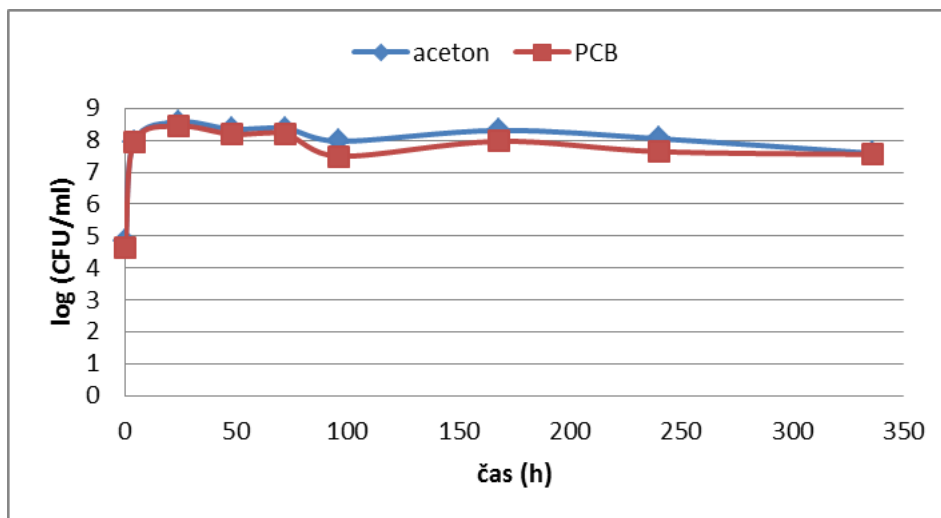
#### 4.1.1 Vpliv dodatka PCB na rast starterskih kultur

Rastne krivulje starterskih kultur Texel DCM-1 (*S. carnosus*, *S. xylosum*) in Texel LM-30 (*L. sakei*, *S. carnosus*, *S. xylosum*) v gojiščih MRS in BHI z dodatkom acetona (negativna kontrola) oziroma standardne mešanice PCB Congener mix (v acetonu) so prikazane na slikah 12–15. Dobljeni rezultati so pokazali, da dodatek PCB v gojišči MRS in BHI ni vplival na rast omenjenih starterskih kultur. Med rastnimi krivuljami (tretirane s PCB oziroma acetonom kot kontrolo) nismo opazili statistično značilnih razlik. Na osnovi rezultatov smo zaključili, da preverjanje vpliva PCB na rast starterskih kultur v ostalih dveh poskusih (mesna emulzija in suhe salame) ni potrebno.



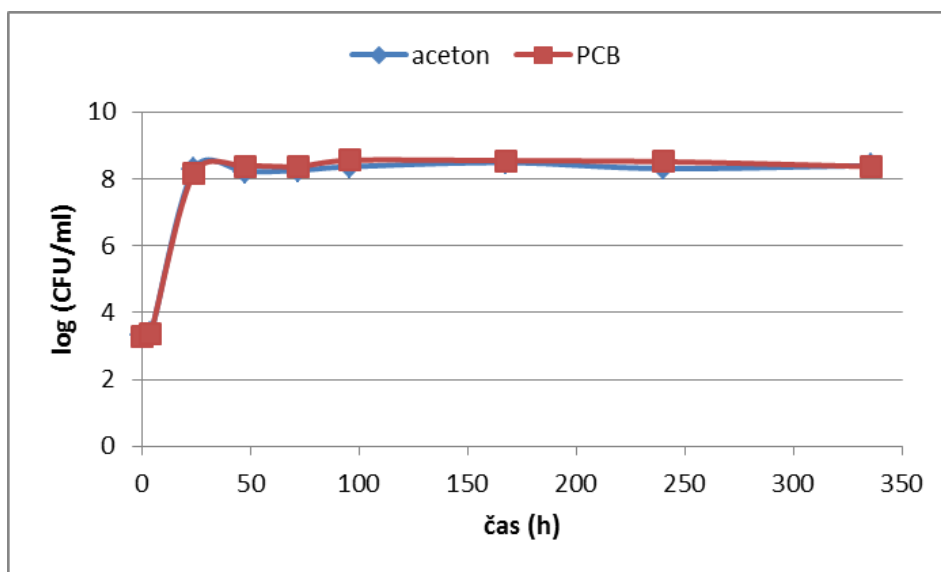
Slika 12: Rastna krivulja starterske kulture Texel DCM-1 (*S. carnosus*, *S. xylosum*) v gojišču MRS med 14-dnevno (336 ur) inkubacijo pri 30 °C z dodatkom 50 µl acetona (negativna kontrola) oz. 50 µl standardne raztopine PCB Congener Mix v acetonu

Figure 12: Growth rate of starter culture Texel DCM-1 (*S. carnosus*, *S. xylosum*) in MRS during 14 days (336 h) of incubation at 30 °C. Medium was spiked with 50 µl of acetone (negative control) or 50 µl of standard solution PCB Congener Mix in acetone



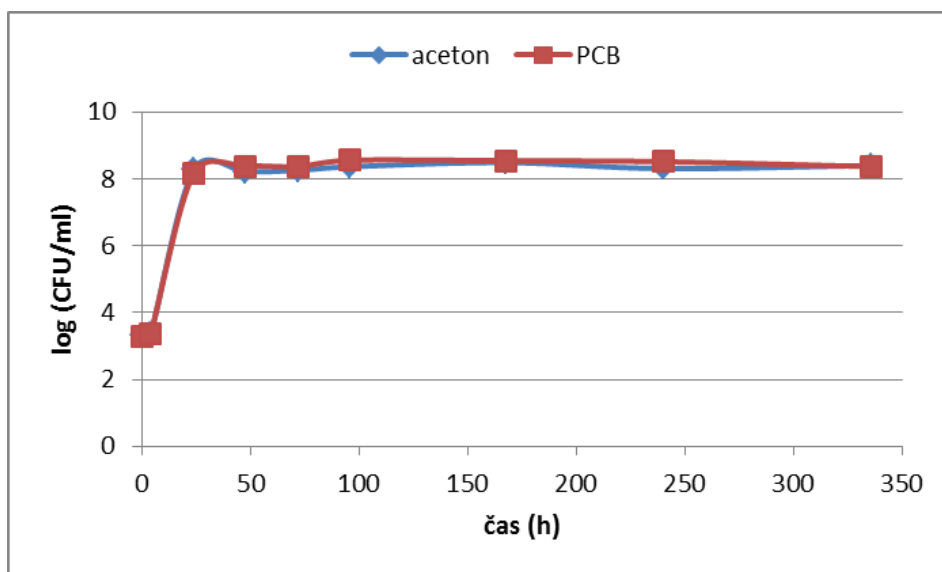
Slika 13: Rastna krivulja starterske kulture Texel DCM-1 (*S. carnosus*, *S. xylosus*) v gojišču BHI med 14-dnevno (336 ur) inkubacijo pri 30 °C z dodatkom 50 µl acetona (negativna kontrola) oz. 50 µl standardne raztopine PCB Congener Mix v acetonu

Figure 13: Growth rate of starter culture Texel DCM-1 (*S. carnosus*, *S. xylosus*) in BHI during 14 days (336 h) of incubation at 30 °C. Medium was spiked with 50 µl of acetone (negative control) or 50 µl of standard solution PCB Congener Mix in acetone



Slika 14: Rastna krivulja starterske kulture Texel LM-30 (*L. sakei*, *S. carnosus*, *S. xylosus*) v gojišču MRS med 14-dnevno (336 ur) inkubacijo pri 30 °C z dodatkom 50 µl acetona (negativna kontrola) oz. 50 µl standardne raztopine PCB Congener Mix v acetonu

Figure 14: Growth rate of starter culture Texel LM-30 (*L. sakei*, *S. carnosus*, *S. xylosus*) in MRS during 14 days (336 h) of incubation at 30 °C. Medium was spiked with 50 µl of acetone (negative control) or 50 µl of standard solution PCB Congener Mix in acetone



**Slika 15: Rastna krivulja starterske kulture Texel LM-30 (*L. sakei*, *S. carnosus*, *S. xylosus*) v gojišču BHI med 14-dnevno (336 ur) inkubacijo pri 30 °C z dodatkom 50 µl acetona (negativna kontrola) oz. 50 µl standardne raztopine PCB Congener Mix v acetonu**

**Figure 15: Growth rate of starter culture Texel LM-30 (*L. sakei*, *S. carnosus*, *S. xylosus*) in BHI during 14 days (336 h) of incubation at 30 °C. Medium was spiked with 50 µl of acetone (negative control) or 50 µl of standard solution PCB Congener Mix in acetone**

#### 4.1.2 Razgradnja PCB

Rezultati razgradnje skupnih in posameznih PCB s komercialnima starterskima kulturama Texel DCM-1 in Texel LM-30 v gojiščih BHI in MRS med 14-dnevno inkubacijo (336 ur) pri 30 °C so zbrani v preglednici 16.

**Preglednica 16: Razgradnja skupnih in posameznih PCB v tekočih gojiščih BHI in MRS s starterskima kulturama Texel DCM-1 in Texel LM-30 med 14-dnevno inkubacijo (336 ur) pri 30 °C. V gojišče smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix**

**Table 16: Degradation of total PCBs and PCB congeners by the Texel DCM-1 and Texel LM-30 starter cultures in MRS and BHI culture media during 14 days (336 h) of incubation at 30 °C. Liquid media was spiked with standard solution of PCB Congener Mix**

PCB	Inkubacija čas (h)	Vsebnost (µg/l gojišča)				p vred.	Povprečje gojišče/ starterska kultura
		BHI/DCM-1	BHI/LM-30	MRS/DCM-1	MRS/LM-30		
PCB 10	0	9,8 ±0,0 <sup>A</sup>	10,7 ±1,3 <sup>A</sup>	10,2 ±0,5 <sup>A</sup>	10,0 ±0,2 <sup>A</sup>	0,6390	10,2 ±0,7 <sup>A</sup>
	4	8,6 ±0,5 <sup>B</sup>	8,2 ±0,6 <sup>B</sup>	8,5 ±2,4 <sup>A</sup>	7,2 ±0,5 <sup>B</sup>	0,7223	8,1 ±1,1 <sup>B</sup>
	24	5,2 ±0,7 <sup>C</sup>	4,2 ±0,5 <sup>C</sup>	4,4 ±0,0 <sup>B</sup>	5,3 ±0,8 <sup>C</sup>	0,3009	4,8 ±0,7 <sup>C</sup>
	48	3,1 ±0,2 <sup>D</sup>	3,9 ±0,3 <sup>CD</sup>	3,8 ±0,7 <sup>BC</sup>	3,1 ±0,6 <sup>D</sup>	0,3147	3,5 ±0,6 <sup>D</sup>
	72	2,1 ±0,4 <sup>E</sup>	2,5 ±0,3 <sup>DE</sup>	2,6 ±0,6 <sup>BCD</sup>	2,4 ±1,0 <sup>D</sup>	0,8956	2,4 ±0,5 <sup>E</sup>
	96	1,9 ±0,3 <sup>EF</sup>	2,2 ±0,2 <sup>EF</sup>	2,2 ±0,2 <sup>CD</sup>	2,0 ±0,2 <sup>ED</sup>	0,4741	2,1 ±0,2 <sup>E</sup>
	168	1,3 ±0,1 <sup>FG</sup>	1,4 ±0,3 <sup>EF</sup>	1,6 ±0,0 <sup>D</sup>	1,1 ±0,1 <sup>E</sup>	0,0710	1,4 ±0,3 <sup>F</sup>
	240	1,1 ±0,1 <sup>aG</sup>	1,3 ±0,1 <sup>aEF</sup>	1,2 ±0,0 <sup>aD</sup>	0,8 ±0,1 <sup>bE</sup>	0,0413	1,1 ±0,2 <sup>F</sup>
	336	0,8 ±0,0 <sup>G</sup>	0,8 ±0,5 <sup>F</sup>	0,8 ±0,0 <sup>D</sup>	0,8 ±0,1 <sup>E</sup>	0,9855	0,8 ±0,2 <sup>F</sup>
	p vred.	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
PCB 28	0	9,9 ±0,1 <sup>A</sup>	10,9 ±1,6 <sup>A</sup>	10,1 ±0,5 <sup>A</sup>	9,8 ±0,1 <sup>A</sup>	0,5428	10,2 ±0,8 <sup>A</sup>
	4	8,3 ±1,0 <sup>A</sup>	8,2 ±1,6 <sup>B</sup>	8,8 ±2,2 <sup>AB</sup>	7,3 ±0,1 <sup>B</sup>	0,7909	8,1 ±1,2 <sup>B</sup>
	24	4,6 ±0,0 <sup>B</sup>	3,6 ±0,4 <sup>C</sup>	4,3 ±0,1 <sup>CD</sup>	5,1 ±0,7 <sup>C</sup>	0,0835	4,4 ±0,7 <sup>C</sup>
	48	2,6 ±0,4 <sup>BC</sup>	3,6 ±0,0 <sup>C</sup>	6,1 ±3,8 <sup>BC</sup>	3,3 ±1,4 <sup>D</sup>	0,4360	3,9 ±2,1 <sup>C</sup>
	72	3,2 ±0,2 <sup>bBC</sup>	2,2 ±0,5 <sup>bCD</sup>	8,8 ±1,9 <sup>aAB</sup>	2,1 ±0,3 <sup>bED</sup>	0,0068	4,1 ±3,0 <sup>C</sup>
	96	4,2 ±2,6 <sup>B</sup>	2,0 ±0,2 <sup>CD</sup>	5,5 ±0,5 <sup>CD</sup>	1,2 ±0,2 <sup>EF</sup>	0,0943	3,2 ±2,1 <sup>CD</sup>
	168	2,8 ±0,3 <sup>aBC</sup>	0,9 ±0,5 <sup>bd</sup>	2,5 ±0,0 <sup>aCD</sup>	0,7 ±0,2 <sup>bF</sup>	0,0052	1,7 ±1,0 <sup>DE</sup>
	240	2,5 ±1,1 <sup>BC</sup>	1,2 ±0,1 <sup>D</sup>	2,0 ±0,4 <sup>D</sup>	0,5 ±0,0 <sup>F</sup>	0,1884	1,6 ±1,0 <sup>DE</sup>
	336	1,0 ±0,3 <sup>bc</sup>	1,1 ±0,4 <sup>bd</sup>	2,9 ±0,0 <sup>aCD</sup>	0,6 ±0,1 <sup>bF</sup>	0,0034	1,4 ±1,0 <sup>E</sup>
	p vred.	0,0002	<0,0001	0,0043	<0,0001	<0,0001	<0,0001
PCB 52	0	10,1 ±0,4 <sup>A</sup>	10,7 ±1,2 <sup>A</sup>	10,1 ±0,5 <sup>A</sup>	8,8 ±1,5 <sup>A</sup>	0,3899	9,9 ±1,1 <sup>A</sup>
	4	8,8 ±0,9 <sup>A</sup>	9,0 ±1,0 <sup>AB</sup>	9,6 ±2,3 <sup>A</sup>	6,9 ±0,5 <sup>B</sup>	0,3378	8,6 ±1,5 <sup>B</sup>
	24	6,0 ±0,1 <sup>B</sup>	5,0 ±1,0 <sup>CD</sup>	6,1 ±0,1 <sup>B</sup>	4,7 ±0,6 <sup>C</sup>	0,2042	5,5 ±0,8 <sup>C</sup>
	48	4,2 ±0,5 <sup>B</sup>	6,2 ±1,8 <sup>BC</sup>	4,2 ±1,0 <sup>BC</sup>	3,2 ±0,4 <sup>D</sup>	0,1698	4,4 ±1,4 <sup>CD</sup>
	72	2,9 ±0,4 <sup>B</sup>	5,3 ±2,1 <sup>CD</sup>	2,9 ±0,2 <sup>CDE</sup>	2,5 ±0,4 <sup>EDF</sup>	0,1867	3,4 ±1,4 <sup>DE</sup>
	96	3,6 ±0,4 <sup>B</sup>	4,6 ±2,2 <sup>CD</sup>	3,2 ±0,1 <sup>CD</sup>	3,0 ±0,8 <sup>ED</sup>	0,5923	3,6 ±1,1 <sup>DE</sup>
	168	3,0 ±1,5 <sup>B</sup>	3,5 ±0,9 <sup>CD</sup>	2,2 ±0,0 <sup>CDE</sup>	1,1 ±0,3 <sup>F</sup>	0,1630	2,5 ±1,2 <sup>E</sup>
	240	3,4 ±2,2 <sup>B</sup>	2,1 ±0,1 <sup>D</sup>	1,8 ±0,1 <sup>DE</sup>	1,3 ±0,4 <sup>EF</sup>	0,5389	2,2 ±1,3 <sup>E</sup>
	336	4,5 ±2,1 <sup>B</sup>	1,6 ±0,3 <sup>D</sup>	1,0 ±0,0 <sup>E</sup>	2,2 ±0,3 <sup>EDF</sup>	0,1129	2,3 ±1,6 <sup>E</sup>
	p vred.	0,0016	0,0045	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Se nadaljuje.

**Nadaljevanje preglednice 16: Razgradnja skupnih in posameznih PCB v tekočih gojiščih BHI in MRS s starterskima kulturama Texel DCM-1 in Texel LM-30 med 14-dnevno inkubacijo (336 ur) pri 30 °C. V gojišče smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix**

**Continuation of table 16: Degradation of total PCBs and PCB congeners by the Texel DCM-1 and Texel LM-30 starter cultures in MRS and BHI culture media during 14 days (336 h) of incubation at 30 °C. Liquid media was spiked with standard solution of PCB Congener Mix**

PCB	Inkubacija čas (h)	Vsebnost (µg/l gojišča)				p vred.	Povprečje gojišče/ starterska kultura
		BHI/DCM-1	BHI/LM-30	MRS/DCM-1	MRS/LM-30		
PCB 138	0	9,5 ±0,4 <sup>A</sup>	11,0 ±1,6 <sup>A</sup>	9,9 ±0,1 <sup>A</sup>	9,5 ±0,4 <sup>A</sup>	0,4073	10,0 ±0,9 <sup>A</sup>
	4	7,9 ±0,6 <sup>B</sup>	9,6 ±1,4 <sup>A</sup>	9,8 ±1,8 <sup>A</sup>	7,5 ±0,6 <sup>B</sup>	0,2952	8,7 ±1,4 <sup>B</sup>
	24	5,4 ±0,0 <sup>C</sup>	5,4 ±0,8 <sup>B</sup>	6,1 ±0,3 <sup>B</sup>	5,9 ±0,9 <sup>C</sup>	0,6323	5,7 ±0,6 <sup>C</sup>
	48	3,7 ±0,3 <sup>CD</sup>	5,6 ±0,2 <sup>AB</sup>	4,6 ±0,0 <sup>BC</sup>	4,2 ±0,4 <sup>BCD</sup>	0,0082	4,5 ±0,8 <sup>D</sup>
	72	2,6 ±0,4 <sup>E</sup>	4,1 ±0,9 <sup>BC</sup>	3,5 ±0,0 <sup>CD</sup>	3,3 ±0,7 <sup>ED</sup>	0,2403	3,4 ±0,7 <sup>E</sup>
	96	2,5 ±0,2 <sup>EF</sup>	3,8 ±0,3 <sup>ABC</sup>	3,4 ±0,0 <sup>abcd</sup>	2,9 ±0,2 <sup>bce</sup>	0,0108	3,1 ±0,5 <sup>E</sup>
	168	1,8 ±0,1 <sup>FG</sup>	2,8 ±0,4 <sup>aC</sup>	2,6 ±0,0 <sup>aDE</sup>	1,6 ±0,1 <sup>bF</sup>	0,0121	2,2 ±0,6 <sup>F</sup>
	240	1,7 ±0,1 <sup>bG</sup>	2,5 ±0,1 <sup>aC</sup>	2,1 ±0,0 <sup>bDE</sup>	1,4 ±0,1 <sup>cF</sup>	0,0074	1,8 ±0,4 <sup>F</sup>
	336	1,5 ±0,1 <sup>G</sup>	2,1 ±0,4 <sup>C</sup>	1,3 ±0,0 <sup>E</sup>	1,1 ±0,3 <sup>F</sup>	0,0833	1,5 ±0,4 <sup>F</sup>
	p vred.	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
PCB 153	0	9,9 ±0,1 <sup>A</sup>	11,1 ±1,8 <sup>A</sup>	9,8 ±0,0 <sup>A</sup>	9,5 ±0,4 <sup>A</sup>	0,4389	10,1 ±0,9 <sup>A</sup>
	4	8,5 ±0,8 <sup>B</sup>	9,2 ±1,3 <sup>A</sup>	9,4 ±1,5 <sup>A</sup>	7,2 ±0,4 <sup>B</sup>	0,3044	8,6 ±1,2 <sup>B</sup>
	24	5,2 ±0,0 <sup>C</sup>	4,9 ±0,9 <sup>B</sup>	5,2 ±0,1 <sup>B</sup>	5,2 ±1,0 <sup>C</sup>	0,9569	5,1 ±0,5 <sup>C</sup>
	48	3,3 ±0,2 <sup>BD</sup>	4,9 ±0,3 <sup>AB</sup>	3,9 ±0,1 <sup>BC</sup>	3,5 ±0,4 <sup>BD</sup>	0,0166	3,9 ±0,7 <sup>D</sup>
	72	2,3 ±0,2 <sup>E</sup>	3,5 ±0,7 <sup>BC</sup>	2,5 ±0,2 <sup>D</sup>	2,7 ±0,6 <sup>ED</sup>	0,2155	2,7 ±0,6 <sup>E</sup>
	96	2,3 ±0,2 <sup>bce</sup>	3,1 ±0,2 <sup>abc</sup>	2,5 ±0,0 <sup>bd</sup>	2,1 ±0,0 <sup>cef</sup>	0,0092	2,5 ±0,4 <sup>E</sup>
	168	1,6 ±0,1 <sup>abF</sup>	2,1 ±0,4 <sup>aC</sup>	1,9 ±0,0 <sup>aED</sup>	1,1 ±0,0 <sup>bGF</sup>	0,0279	1,7 ±0,4 <sup>F</sup>
	240	1,5 ±0,1 <sup>aF</sup>	1,7 ±0,1 <sup>aC</sup>	1,7 ±0,0 <sup>aED</sup>	0,8 ±0,1 <sup>bG</sup>	0,0038	1,4 ±0,4 <sup>F</sup>
	336	1,4 ±0,2 <sup>aF</sup>	1,6 ±0,3 <sup>aC</sup>	1,0 ±0,0 <sup>abE</sup>	0,7 ±0,2 <sup>bG</sup>	0,0438	1,2 ±0,4 <sup>F</sup>
	p vred.	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
PCB 180	0	9,9 ±0,1 <sup>A</sup>	11,0 ±1,7 <sup>A</sup>	9,8 ±0,0 <sup>A</sup>	9,4 ±0,6 <sup>A</sup>	0,4179	10,0 ±1,0 <sup>A</sup>
	4	8,8 ±0,7 <sup>A</sup>	9,5 ±1,3 <sup>A</sup>	9,8 ±1,8 <sup>A</sup>	7,5 ±0,6 <sup>B</sup>	0,3510	8,9 ±1,3 <sup>B</sup>
	24	5,9 ±0,1 <sup>B</sup>	5,5 ±1,0 <sup>B</sup>	6,2 ±0,4 <sup>B</sup>	5,8 ±1,0 <sup>C</sup>	0,8078	5,8 ±0,6 <sup>C</sup>
	48	2,3 ±2,6 <sup>C</sup>	5,6 ±0,1 <sup>B</sup>	4,2 ±0,2 <sup>C</sup>	4,1 ±0,4 <sup>D</sup>	0,2388	4,0 ±1,6 <sup>D</sup>
	72	2,8 ±0,4 <sup>C</sup>	4,3 ±0,8 <sup>BC</sup>	3,0 ±0,0 <sup>CD</sup>	3,1 ±0,6 <sup>ED</sup>	0,1384	3,3 ±0,7 <sup>D</sup>
	96	2,5 ±0,4 <sup>bc</sup>	3,9 ±0,3 <sup>abc</sup>	3,2 ±0,2 <sup>abcd</sup>	2,9 ±0,2 <sup>bE</sup>	0,0320	3,1 ±0,6 <sup>D</sup>
	168	1,9 ±0,1 <sup>C</sup>	2,6 ±0,6 <sup>C</sup>	2,4 ±0,0 <sup>DE</sup>	1,7 ±0,2 <sup>F</sup>	0,1279	2,1 ±0,5 <sup>E</sup>
	240	1,8 ±0,1 <sup>bc</sup>	2,5 ±0,1 <sup>aC</sup>	2,0 ±0,1 <sup>bDE</sup>	1,3 ±0,2 <sup>F</sup>	0,0180	1,8 ±0,4 <sup>E</sup>
	336	1,7 ±0,1 <sup>abc</sup>	2,2 ±0,4 <sup>aC</sup>	1,1 ±0,0 <sup>bE</sup>	1,2 ±0,2 <sup>bF</sup>	0,0256	1,5 ±0,5 <sup>E</sup>
	p vred.	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Se nadaljuje.



**Nadaljevanje preglednice 16: Razgradnja skupnih in posameznih PCB v tekočih gojiščih BHI in MRS s starterskima kulturama Texel DCM-1 in Texel LM-30 med 14-dnevno inkubacijo (336 ur) pri 30 °C. V gojišče smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix**

**Continuation of table 16: Degradation of total PCBs and PCB congeners by the Texel DCM-1 and Texel LM-30 starter cultures in MRS and BHI culture media during 14 days (336 h) of incubation at 30 °C. Liquid media was spiked with standard solution of PCB Congener Mix**

PCB	Inkubacija čas (h)	Vsebnost (µg/l gojišča)				p vred.	Povprečje gojišče/ starterska kultura
		BHI/DCM-1	BHI/LM-30	MRS/DCM-1	MRS/LM-30		
skupni	0	59,1 ±0,3 <sup>A</sup>	65,4 ±9,3 <sup>A</sup>	60,0 ±1,6 <sup>A</sup>	56,9 ±2,8 <sup>A</sup>	0,4494	60,3 ±5,0 <sup>A</sup>
	4	50,8 ±4,6 <sup>B</sup>	53,7 ±7,3 <sup>A</sup>	56,0 ±12,0 <sup>A</sup>	43,6 ±2,8 <sup>B</sup>	0,4722	51,0 ±7,6 <sup>B</sup>
	24	32,2 ±0,5 <sup>C</sup>	28,6 ±4,5 <sup>B</sup>	32,3 ±0,5 <sup>B</sup>	31,9 ±5,0 <sup>C</sup>	0,6720	31,2 ±3,0 <sup>C</sup>
	48	19,2 ±4,2 <sup>D</sup>	29,8 ±2,0 <sup>B</sup>	26,8 ±2,2 <sup>BC</sup>	21,4 ±3,5 <sup>D</sup>	0,0782	24,3 ±5,1 <sup>D</sup>
	72	16,0 ±1,6 <sup>DE</sup>	21,9 ±5,3 <sup>BC</sup>	23,2 ±2,1 <sup>BC</sup>	16,2 ±3,7 <sup>ED</sup>	0,2147	19,3 ±4,4 <sup>E</sup>
	96	17,0 ±2,0 <sup>DE</sup>	19,6 ±3,0 <sup>BC</sup>	20,0 ±0,4 <sup>CD</sup>	14,0 ±1,6 <sup>E</sup>	0,1144	17,7 ±3,0 <sup>E</sup>
	168	12,4 ±2,2 <sup>aE</sup>	13,3 ±1,2 <sup>aC</sup>	13,2 ±0,0 <sup>aED</sup>	7,2 ±1,0 <sup>bF</sup>	0,0288	11,5 ±2,9 <sup>F</sup>
	240	12,1 ±0,8 <sup>aE</sup>	11,3 ±0,1 <sup>aC</sup>	10,8 ±0,4 <sup>aED</sup>	6,1 ±0,9 <sup>bF</sup>	0,0118	9,9 ±2,7 <sup>F</sup>
	336	10,9 ±3,0 <sup>E</sup>	9,4 ±0,8 <sup>C</sup>	8,1 ±0,0 <sup>E</sup>	6,6 ±0,7 <sup>F</sup>	0,7130	8,8 ±2,1 <sup>F</sup>
	p vred.	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001		<0,0001

Starterske kulture: Texel DCM-1 (*S. carnosus*, *S. xylosus*), Texel LM-30 (*L. sakei*, *S. carnosus*, *S. xylosus*)  
 Eksperimentalne skupine: BHI/DCM-1 (gojišče BHI + starterska kultura Texel DCM-1), BHI/LM-30 (gojišče BHI + starterska kultura Texel LM-30), MRS/DCM-1 (gojišče MRS + starterska kultura Texel DCM-1), MRS/LM-30 (gojišče MRS + starterska kultura Texel LM-30)

Vrednosti z različno nadpisano črko znotraj vrstice (a,b,c) se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med eksperimentalnimi skupinami). Vrednosti z različno nadpisano črko znotraj stolpca (A,B,C,D,E,F) se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med časi inkubacije)

Starter cultures: Texel DCM-1 (*S. carnosus*, *S. xylosus*), Texel LM-30 (*L. sakei*, *S. carnosus*, *S. xylosus*)

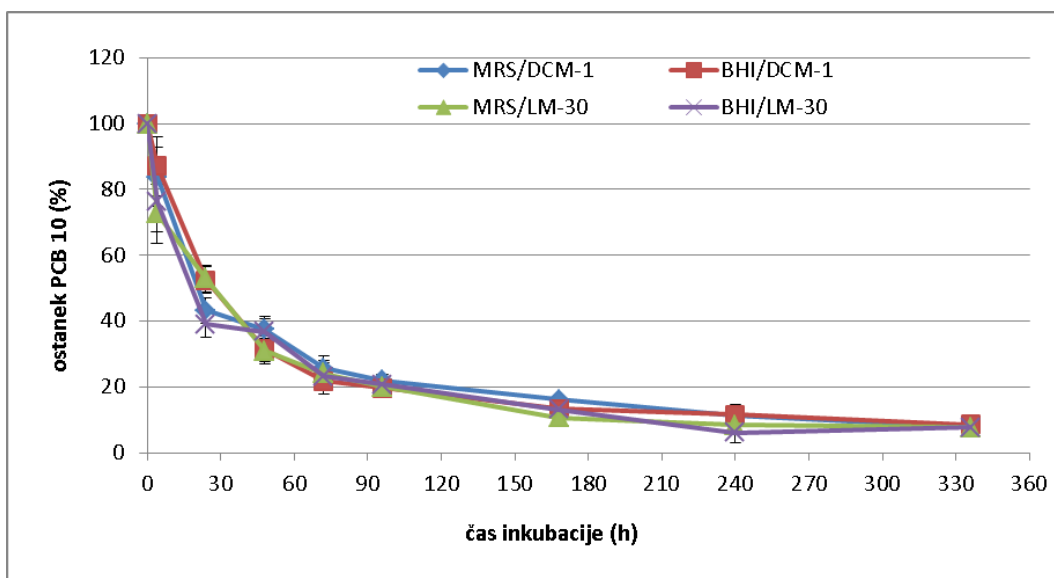
Experimental groups: BHI/DCM-1 (medium BHI + starter culture Texel DCM-1), BHI/LM-30 (medium BHI + starter culture Texel LM-30), MRS/DCM-1 (medium MRS + starter culture Texel DCM-1), MRS/LM-30 (medium MRS + starter culture Texel LM-30)

Means with different superscript letters within row (a,b,c,d) differ significantly ( $p \leq 0.05$ ; significance of differences between the experimental groups). Means with different superscript letters within column (A,B,C,D,E,F) differ significantly ( $p \leq 0.05$ ; significance of differences between the incubation times)

Dolžina inkubacije je statistično značilno vplivala na razgradnjo skupnih PCB v vseh štirih eksperimentalnih skupinah (BHI/DCM-1, BHI/LM-30, MRS/DCM-1, MRS/LM-30). Vsebnosti skupnih PCB so se na začetku inkubacije (čas 0) gibale od 56,9 µg/l v skupini MRS/LM-30 do 65,4 µg/l v skupini BHI/LM-30 (povprečno 60,3 µg/l), brez statistično značilnih razlik med posameznimi skupinami (preglednica 16). Na koncu inkubacije (po 14 dneh) je bila maksimalna razgradnja skupnih PCB dosežena v skupini MRS/LM-30 (88,4 %), sledila je skupina MRS/DCM-1 (86,5 %), nato skupina BHI/LM-30 (85,6 %) in skupina BHI/DCM-1 (81,3 %). Med skupinami ni bilo opaznih statistično značilnih razlik. V skupini MRS/LM-30 se je vsebnost PCB 28 zmanjšala z 9,8 µg/l na 0,6 µg/l (93,9 %

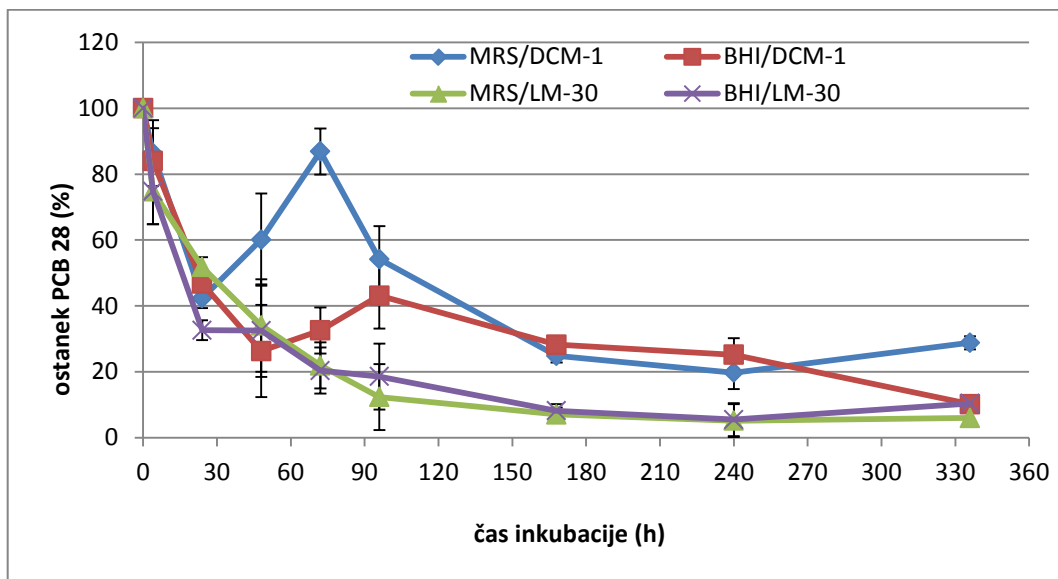
razgradnja) (slika 17), visok odstotek razgradnje je bil opazen tudi pri PCB 153 (92,6 %) (slika 20) in PCB 10 (92 %) (slika 16), najmanjši pa pri PCB 52 (75 %) (slika 18).

Po 48 urah inkubacije se je vsebnost skupnih PCB v vseh eksperimentalnih skupinah zmanjšala za več kot polovico, brez statistično značilnih razlik med skupinami. Največje zmanjšanje je bilo opazno v skupini BHI/DCM-1 (67,5 %), v skupini MRS/LM-30 se je vsebnost skupnih PCB zmanjšala za 62,4 %, sledila je skupina MRS/DCM-1 (55,3 %) ter skupina BHI/LM-30 (54,4 %) (preglednica 16). V skupini BHI/DCM-1 je potrebno med posameznimi PCB izpostaviti PCB 180 (slika 21), katerega vsebnost se je v 48 urah zmanjšala za 76,8 %, sledil je PCB 28 (73,7 %), nato PCB 10 (68,4 %) ter PCB 153 (66,7 %). Najmanjši odstotek razgradnje je v tej skupini dosegel PCB 52, vrednost se je v 48 urah iz začetnih 10,1 µg/l zmanjšala na 4,2 µg/l.



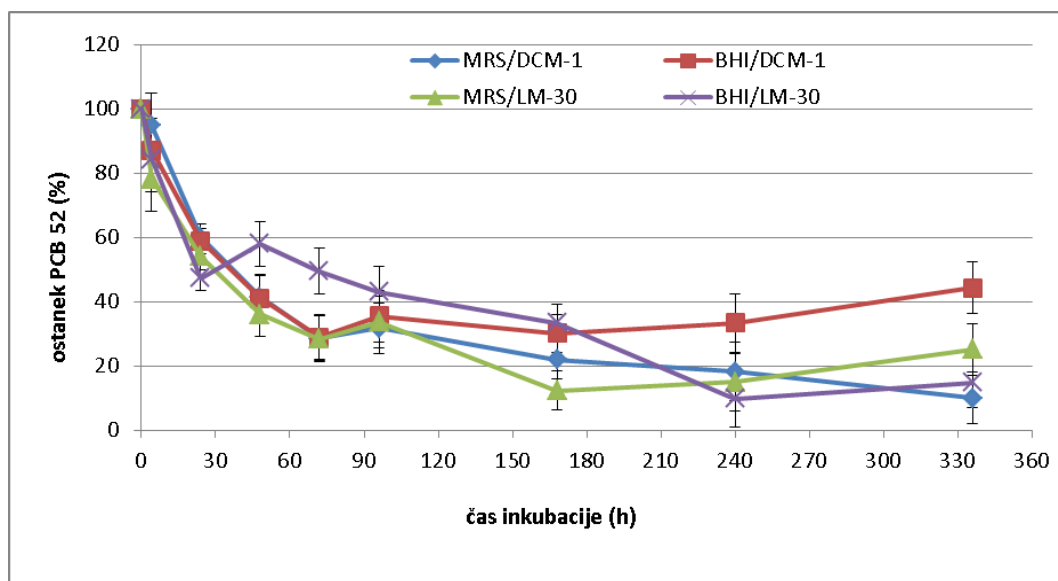
Slika 16: Razgradnja PCB 10 s starterskima kulturama Texel DCM-1 in Texel LM-30 v gojiščih MRS in BHI med 14-dnevno inkubacijo (336 ur) pri 30 °C. V gojišče smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih

Figure 16: Degradation of PCB 10 by the Texel DCM-1 and Texel LM-30 starter cultures in MRS and BHI culture media during 14 days (336 h) of incubation at 30 °C. Liquid media was spiked with standard solution of PCB Congener Mix. Results are expressed as percentages



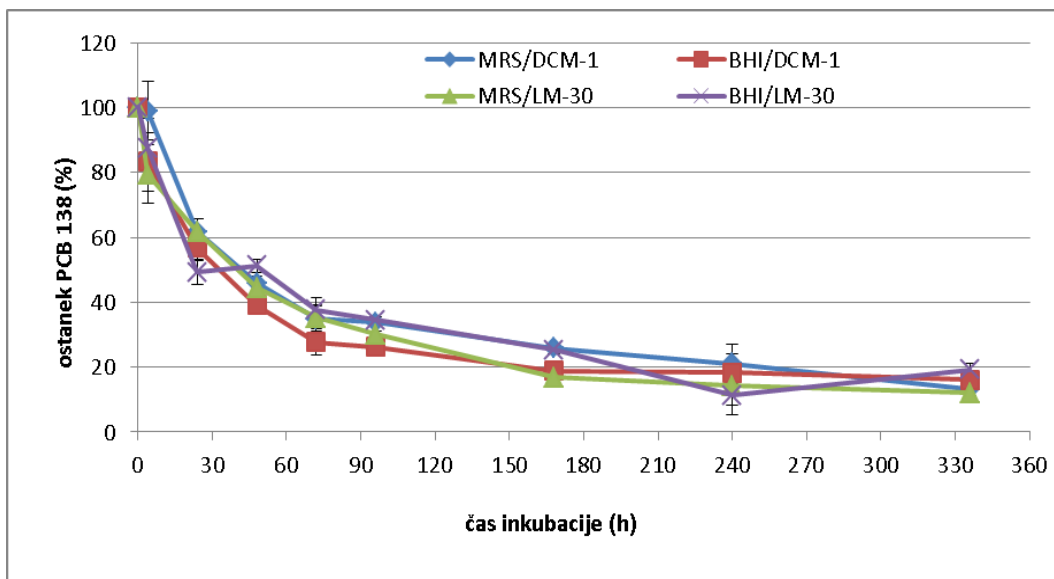
Slika 17: Razgradnja PCB 28 s starterskima kulturama Texel DCM-1 in Texel LM-30 v gojiščih MRS in BHI med 14-dnevno inkubacijo (336 ur) pri 30 °C. V gojišče smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih

Figure 17: Degradation of PCB 28 by the Texel DCM-1 and Texel LM-30 starter cultures in MRS and BHI culture media during 14 days (336 h) of incubation at 30 °C. Liquid media was spiked with standard solution of PCB Congener Mix. Results are expressed as percentages



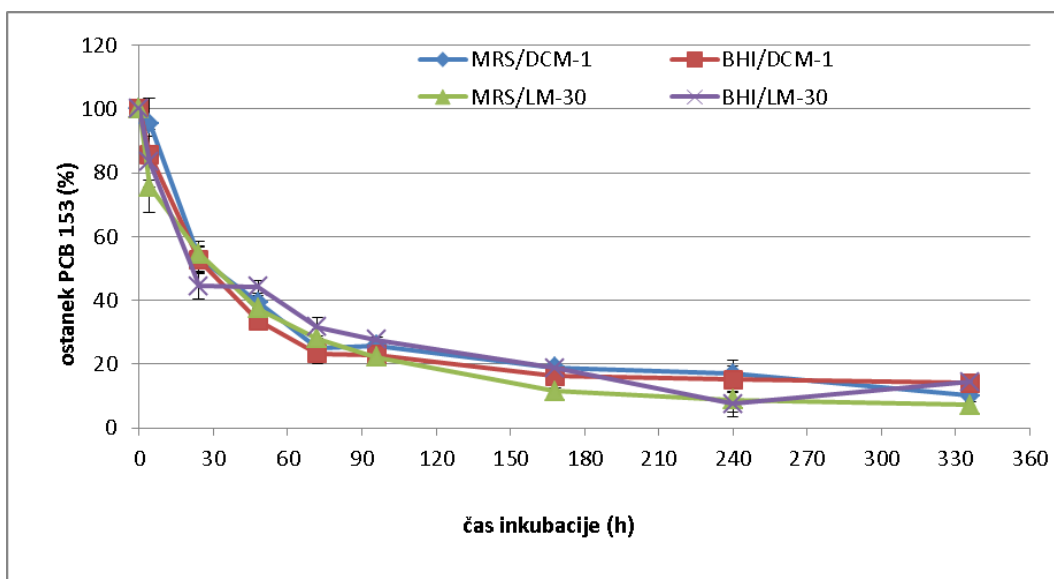
Slika 18: Razgradnja PCB 52 s starterskima kulturama Texel DCM-1 in Texel LM-30 v gojiščih MRS in BHI med 14-dnevno inkubacijo (336 ur) pri 30 °C. V gojišče smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih

Figure 18: Degradation of PCB 52 by the Texel DCM-1 and Texel LM-30 starter cultures in MRS and BHI culture media during 14 days (336 h) of incubation at 30 °C. Liquid media was spiked with standard solution of PCB Congener Mix. Results are expressed as percentages



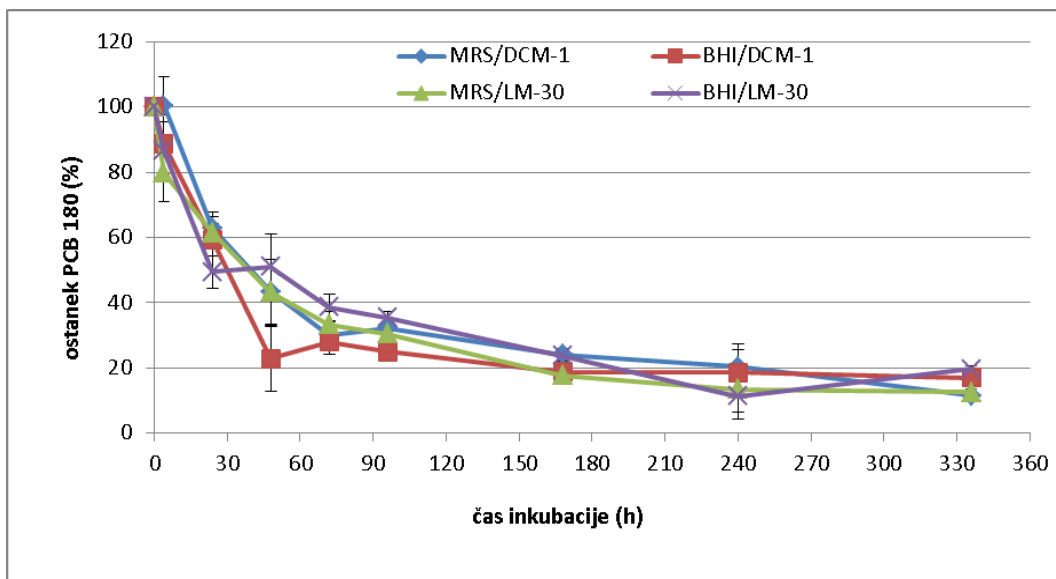
Slika 19: Razgradnja PCB 138 s starterskima kulturama Texel DCM-1 in Texel LM-30 v gojiščih MRS in BHI med 14-dnevno inkubacijo (336 ur) pri 30 °C. V gojišče smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih

Figure 19: Degradation of PCB 138 by the Texel DCM-1 and Texel LM-30 starter cultures in MRS and BHI culture media during 14 days (336 h) of incubation at 30 °C. Liquid media was spiked with standard solution of PCB Congener Mix. Results are expressed as percentages



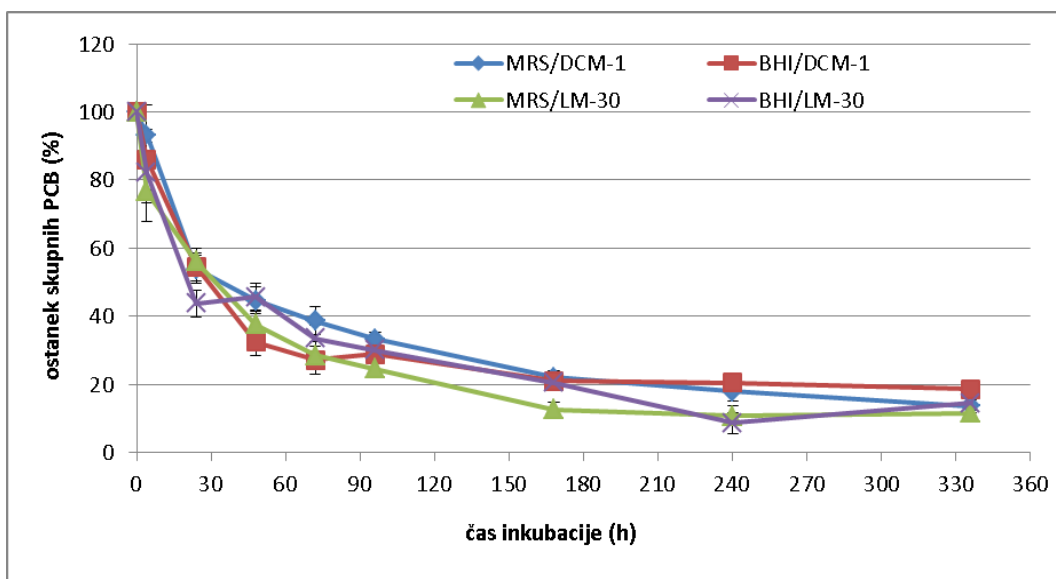
Slika 20: Razgradnja PCB 153 s starterskima kulturama Texel DCM-1 in Texel LM-30 v gojiščih MRS in BHI med 14-dnevno inkubacijo (336 ur) pri 30 °C. V gojišče smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih

Figure 20: Degradation of PCB 153 by the Texel DCM-1 and Texel LM-30 starter cultures in MRS and BHI culture media during 14 days (336 h) of incubation at 30 °C. Liquid media was spiked with standard solution of PCB Congener Mix. Results are expressed as percentages



Slika 21: Razgradnja PCB 180 s starterskima kulturama Texel DCM-1 in Texel LM-30 v gojiščih MRS in BHI med 14-dnevno inkubacijo (336 ur) pri 30 °C. V gojišče smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih

Figure 21: Degradation of PCB 180 by the Texel DCM-1 and Texel LM-30 starter cultures in MRS and BHI culture media during 14 days (336 h) of incubation at 30 °C. Liquid media was spiked with standard solution of PCB Congener Mix. Results are expressed as percentages



Slika 22: Razgradnja skupnih PCB s starterskima kulturama Texel DCM-1 in Texel LM-30 v gojiščih MRS in BHI med 14-dnevno inkubacijo (336 ur) pri 30 °C. V gojišče smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih

Figure 22: Degradation of total PCBs by the Texel DCM-1 and Texel LM-30 starter cultures in MRS and BHI culture media during 14 days (336 h) of incubation at 30 °C. Liquid media was spiked with standard solution of PCB Congener Mix. Results are expressed as percentages

Razlike med posameznimi eksperimentalnimi skupinami smo opazili po 7 in 10 dneh inkubacije. Po 7 dneh je bila razgradnja PCB statistično značilno največja v skupini MRS/LM-30. Koncentracija skupnih PCB se je z začetnih 56,9 µg/l zmanjšala na 7,2 µg/l (preglednica 16). Največje zmanjšanje smo opazili pri PCB 28 (92,9 %), PCB 138 (83,2 %) in PCB 153 (89,4 %). Po 10 dneh je bil odstotek razgradnje skupnih PCB ponovno statistično značilno največji v skupini MRS/LM-30 (89,3 %), predvsem na račun PCB 10 (92 %), PCB 138 (85,2 %) (slika 19), PCB 153 (91,6 %) in PCB 180 (86,2 %). Sledila je skupina BHI/LM-30 z 82,7 % razgradnje, nato skupina MRS/DCM-1 (82 %) in skupina BHI/DCM-1 (79,5 %).

Razgradnja skupnih PCB je v prvih 7 dneh inkubacije (168 ur) potekala eksponentno, neodvisno od vrste starterske kulture in gojišča. Opazno je bilo približno 80 % zmanjšanje skupnih PCB v vseh štirih eksperimentalnih skupinah (slika 22). Nadaljnja inkubacija na razgradnjo skupnih in posameznih PCB ni imela več značilnega vpliva. Vrednosti so v vseh eksperimentalnih skupinah ostale praktično nespremenjene ( $p \geq 0,05$ ).

## 4.2 SPREMLJANJE RAZGRADNJE PCB V MESNIH EMULZIJAH

### 4.2.1 Presna mesna emulzija

Rezultati, zbrani v preglednici 17, so pokazali, da dodatek starterske kulture Texel DCM-1 (*S. xylosus* in *S. carnosus*) in proteinskega ekstrakta v presno mesno emulzijo (inkubacija 72 ur pri 4 °C) značilno vpliva na zmanjšanje koncentracije testiranih PCB. Vsebnost skupnih PCB se je z vrednosti 207,9 ng/g (kontrola/4) zmanjšala na 176,4 ng/g v skupini +starter/4 in 194,0 ng/g v skupini +proteinski ekstrakt (slika 29). Vrednosti se med posameznimi skupinami statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ). V skupini +starter/4 je bila razgradnja skupnih PCB značilno uspešnejša (15,2 % zmanjšanje) v primerjavi s skupino +proteinski ekstrakt/4 (6,7 % zmanjšanje). V obeh omenjenih skupinah je bilo opazno značilno zmanjšanje vsebnosti PCB 138, PCB 180 in PCB 153 v primerjavi s kontrolno skupino. Vsebnost PCB 138 se je v skupini +proteinski ekstrakt/4 zmanjšala za 21 %, v skupini +starter/4 pa za 42 % (slika 26). Maksimalna razgradnja PCB 180 (21 %) je bila značilna za skupino +starter/4 (slika 28). Na razgradnjo PCB 153 je imela največji vpliv skupina +proteinski ekstrakt/4 (51,9 % zmanjšanje) (slika 27).

**Preglednica 17: Ostanek skupnih in posameznih PCB v presni (toplotno neobdelani) mesni emulziji brez ali z dodano startersko kulturo oz. proteinskim ekstraktom iz iste starterske kulture, po 72-urni inkubaciji pri 4 °C. V mesno emulzijo smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix**

**Table 17: Residues of total PCBs and PCB congeners in the raw (non-thermally treated) meat emulsion without or with addition of a starter culture or the protein extract from this starter culture, after 72 h of incubation at 4 °C. Meat emulsion was spiked with standard solution of PCB Congener Mix**

PCB	Vsebnost (ng/g maščobe)			p vred.
	kontrola/4	+starter/4	+proteinski ekstrakt/4	
PCB 10	28,3 ±2,7 <sup>b</sup>	26,3 ±1,5 <sup>b</sup>	39,8 ±3,3 <sup>a</sup>	0,0262
PCB 28	44,1 ±3,8	46,5 ±4,3	49,6 ±5,8	0,5632
PCB 52	35,6 ±1,6 <sup>b</sup>	38,4 ±0,8 <sup>ab</sup>	42,7 ±3,1 <sup>a</sup>	0,0854
PCB 138	34,2 ±0,8 <sup>a</sup>	19,8 ±0,1 <sup>c</sup>	27,0 ±0,8 <sup>b</sup>	0,0005
PCB 153	34,7 ±3,1 <sup>a</sup>	20,7 ±1,3 <sup>b</sup>	16,7 ±1,7 <sup>b</sup>	0,0072
PCB 180	31,0 ±0,9 <sup>a</sup>	24,5 ±0,0 <sup>c</sup>	18,1 ±1,7 <sup>b</sup>	0,0034
skupni	207,9 ±4,9 <sup>a</sup>	176,4 ±2,4 <sup>c</sup>	194,0 ±0,1 <sup>b</sup>	0,0048

Starterska kultura: Texel DCM-1 (*S. carnosus*, *S. xylosus*)

Eksperimentalne skupine: kontrola/4 – brez dodatka starterske kulture, +starter/4 – dodatek starterske kulture, +proteinski ekstrakt/4 – dodatek proteinskega ekstrakta iz iste starterske kulture

Vrednosti z različno nadpisano črko znotraj vrstice (<sup>a,b,c</sup>) se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med eksperimentalnimi skupinami)

Starter culture: Texel DCM-1 (*S. carnosus*, *S. xylosus*)

Experimental groups: control/4 – with no addition of a starter culture, +starter/4 – addition of a starter culture, +protein extract/4 – addition of a protein extract from this starter culture

Means with different superscript letters within row (<sup>a,b,c</sup>) differ significantly ( $p \leq 0.05$ ; significance of differences between the experimental groups)

#### 4.2.2 Toplotno obdelana mesna emulzija (središčna temperatura 78 °C)

Toplotna obdelava mesne emulzije do središčne temperature 78 °C je značilno vplivala na zmanjšanje vsebnosti testiranih PCB glede na pozitivno kontrolo (skupina kontrola/4; inkubacija 72 ur pri 4 °C). Kljub temu, da med posameznimi eksperimentalnimi skupinami (kontrola/78, +starter/78 in +proteinski ekstrakt/78) ni bilo statistično značilnih razlik ( $p = 0,0521$ ), smo največjo razgradnjo skupnih PCB opazili v skupini kontrola/78 (16,8 % zmanjšanje) (slika 29), najmanjšo pa v skupini +starter/78 (13,7 %) (preglednica 18). Statistično značilne razlike smo opazili pri primerjavi posameznih PCB s pozitivno kontrolo (kontrola/4): največja razgradnja PCB 10 se je zgodila v skupini +proteinski ekstrakt/78 (34,6 %) (slika 23), medtem ko je imela kontrolna skupina (kontrola/78) največji vpliv na razgradnjo PCB 52 (19,7 %) (slika 25) in PCB 153 (24,8 %). Skupina +starter/78 pa je bila odgovorna za razgradnjo PCB 138 (29,2 %) in PCB 180 (22,9 %). V razgradnji PCB 28 med posameznimi eksperimentalnimi skupinami nismo opazili statistično značilnih razlik (slika 24).

**Preglednica 18: Ostanek skupnih in posameznih PCB v toplotno obdelani (središčna temperatura 78 °C) mesni emulziji brez ali z dodano startersko kulturo oz. proteinskim ekstraktom iz iste starterske kulture, po 72-urni inkubaciji pri 4 °C. V mesno emulzijo smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix**

**Table 18: Residues of total PCBs and PCB congeners in the thermally treated (internal temperature of 78 °C) meat emulsion without or with addition of a starter culture or the protein extract from this starter culture, after 72 h of incubation at 4 °C. Meat emulsion was spiked with standard solution of PCB Congener Mix**

PCB	Vsebnost (ng/g maščobe)				p vred.
	kontrola/4	kontrola/78	+starter/78	+proteinski ekstrakt/78	
PCB 10	28,3 ±2,7	24,4 ±0,8	24,4 ±1,5	18,5 ±11,3	0,4940
PCB 28	44,1 ±3,8	39,3 ±6,7	39,5 ±1,3	39,1 ±9,1	0,8102
PCB 52	35,6 ±1,6 <sup>a</sup>	28,6 ±2,1 <sup>b</sup>	38,0 ±0,6 <sup>a</sup>	35,6 ±0,2 <sup>a</sup>	0,0082
PCB 138	34,2 ±0,8 <sup>a</sup>	26,3 ±0,1 <sup>c</sup>	24,2 ±0,4 <sup>c</sup>	27,0 ±0,1 <sup>b</sup>	0,0001
PCB 153	34,7 ±3,1 <sup>a</sup>	26,1 ±1,7 <sup>b</sup>	29,3 ±1,8 <sup>ab</sup>	30,7 ±2,6 <sup>ab</sup>	0,0874
PCB 180	31,0 ±0,9 <sup>a</sup>	28,4 ±1,3 <sup>ab</sup>	23,9 ±0,2 <sup>c</sup>	25,1 ±1,9 <sup>bc</sup>	0,0149
skupni	207,9 ±4,9 <sup>a</sup>	173,0 ±6,4 <sup>b</sup>	179,4 ±0,2 <sup>b</sup>	176,1 ±16,0 <sup>b</sup>	0,0521

Starterska kultura: Texel DCM-1 (*S. carnosus*, *S. xylosus*)

Eksperimentalne skupine: kontrola/4 – pozitivna kontrola, kontrola/78 – brez dodatka starterske kulture, +starter/78 – dodatek starterske kulture, +proteinski ekstrakt/78 – dodatek proteinskega ekstrakta iz iste starterske kulture

Vrednosti z različno nadpisano črko znotraj vrstice (<sup>a,b,c</sup>) se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med eksperimentalnimi skupinami)

Starter culture: Texel DCM-1 (*S. carnosus*, *S. xylosus*)

Experimental groups: control/4 – positive control, control/78 – with no addition of a starter culture, starter/78 – addition of a starter culture, +protein extract/78 – addition of a protein extract from this starter culture

Means with different superscript letters within row (<sup>a,b,c</sup>) differ significantly ( $p \leq 0.05$ ; significance of differences between the experimental groups)



### 4.2.3 Toplotno obdelana mesna emulzija (središčna temperatura 100 °C)

Toplotna obdelava do središčne temperature 100 °C je statistično značilno vplivala na razgradnjo skupnih PCB v vseh eksperimentalnih skupinah glede na pozitivno kontrolo (skupina kontrola/4; inkubacija 72 ur pri 4 °C) (slika 29). V omenjeni skupini je vsebnost skupnih PCB znašala 207,9 ng/g, v skupini kontrola/100 pa 162,5 ng/g (21,8 % zmanjšanje). Sledila je skupina +proteinski ekstrakt/100 (152,1 ng/g; 26,8 % zmanjšanje) in skupina +starter/100 z 32,8 % zmanjšanjem (139,7 ng/g) (preglednica 19). Skupina +starter/100 je bila značilno najuspešnejša v razgradnji večine posameznih PCB v primerjavi z ostalimi skupinami. Izpostaviti je potrebno predvsem PCB 180 (76,7 % zmanjšanje), velik vpliv pa je imela tudi na razgradnjo PCB 138 (34,8 %). V skupini +proteinski ekstrakt/100 smo največje zmanjšanje opazili prav tako pri PCB 180 (68,7 %), najmanjše pa pri PCB 10 (6,7 %). Največja razgradnja PCB 10 (36,8 %) je bila značilna za skupino kontrola/100 (slika 17).

**Preglednica 19: Ostanek skupnih in posameznih PCB v toplotno obdelani (središčna temperatura 100 °C) mesni emulziji brez ali z dodano startersko kulturo oz. proteinskim ekstraktom iz iste starterske kulture, po 72-urni inkubaciji pri 4 °C. V mesno emulzijo smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix**

**Table 19: Residues of total PCBs and PCB congeners in the thermally treated (internal temperature of 100 °C) meat emulsion without or with addition of a starter culture or the protein extract from this starter culture after 72 h of incubation at 4 °C. Meat emulsion was spiked with standard solution of PCB Congener Mix**

PCB	Vsebnost (ng/g maščobe)				p vred.
	kontrola/4	kontrola/100	+starter/100	+proteinski ekstrakt/100	
PCB 10	28,3 ±2,7 <sup>a</sup>	17,9 ±1,4 <sup>c</sup>	20,1 ±3,8 <sup>bc</sup>	26,4 ±1,4 <sup>ab</sup>	0,0393
PCB 28	44,1 ±3,8 <sup>a</sup>	37,2 ±2,9 <sup>ab</sup>	36,1 ±2,8 <sup>b</sup>	38,9 ±0,7 <sup>ab</sup>	0,1405
PCB 52	35,6 ±1,6 <sup>a</sup>	28,4 ±0,2 <sup>b</sup>	24,7 ±1,2 <sup>b</sup>	26,2 ±3,8 <sup>b</sup>	0,0240
PCB 138	34,2 ±0,8 <sup>a</sup>	25,5 ±0,3 <sup>b</sup>	22,3 ±1,4 <sup>c</sup>	22,8 ±0,8 <sup>c</sup>	0,0006
PCB 153	34,7 ±3,1 <sup>a</sup>	33,0 ±1,3 <sup>ab</sup>	28,2 ±0,1 <sup>b</sup>	28,1 ±1,3 <sup>b</sup>	0,0433
PCB 180	31,0 ±0,9 <sup>a</sup>	20,4 ±0,1 <sup>b</sup>	8,5 ±1,5 <sup>c</sup>	9,7 ±2,3 <sup>c</sup>	0,0003
skupni	207,9 ±4,9 <sup>a</sup>	162,5 ±2,4 <sup>b</sup>	139,7 ±7,7 <sup>c</sup>	152,1 ±1,4 <sup>bc</sup>	0,0005

Starterska kultura: Texel DCM-1 (*S. carnosus*, *S. xylosus*)

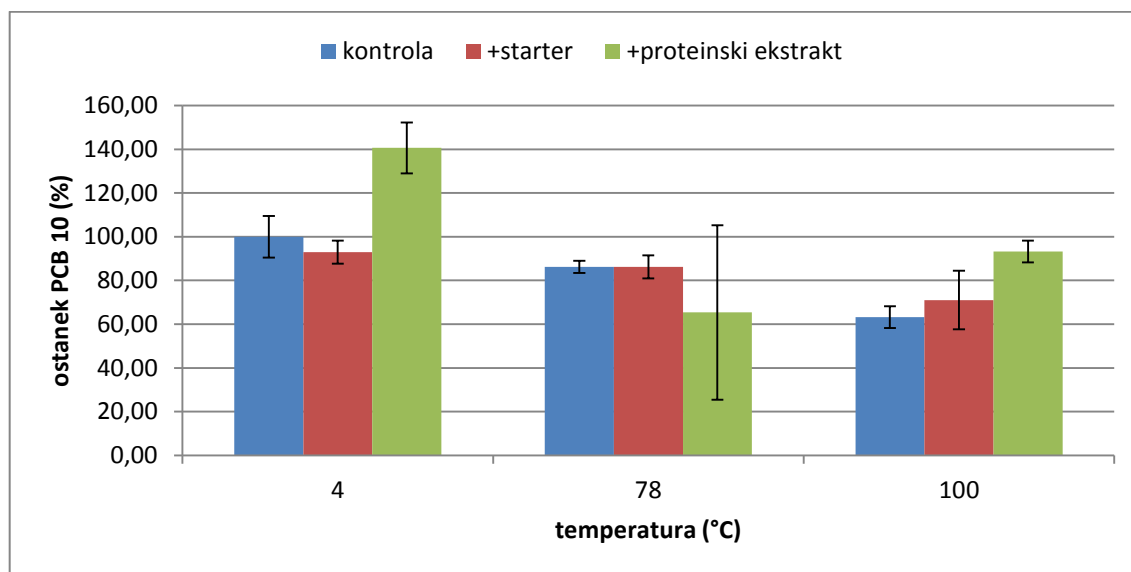
Eksperimentalne skupine: kontrola/4 – pozitivna kontrola, kontrola/100 – brez dodatka starterske kulture, +starter/100 – dodatek starterske kulture, +proteinski ekstrakt/100 – dodatek proteinskega ekstrakta iz iste starterske kulture

Vrednosti z različno nadpisano črko znotraj vrstice (<sup>a,b,c</sup>) se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med eksperimentalnimi skupinami)

Starter culture: Texel DCM-1 (*S. carnosus*, *S. xylosus*)

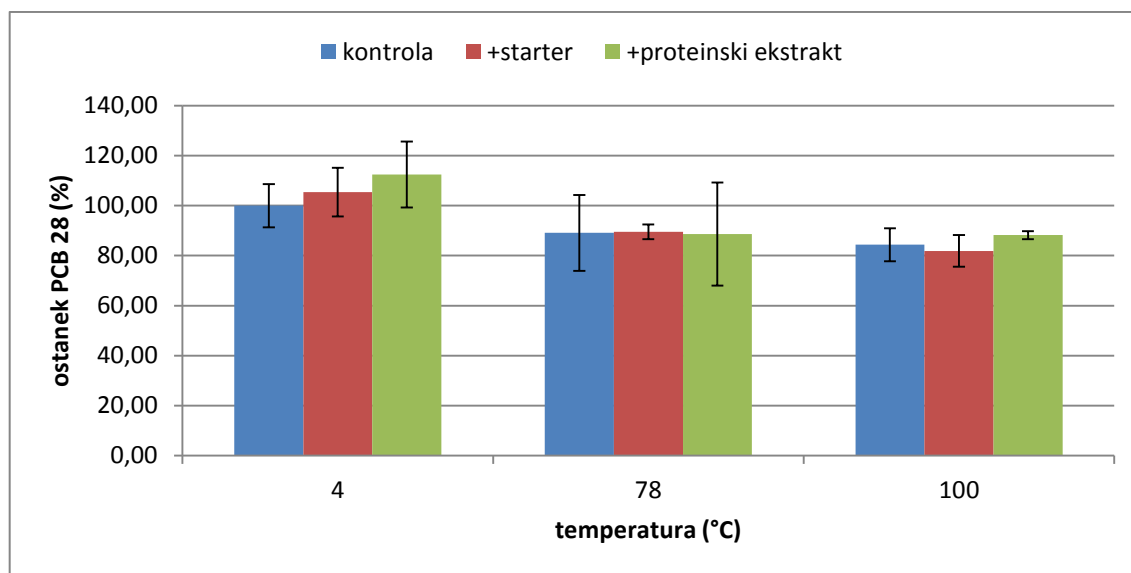
Experimental groups: control/4 – positive control, control/100 – with no addition of a starter culture, starter/100 – addition of a starter culture, +protein extract/100 – addition of a protein extract from this starter culture

Means with different superscript letters within row (<sup>a,b,c</sup>) differ significantly ( $p \leq 0.05$ ; significance of differences between the experimental groups)



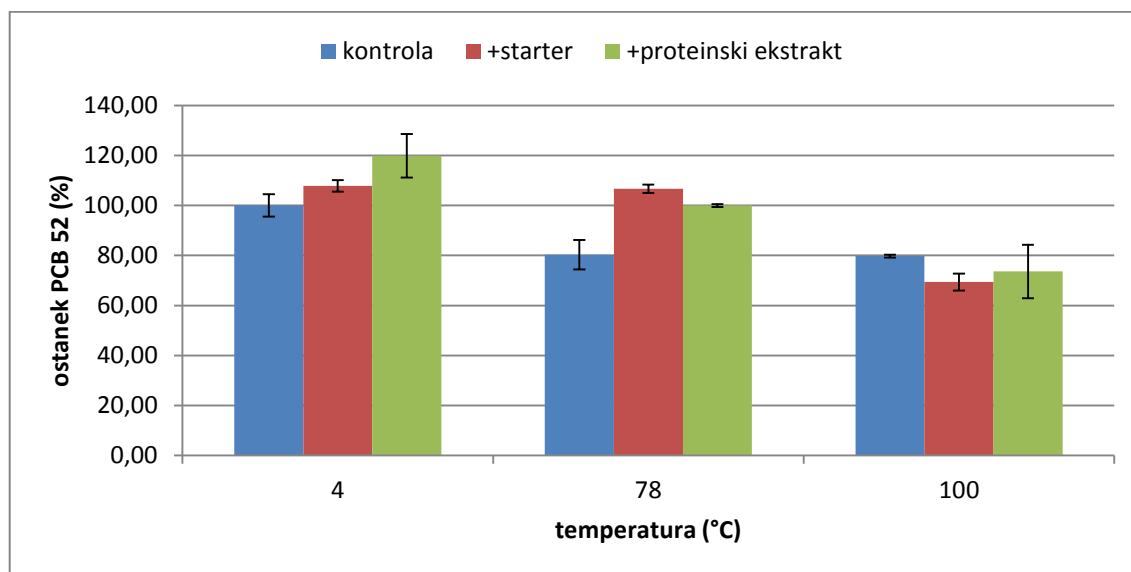
**Slika 23:** Razgradnja PCB 10 v mesni emulziji brez (kontrola) ali z dodano startersko kulturo Texel DCM-1 (+starter) oz. proteinskim ekstraktom iz iste starterske kulture (+proteinski ekstrakt), presni (4 °C) in toplotno obdelani (78 in 100 °C), po 72-urni inkubaciji pri 4 °C. V mesno emulzijo smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih

**Figure 23:** Degradation of PCB 10 in the meat emulsion without (control) or with addition of a starter culture (+starter) or the protein extract from this starter culture (+protein extract), each raw (4 °C) and thermally treated (78 and 100 °C), after 72 h of incubation at 4 °C. Meat emulsion was spiked with standard solution of PCB Congener Mix. Results are expressed as percentages



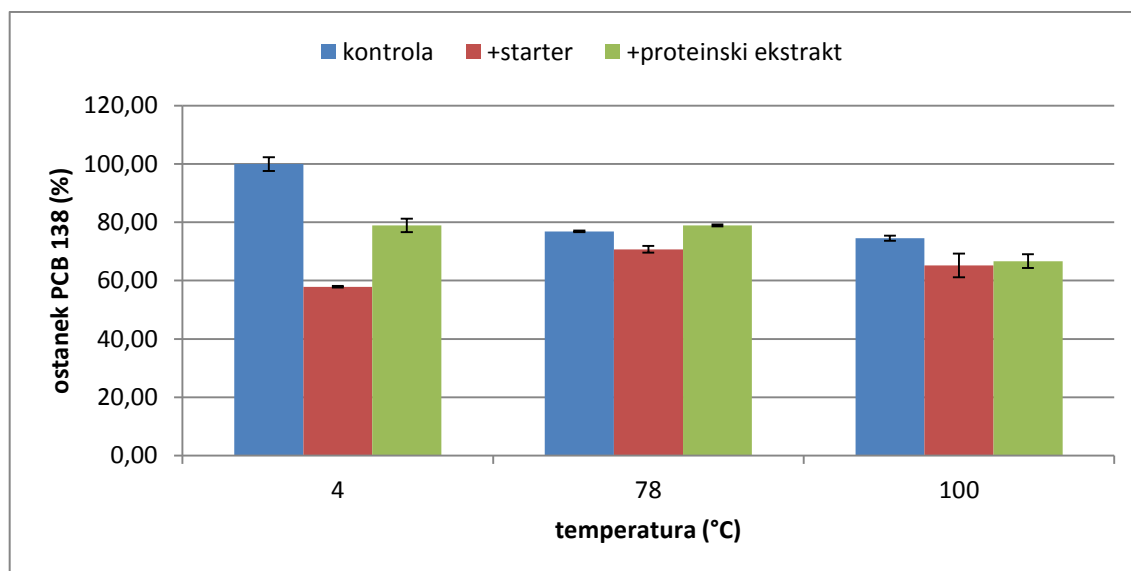
**Slika 24:** Razgradnja PCB 28 v mesni emulziji brez (kontrola) ali z dodano startersko kulturo Texel DCM-1 (+starter) oz. proteinskim ekstraktom iz iste starterske kulture (+proteinski ekstrakt), presni (4 °C) in toplotno obdelani (78 in 100 °C), po 72-urni inkubaciji pri 4 °C. V mesno emulzijo smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih

**Figure 24:** Degradation of PCB 28 in the meat emulsion without (control) or with addition of a starter culture (+starter) or the protein extract from this starter culture (+protein extract), each raw (4 °C) and thermally treated (78 and 100 °C), after 72 h of incubation at 4 °C. Meat emulsion was spiked with standard solution of PCB Congener Mix. Results are expressed as percentages



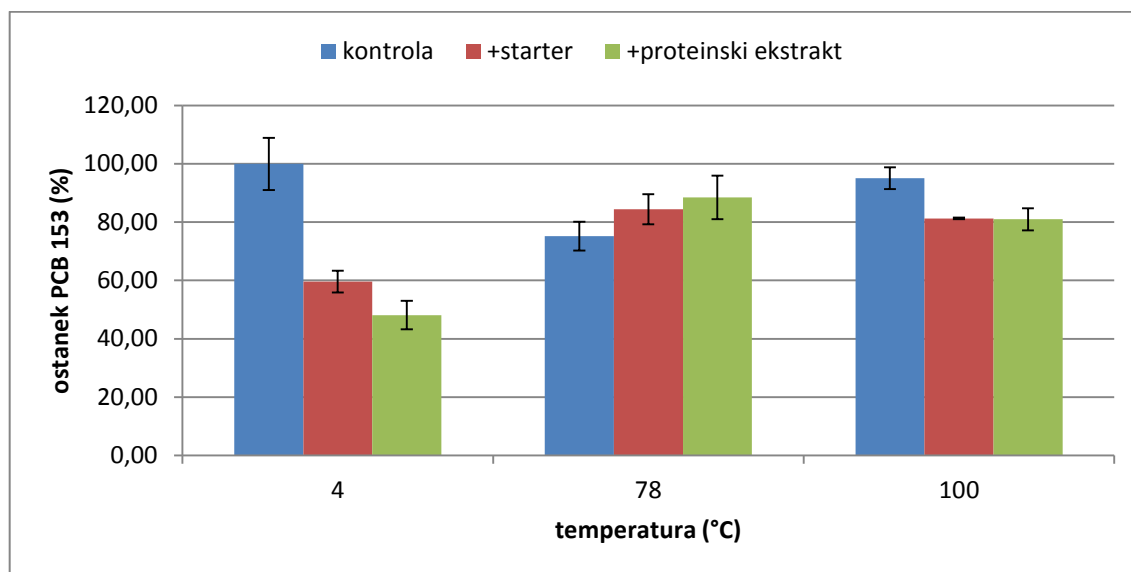
**Slika 25:** Razgradnja PCB 52 v mesni emulziji brez (kontrola) ali z dodano startersko kulturo Texel DCM-1 (+starter) oz. proteinskim ekstraktom iz iste starterske kulture (+proteinski ekstrakt), presni (4 °C) in toplotno obdelani (78 in 100 °C), po 72-urni inkubaciji pri 4 °C. V mesno emulzijo smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih

**Figure 25:** Degradation of PCB 52 in the meat emulsion without (control) or with addition of a starter culture (+starter) or the protein extract from this starter culture (+protein extract), each raw (4 °C) and thermally treated (78 and 100 °C), after 72 h of incubation at 4 °C. Meat emulsion was spiked with standard solution of PCB Congener Mix. Results are expressed as percentages



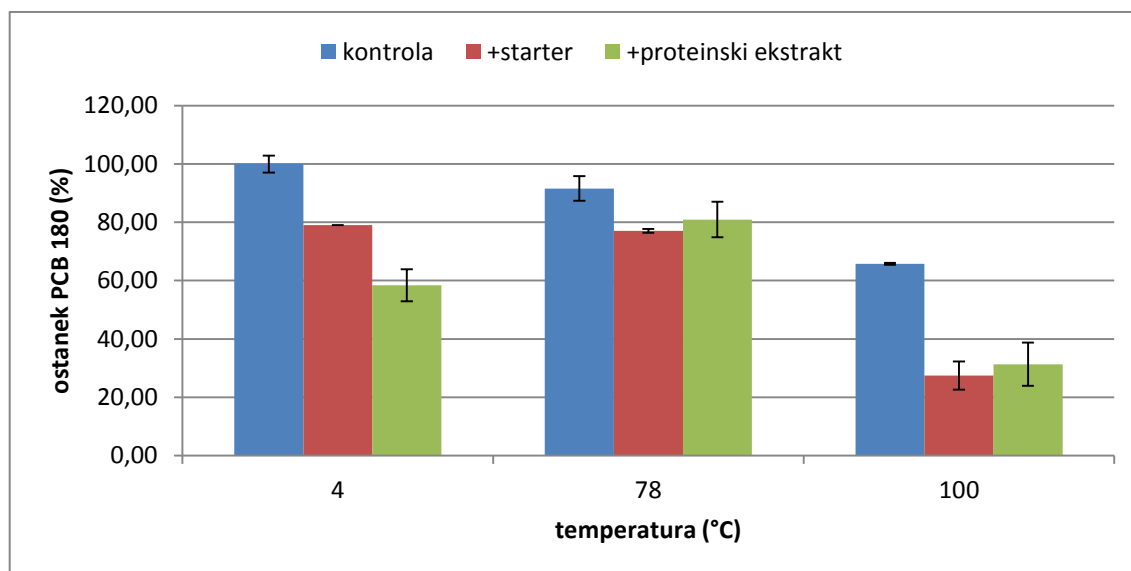
**Slika 26:** Razgradnja PCB 138 v mesni emulziji brez (kontrola) ali z dodano startersko kulturo Texel DCM-1 (+starter) oz. proteinskim ekstraktom iz iste starterske kulture (+proteinski ekstrakt), presni (4 °C) in toplotno obdelani (78 in 100 °C), po 72-urni inkubaciji pri 4 °C. V mesno emulzijo smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih

**Figure 26:** Degradation of PCB 138 in the meat emulsion without (control) or with addition of a starter culture (+starter) or the protein extract from this starter culture (+protein extract), each raw (4 °C) and thermally treated (78 and 100 °C), after 72 h of incubation at 4 °C. Meat emulsion was spiked with standard solution of PCB Congener Mix. Results are expressed as percentages



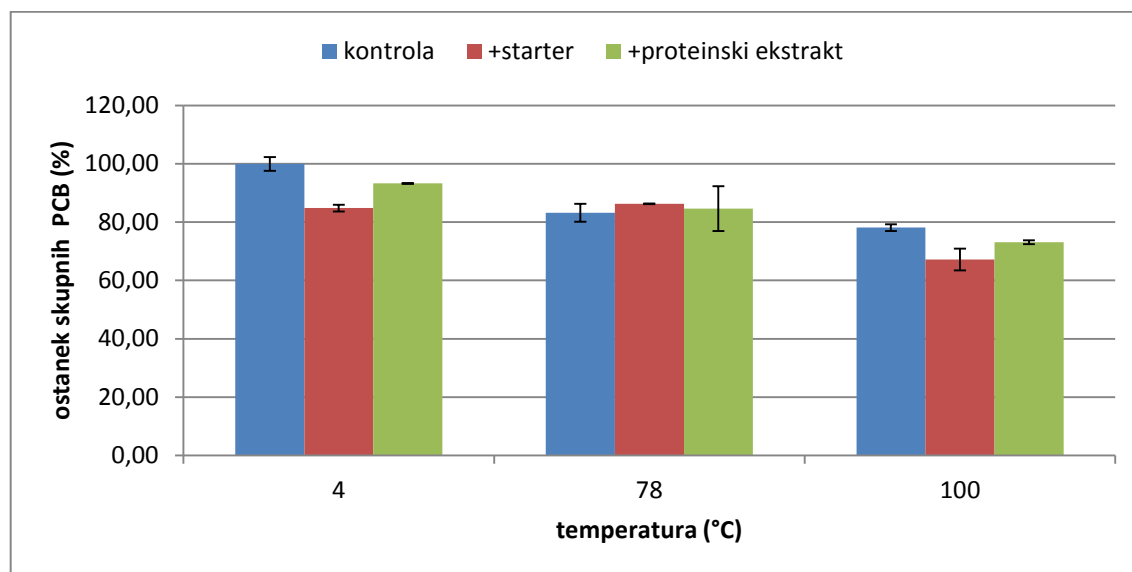
**Slika 27:** Razgradnja PCB 153 v mesni emulziji brez (kontrola) ali z dodano startersko kulturo Texel DCM-1 (+starter) oz. proteinskim ekstraktom iz iste starterske kulture (+proteinski ekstrakt), presni (4 °C) in toplotno obdelani (78 in 100 °C), po 72-urni inkubaciji pri 4 °C. V mesno emulzijo smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih

**Figure 27:** Degradation of PCB 153 in the meat emulsion without (control) or with addition of a starter culture (+starter) or the protein extract from this starter culture (+protein extract), each raw (4 °C) and thermally treated (78 and 100 °C), after 72 h of incubation at 4 °C. Meat emulsion was spiked with standard solution of PCB Congener Mix. Results are expressed as percentages



**Slika 28:** Razgradnja PCB 180 v mesni emulziji brez (kontrola) ali z dodano startersko kulturo Texel DCM-1 (+starter) oz. proteinskim ekstraktom iz iste starterske kulture (+proteinski ekstrakt), presni (4 °C) in toplotno obdelani (78 in 100 °C), po 72-urni inkubaciji pri 4 °C. V mesno emulzijo smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih

**Figure 28:** Degradation of PCB 180 in the meat emulsion without (control) or with addition of a starter culture (+starter) or the protein extract from this starter culture (+protein extract), each raw (4 °C) and thermally treated (78 and 100 °C), after 72 h of incubation at 4 °C. Meat emulsion was spiked with standard solution of PCB Congener Mix. Results are expressed as percentages



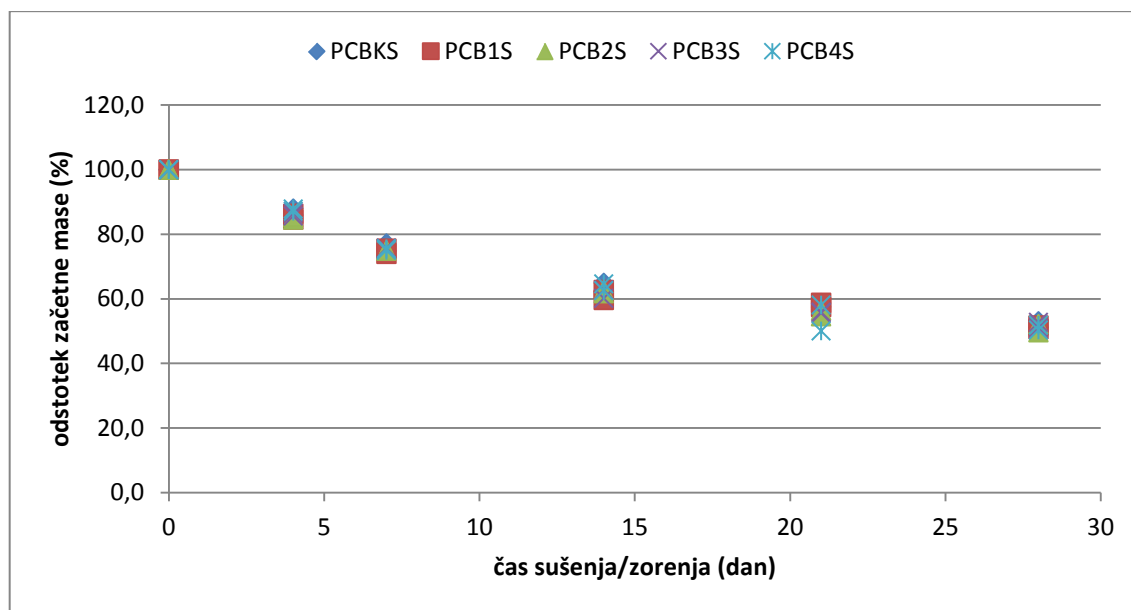
**Slika 29:** Razgradnja skupnih PCB v mesni emulziji brez (kontrola) ali z dodano startersko kulturo Texel DCM-1 (+starter) oz. proteinskim ekstraktom iz iste starterske kulture (+proteinski ekstrakt), presni (4 °C) in toplotno obdelani (78 in 100 °C), po 72-urni inkubaciji pri 4 °C. V mesno emulzijo smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih

**Figure 29:** Degradation of total PCBs in the meat emulsion without (control) or with addition of a starter culture (+starter) or the protein extract from this starter culture (+protein extract), each raw (4 °C) and thermally treated (78 and 100 °C), after 72 h of incubation at 4 °C. Meat emulsion was spiked with standard solution of PCB Congener Mix. Results are expressed as percentages

### 4.3 SPREMLJANJE RAZGRADNJE PCB V SUHIH SALAMAH

#### 4.3.1 Spremljanje procesa sušenja/zorenja salam

Tekom procesa sušenja/zorenja smo spremljali izgubo mase salam. Vzorce salam posameznih eksperimentalnih skupin (PCBKS, PCB1S, PCB2S, PCB3S in PCB4S) smo stehali pri vsakem vzorčenju (tako po polnjenju, po 4, 7, 14, 21 in 28 dneh). Iz slike 30 je razvidno, da se je masa salam enakomerno zmanjševala, v vseh skupinah enako. Po 28 dneh so se vrednosti osuška v posameznih skupinah gibale med 48 in 49,1 %.



Slika 30: Izguba mase med 28-dnevnim sušenjem/zorenjem salam brez (PCBKS – kontrola) oz. z dodanimi starterskimi kulturami (PCB1S – starterska kultura Texel DCM-1, PCB2S – starterska kultura Texel LM-30, PCB3S – starterska kultura Biostar Sprint, PCB4S – starterska kultura SM-181). V maso za salame smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih

Figure 30: Weight loss during 28 days of drying/ripening of dry fermented sausages without (PCBKS – control) or with addition of starter cultures (PCB1S – starter Texel DCM-1, PCB2S – starter Texel LM-30, PCB3S – starter Biostar Sprint, PCB4S – starter SM-181). The mass of salami was spiked with standard solution of PCB Congener Mix. Results are expressed as percentages

**Preglednica 20: Spreminjanje osnovnih kemijskih parametrov (beljakovin, maščob in vode) v suhih salamah med 28-dnevnim sušenjem/zorenjem, brez oz. z dodanimi starterskimi kulturami. V maso za salame smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix**

**Table 20: Changes in basic chemical parameters (protein, fat and water) in dry fermented sausages during 28 days of drying/ripening, without or with addition of starter cultures. The mass of salami was spiked with standard solution of PCB Congener Mix**

Lastnost	Inkubacija (dnevi)	Vsebnost (g/100 g)					p vred.
		PCBKS	PCB1S	PCB2S	PCB3S	PCB4S	
beljakovine	0	19,07 ±0,00cE	19,73 ±0,00aD	19,49 ±0,27abF	19,11 ±0,00cD	19,24 ±0,00bcE	0,0114
	4	22,45 ±0,52DE	23,14 ±0,43CD	22,84 ±0,19E	23,04 ±0,41C	22,54 ±0,06E	0,3577
	7	25,95 ±0,62D	26,46 ±0,78C	26,55 ±0,30D	26,25 ±0,21C	26,58 ±0,11D	0,6759
	14	33,04 ±0,00C	32,83 ±1,94B	32,99 ±0,39C	35,00 ±0,33B	32,45 ±1,74C	0,3516
	21	38,53 ±1,92B	34,91 ±0,86B	39,03 ±0,35B	37,92 ±0,45B	40,02 ±3,15B	0,1657
	28	48,62 ±4,62A	43,11 ±2,68A	49,19 ±1,15A	43,45 ±3,49A	48,72 ±0,74A	0,2051
	p vred.	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	
maščobe	0	14,01 ±0,00bC	13,02 ±0,00cD	12,69 ±0,04eC	14,61 ±0,00aD	12,85 ±0,00dC	<0,0001
	4	14,90 ±0,78C	14,26 ±0,12C	14,23 ±0,21B	14,03 ±0,08D	14,99 ±0,21CB	0,1643
	7	16,76 ±0,06AB	16,90 ±0,07B	16,37 ±0,71A	17,17 ±0,79C	16,92 ±0,15AB	0,6019
	14	17,36 ±0,00A	18,72 ±0,18A	17,05 ±0,62A	18,39 ±0,89CB	18,28 ±0,26A	0,0808
	21	17,85 ±0,23A	18,29 ±0,54A	16,32 ±0,49A	19,08 ±0,04AB	17,26 ±2,02AB	0,1905
	28	15,25 ±1,51cCB	18,25 ±0,52abA	17,05 ±0,08bcA	20,25 ±0,28aA	19,10 ±1,36abA	0,0197
	p vred.	0,0082	<0,0001	0,0003	<0,0001	0,0065	
voda	0	63,04 ±0,00eA	63,62 ±0,00bA	64,17 ±0,04aA	63,43 ±0,00dA	63,53 ±0,00cA	<0,0001
	4	57,76 ±0,35cB	57,96 ±0,04bcB	57,84 ±0,59bcB	59,07 ±0,04aB	58,62 ±0,16abB	0,0010
	7	52,76 ±0,07C	52,72 ±1,53C	52,21 ±0,21C	53,08 ±0,24C	52,37 ±0,33C	0,7653
	14	39,74 ±0,00D	38,32 ±3,01D	40,55 ±1,29D	35,29 ±1,12D	40,79 ±1,96D	0,1161
	21	31,74 ±2,22E	34,47 ±0,57E	32,06 ±0,79E	30,13 ±0,39E	31,31 ±2,67E	0,2444
	28	25,58 ±1,23F	27,49 ±1,52F	24,48 ±0,32F	24,81 ±1,30F	23,17 ±0,40F	0,0683
	p vred.	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	

Starterske kulture: Texel DCM-1 (*S. carnosus*, *S. xylosus*), Texel LM-30 (*L. sakei*, *S. carnosus*, *S. xylosus*), Biostar Sprint (*L. sakei*, *S. carnosus*, *S. xylosus*), SM-181 (*L. sakei* HJ-7, *S. xylosus* DD-34)

Eksperimentalne skupine: PCBKS – kontrola (brez dodane starterske kulture), PCB1S – starterska kultura Texel DCM-1), PCB2S – starterska kultura Texel LM-30, PCB3S – starterska kultura Biostar Sprint, PCB4S – starterska kultura SM-181

Vrednosti z različno nadpisano črko znotraj vrstice (<sup>a,b,c,d</sup>) se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med eksperimentalnimi skupinami). Vrednosti z različno nadpisano črko znotraj stolpca (<sup>A,B,C,D,E,F</sup>) se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med časi sušenja/zorenja)

Starter cultures: Texel DCM-1 (*S. carnosus*, *S. xylosus*), Texel LM-30 (*L. sakei*, *S. carnosus*, *S. xylosus*), Biostar Sprint (*L. sakei*, *S. carnosus*, *S. xylosus*), SM-181 (*L. sakei* HJ-7, *S. xylosus* DD-34)

Experimental groups: PCBKS – control (with no addition of a starter culture), PCB1S – starter culture Texel DCM-1, PCB2S – starter culture Texel LM-30, PCB3S – starter culture Biostar Sprint, PCB4S – starter culture SM-181

Means with different superscript letters within row (<sup>a,b,c,d</sup>) differ significantly ( $p \leq 0.05$ ; significance of differences between the experimental groups). Means with different superscript letters within column (<sup>A,B,C,D,E,F</sup>) differ significantly ( $p \leq 0.05$ ; significance of differences between the drying/ripening times)

Med sušenjem/zorenjem salam smo v vseh eksperimentalnih skupinah (PCBKS, PCB1S, PCB2S, PCB3S, PCB4S) določili osnovne kemijske parametre (preglednica 20). Povprečna vsebnost vode se je po 28 dneh značilno zmanjšala za 60,5 %, z začetne vrednosti 63,56 g/100 g na končno vrednost 25,10 g/100 g. Med posameznimi skupinami nismo opazili statistično značilnih razlik. Z zmanjšanjem vsebnosti vode je posledično prišlo do povečanja vsebnosti beljakovin in maščob. Po 28 dneh je povprečna vsebnost beljakovin znašala 46,62 g/100 g (141,2 % povečanje). Povprečna vsebnost maščob pa se je z začetnih 13,44 g/100 g povečala na 17,98 g/100 g.



### 4.3.2 Vsebnosti PCB v suhih salamah

Vsebnosti testiranih PCB v suhih salamah z različnimi komercialnimi starterskimi kulturami med 28-dnevnim procesom sušenja/zorenja so zbrani v preglednici 21. Podatki prikazujejo navidezno naraščanje vsebnosti posameznih in skupnih PCB v salamah z dnevi sušenja/zorenja. V procesu sušenja/zorenja prihaja do izhajanja vode, posledično se masa salam zmanjšuje.

**Preglednica 21: Vsebnost skupnih in posameznih PCB ( $\mu\text{g}/\text{kg}$  salame) v suhih salamah med 28-dnevnim sušenjem/zorenjem, brez oz. z dodanimi starterskimi kulturami. V maso za salame smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix**

**Table 21: Levels of the total PCBs and PCB congeners ( $\mu\text{g}/\text{kg}$  sausage) in dry fermented sausages during 28 days of drying/ripening, without or with addition of starter cultures. The mass of salami was spiked with standard solution of PCB Congener Mix**

PCB	Čas inkubacije (dnevi)	Vsebnost ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ salame)					<i>p</i> vred.
		PCBK5	PCB15	PCB25	PCB35	PCB45	
PCB 10	0	9,2 $\pm$ 0,3F	8,8 $\pm$ 0,7D	9,4 $\pm$ 0,4E	8,4 $\pm$ 0,0C	8,9 $\pm$ 0,3D	0,2710
	4	13,1 $\pm$ 0,1aE	9,9 $\pm$ 0,1bD	12,3 $\pm$ 0,3aD	9,3 $\pm$ 0,8bC	9,0 $\pm$ 0,7bD	0,0010
	7	23,6 $\pm$ 0,1aC	11,4 $\pm$ 0,1cC	20,6 $\pm$ 0,8bB	11,5 $\pm$ 0,2cB	7,2 $\pm$ 0,2dE	<0,0001
	14	20,8 $\pm$ 0,3aD	16,9 $\pm$ 0,7bB	21,2 $\pm$ 0,0aAB	13,6 $\pm$ 1,0cA	10,3 $\pm$ 0,0dC	<0,0001
	21	26,0 $\pm$ 0,7aB	22,5 $\pm$ 1,0bA	22,3 $\pm$ 0,6bA	12,6 $\pm$ 0,6cAB	11,5 $\pm$ 0,2cB	<0,0001
	28	28,2 $\pm$ 1,4aA	22,3 $\pm$ 0,3bA	19,2 $\pm$ 0,1cC	-	12,9 $\pm$ 0,2dA	0,0001
	<i>p</i> vred.	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0018	<0,0001	
PCB 28	0	9,2 $\pm$ 0,3E	8,8 $\pm$ 0,7E	9,4 $\pm$ 0,4C	8,4 $\pm$ 0,0B	8,9 $\pm$ 0,3D	0,2710
	4	10,2 $\pm$ 0,1bcD	11,3 $\pm$ 0,1abD	9,0 $\pm$ 0,2cC	9,2 $\pm$ 0,8cB	11,6 $\pm$ 0,9aC	0,0125
	7	15,7 $\pm$ 0,0aB	11,7 $\pm$ 0,1cD	14,4 $\pm$ 0,6bA	11,2 $\pm$ 0,2cA	8,3 $\pm$ 0,2dD	<0,0001
	14	12,7 $\pm$ 0,2bC	15,1 $\pm$ 0,6aC	15,0 $\pm$ 0,0aA	12,0 $\pm$ 0,9bA	12,6 $\pm$ 0,0bB	0,0038
	21	15,3 $\pm$ 0,4bB	20,2 $\pm$ 0,9aA	15,0 $\pm$ 0,4bcA	11,5 $\pm$ 0,5dA	13,7 $\pm$ 0,3cA	0,0002
	28	17,5 $\pm$ 0,8aA	17,3 $\pm$ 0,2a B	13,5 $\pm$ 0,1bB	-	14,5 $\pm$ 0,3bA	0,0022
	<i>p</i> vred.	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0061	<0,0001	
PCB 52	0	9,2 $\pm$ 0,3C	8,8 $\pm$ 0,7C	9,4 $\pm$ 0,4C	8,4 $\pm$ 0,0	8,9 $\pm$ 0,3C	0,2710
	4	8,9 $\pm$ 0,0bC	8,5 $\pm$ 0,1bC	8,1 $\pm$ 0,2bD	8,3 $\pm$ 0,7b	10,8 $\pm$ 0,8aB	0,0118
	7	15,8 $\pm$ 0,0aA	8,8 $\pm$ 0,1cC	13,2 $\pm$ 0,5bA	9,1 $\pm$ 0,2c	7,0 $\pm$ 0,2dD	<0,0001
	14	14,0 $\pm$ 0,2aB	10,3 $\pm$ 0,4bB	13,9 $\pm$ 0,0aA	9,0 $\pm$ 0,7c	11,1 $\pm$ 0,0bB	0,0001
	21	13,8 $\pm$ 0,4abB	14,6 $\pm$ 0,7aA	13,2 $\pm$ 0,3bA	8,1 $\pm$ 0,4d	11,6 $\pm$ 0,2cB	0,0001
	28	16,1 $\pm$ 0,8aA	11,2 $\pm$ 0,1cB	11,7 $\pm$ 0,1bcB	-	12,7 $\pm$ 0,2bA	0,0010
	<i>p</i> vred.	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,2730	<0,0001	
PCB 138	0	9,2 $\pm$ 0,3D	8,8 $\pm$ 0,7E	9,4 $\pm$ 0,4E	8,4 $\pm$ 0,0B	8,9 $\pm$ 0,3C	0,2710
	4	7,3 $\pm$ 0,0dE	12,2 $\pm$ 0,1aC	8,8 $\pm$ 0,2cE	10,0 $\pm$ 0,8bcB	11,2 $\pm$ 0,8abB	0,0015
	7	14,0 $\pm$ 0,0aB	10,4 $\pm$ 0,1bD	10,6 $\pm$ 0,4bD	9,2 $\pm$ 0,2cB	7,5 $\pm$ 0,2dD	<0,0001
	14	12,7 $\pm$ 0,2abcC	12,5 $\pm$ 0,5bcC	13,8 $\pm$ 0,0aA	11,6 $\pm$ 0,8cA	13,0 $\pm$ 0,0abA	0,0365
	21	14,5 $\pm$ 0,4bB	17,6 $\pm$ 0,8aA	12,0 $\pm$ 0,3cC	9,5 $\pm$ 0,4dB	11,0 $\pm$ 0,2cB	<0,0001
	28	16,5 $\pm$ 0,8aA	13,9 $\pm$ 0,2bB	13,1 $\pm$ 0,1bB	-	12,7 $\pm$ 0,2bA	0,0028
	<i>p</i> vred.	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0179	<0,0001	

Se nadaljuje.

**Nadaljevanje preglednice 21: Vsebnost skupnih in posameznih PCB ( $\mu\text{g/kg}$  salame) v suhih salamah med 28-dnevnim sušenjem/zorenjem, brez oz. z dodanimi starterskimi kulturami. V maso za salame smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix**

**Continuation of table 21: Levels of the total PCBs and PCB congeners ( $\mu\text{g/kg}$  sausage) in dry fermented sausages during 28 days of drying/ripening, without or with addition of starter cultures. The mass of salami was spiked with standard solution of PCB Congener Mix**

PCB	Čas inkubacije (dnevi)	Vsebnost ( $\mu\text{g/kg}$ salame)					p vred.
		PCBKS	PCB1S	PCB2S	PCB3S	PCB4S	
PCB 153	0	9,2 $\pm$ 0,3D	8,8 $\pm$ 0,7E	9,4 $\pm$ 0,4C	8,4 $\pm$ 0,0C	8,9 $\pm$ 0,3C	0,2710
	4	7,7 $\pm$ 0,0cE	12,2 $\pm$ 0,1aC	9,2 $\pm$ 0,2bC	8,8 $\pm$ 0,7bcCB	11,8 $\pm$ 0,9aB	0,0012
	7	12,8 $\pm$ 0,0bB	10,9 $\pm$ 0,1cD	13,6 $\pm$ 0,5aB	10,0 $\pm$ 0,2dAB	8,4 $\pm$ 0,2eC	<0,0001
	14	10,5 $\pm$ 0,2cC	13,3 $\pm$ 0,6bC	14,7 $\pm$ 0,0aA	10,1 $\pm$ 0,7cAB	13,5 $\pm$ 0,0bA	0,0004
	21	10,0 $\pm$ 0,3dC	17,4 $\pm$ 0,8aA	14,5 $\pm$ 0,4bA	10,3 $\pm$ 0,5dA	11,6 $\pm$ 0,2cB	<0,0001
	28	14,4 $\pm$ 0,7A	14,7 $\pm$ 0,2B	14,5 $\pm$ 0,1A	-	13,7 $\pm$ 0,3A	0,2078
	p vred.	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0482	<0,0001	
PCB 180	0	9,2 $\pm$ 0,3D	8,8 $\pm$ 0,7E	9,4 $\pm$ 0,4E	8,4 $\pm$ 0,0AB	8,9 $\pm$ 0,3C	0,2710
	4	8,9 $\pm$ 0,0cD	13,4 $\pm$ 0,1aD	11,9 $\pm$ 0,3bD	6,3 $\pm$ 0,5dC	11,2 $\pm$ 0,8bB	0,0001
	7	11,8 $\pm$ 0,0cA	13,8 $\pm$ 0,1bD	15,2 $\pm$ 0,6aB	9,1 $\pm$ 0,2dA	8,5 $\pm$ 0,2dC	<0,0001
	14	10,2 $\pm$ 0,1dC	15,2 $\pm$ 0,6bC	17,2 $\pm$ 0,0aA	8,1 $\pm$ 0,6eAB	12,0 $\pm$ 0,0cAB	<0,0001
	21	11,1 $\pm$ 0,3cB	18,0 $\pm$ 0,8aA	13,6 $\pm$ 0,4bC	7,7 $\pm$ 0,3dB	11,8 $\pm$ 0,2cAB	<0,0001
	28	10,0 $\pm$ 0,5cC	16,5 $\pm$ 0,2aB	16,6 $\pm$ 0,1aA	-	12,7 $\pm$ 0,2bA	<0,0001
	p vred.	0,0003	<0,0001	<0,0001	0,0060	0,0002	
skupni	0	55,0 $\pm$ 1,9D	52,9 $\pm$ 4,0E	56,6 $\pm$ 2,4C	50,7 $\pm$ 0,3C	53,3 $\pm$ 1,8D	0,2710
	4	56,2 $\pm$ 0,3cD	67,4 $\pm$ 0,4aD	59,3 $\pm$ 1,3bcC	51,8 $\pm$ 4,3cCB	65,6 $\pm$ 4,8abC	0,0146
	7	93,7 $\pm$ 0,3aB	67,1 $\pm$ 0,5cD	87,7 $\pm$ 3,3bB	60,1 $\pm$ 1,3dAB	46,9 $\pm$ 1,2eE	<0,0001
	14	80,8 $\pm$ 1,2bC	83,3 $\pm$ 3,6bC	95,8 $\pm$ 0,1aA	64,4 $\pm$ 4,7dA	72,6 $\pm$ 0,1cB	0,0006
	21	90,8 $\pm$ 2,5bB	110,1 $\pm$ 5,1aA	90,6 $\pm$ 2,4bB	59,7 $\pm$ 2,7dAB	71,2 $\pm$ 1,4cBC	<0,0001
	28	102,7 $\pm$ 4,9aA	95,9 $\pm$ 1,3aB	88,5 $\pm$ 0,5bB	-	79,2 $\pm$ 1,5cA	0,0037
	p vred.	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0282	<0,0001	

Starterske kulture: Texel DCM-1 (*S. carnosus*, *S. xylosus*), Texel LM-30 (*L. sakei*, *S. carnosus*, *S. xylosus*), Biostar Sprint (*L. sakei*, *S. carnosus*, *S. xylosus*), SM-181 (*L. sakei* HJ-7, *S. xylosus* DD-34)

Eksperimentalne skupine: PCBKS – kontrola (brez dodane starterske kulture), PCB1S – starterska kultura Texel DCM-1), PCB2S – starterska kultura Texel LM-30, PCB3S – starterska kultura Biostar Sprint, PCB4S – starterska kultura SM-181

Vrednosti z različno nadpisano črko znotraj vrstice (<sup>a,b,c,d</sup>) se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med eksperimentalnimi skupinami). Vrednosti z različno nadpisano črko znotraj stolpca (<sup>A,B,C,D,E,F</sup>) se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med časi sušenja/zorenja)

Starter cultures: Texel DCM-1 (*S. carnosus*, *S. xylosus*), Texel LM-30 (*L. sakei*, *S. carnosus*, *S. xylosus*), Biostar Sprint (*L. sakei*, *S. carnosus*, *S. xylosus*), SM-181 (*L. sakei* HJ-7, *S. xylosus* DD-34)

Experimental groups: PCBKS – control (with no addition of a starter culture), PCB1S – starter culture Texel DCM-1, PCB2S – starter culture Texel LM-30, PCB3S – starter culture Biostar Sprint, PCB4S – starter culture SM-181

Means with different superscript letters within row (<sup>a,b,c,d</sup>) differ significantly ( $p \leq 0.05$ ; significance of differences between the experimental groups). Means with different superscript letters within column (<sup>A,B,C,D,E,F</sup>) differ significantly ( $p \leq 0.05$ ; significance of differences between the drying/ripening times)

Proces sušenja/zorenja je značilno vplival na vsebnost testiranih PCB v vseh petih eksperimentalnih skupinah (PCBKS, PCB1S, PCB2S, PCB3S in PCB4S). Z naraščanjem časa sušenja/zorenja se je vsebnost testiranih PCB statistično značilno večala (preglednica 21). Vsebnost skupnih PCB je bila po 28 dneh največja v kontrolni skupini (PCBKS), iz začetne vrednosti 55 µg/kg je narasla na 102,7 µg/kg (86,7 % povečanje), sledila je skupina PCB1S z 81,3 % in skupina PCB2S s 56,4 % povečanjem. Statistično značilno najmanjše povečanje vsebnosti skupnih PCB je bilo doseženo v skupini PCB4S (48,6 %). Podatkov o vsebnosti skupnih in posameznih PCB v skupini PCB3S po 28 dneh zorenja/sušenja nimamo, ker vzorčenje ni bilo izvedeno. Vsebnost PCB 10 se je v kontrolni skupini (PCBKS) značilno povečala za kar 206,3 % (z 9,2 µg/kg na 28,2 µg/kg), v skupini PCB1S pa za 104,3 %. Najmanjše povečanje PCB 10 je bilo opaziti v skupini PCB4S (44,9 %). V skupini PCBKS je potrebno omeniti še PCB 28 (90,2 % povečanje), PCB 138 (79,3 % povečanje) in PCB 52 (75 % povečanje). Najmanjše povečanje smo opazili pri PCB 180 (8,7 %), medtem ko smo največjo vsebnost PCB 180 določili v skupinah PCB1S (16,5 µg/kg) in PCB3S (16,6 µg/kg).

Na polovici procesa sušenja/zorenja salam (po 14 dneh) so se vsebnosti skupnih PCB med posameznimi skupinami statistično značilno razlikovale ( $p = 0,0006$ ) (preglednica 21). Po 14 dneh je bila največja vsebnost skupnih PCB določena v skupini PCB2S (95,8 µg/kg), kar ustreza 69,3 % povečanju, predvsem na račun PCB 10 (125,5 %), PCB 180 (83 %), PCB 28 (59,6 %) ter PCB 153 (56,4 %). Sledila je skupina PCB1S s 57,5 % povečanjem, skupina PCBKS (46,9 %), skupina PCB4S (36,2 %) ter skupina PCB3S, kjer se je vsebnost skupnih PCB povečala za 27 %. V skupini PCB1S je največji odstotek povečanja prispeval PCB 10 (92 %), s 72,2 % je sledil PCB 180, najmanjši odstotek pa je pripadal PCB 52 (17 % povečanje). Večji vpliv je imel PCB 52 v skupini PCBKS (52,2 % povečanje). V omenjeni skupini je bila ponovno določena največja vsebnost PCB 10 (20,8 µg/kg), najmanjša pa PCB 180 (10,5 µg/kg). V skupini PCB4S je bila največja vsebnost PCB 153 (13,5 µg/kg) in PCB 138 (13,0 µg/kg), najmanj pa se je vsebnost skupnih PCB povečala na račun PCB 10 (15,7 %). Po 14 dneh se je v skupini PCB3S povečala vsebnost PCB 10 (61,9 %) in PCB 28 (42,9 %).

### 4.3.3 Vsebnosti PCB v suhi snovi salam

Preglednica 22 prikazuje vsebnosti testiranih PCB v suhih salamah z različnimi komercialnimi starterskimi kulturami v petih eksperimentalnih skupinah med 28-dnevnim procesom sušenja/zorenja.

**Preglednica 22: Vsebnost skupnih in posameznih PCB ( $\mu\text{g}/\text{kg}$  suhe snovi) v suhih salamah med 28-dnevnim sušenjem/zorenjem, brez oz. z dodanimi starterskimi kulturami. V maso za salame smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix**

**Table 22: Levels of the total PCBs and PCB congeners ( $\mu\text{g}/\text{kg}$  dry matter) in dry fermented sausages during 28 days of drying/ripening, without or with addition of starter cultures. The mass of salami was spiked with standard solution of PCB Congener Mix**

PCB	Čas inkubacije (dnevi)	Vsebnost ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ suhe snovi)					p vred.
		PCBK5	PCB1S	PCB2S	PCB3S	PCB4S	
PCB 10	0	24,8 $\pm$ 0,9E	24,2 $\pm$ 1,8D	26,3 $\pm$ 1,1E	23,1 $\pm$ 0,1AB	24,4 $\pm$ 0,8A	0,1894
	4	31,0 $\pm$ 0,1aD	23,5 $\pm$ 0,1bD	29,1 $\pm$ 0,2aD	22,6 $\pm$ 1,9bAB	21,7 $\pm$ 1,7bB	0,0014
	7	50,0 $\pm$ 0,1aA	24,1 $\pm$ 0,6cD	43,1 $\pm$ 1,5bA	24,6 $\pm$ 0,4cA	15,0 $\pm$ 0,5dD	<0,0001
	14	34,5 $\pm$ 0,5aC	27,3 $\pm$ 0,2bC	35,7 $\pm$ 0,7aB	21,0 $\pm$ 1,2cB	17,4 $\pm$ 0,6dC	<0,0001
	21	38,2 $\pm$ 2,3aB	34,3 $\pm$ 1,3bA	32,8 $\pm$ 1,3bC	18,0 $\pm$ 0,9cC	16,8 $\pm$ 0,3cCD	<0,0001
	28	37,9 $\pm$ 1,2aB	30,8 $\pm$ 1,1bB	25,4 $\pm$ 0,0cE	-	16,8 $\pm$ 0,4dCD	<0,0001
	p vred.	<0,0001	0,0002	<0,0001	0,0113	0,0002	
PCB 28	0	24,8 $\pm$ 0,9B	24,2 $\pm$ 1,8C	26,3 $\pm$ 1,1B	23,1 $\pm$ 0,1A	24,4 $\pm$ 0,8B	0,1894
	4	24,1 $\pm$ 0,1bcBC	26,9 $\pm$ 0,1abB	21,4 $\pm$ 0,2cC	22,5 $\pm$ 1,9cA	28,1 $\pm$ 2,2aA	0,0136
	7	33,2 $\pm$ 0,0aA	24,8 $\pm$ 0,6cBC	30,2 $\pm$ 1,0bA	23,9 $\pm$ 0,4cA	17,4 $\pm$ 0,6dD	<0,0001
	14	21,1 $\pm$ 0,3bD	24,5 $\pm$ 0,1aBC	25,2 $\pm$ 0,5aB	18,5 $\pm$ 1,0cB	21,4 $\pm$ 0,7bC	0,0006
	21	22,5 $\pm$ 1,4bDC	30,8 $\pm$ 1,2aA	22,0 $\pm$ 0,8bC	16,5 $\pm$ 0,8cB	19,9 $\pm$ 0,4bCD	0,0002
	28	23,5 $\pm$ 0,7aBC	23,8 $\pm$ 0,8aC	17,9 $\pm$ 0,0bD	-	18,9 $\pm$ 0,5bCD	0,0011
	p vred.	<0,0001	0,0026	<0,0001	0,0030	0,0004	
PCB52	0	24,8 $\pm$ 0,9B	24,2 $\pm$ 1,8A	26,3 $\pm$ 1,1A	23,1 $\pm$ 0,1A	24,4 $\pm$ 0,8A	0,1894
	4	21,1 $\pm$ 0,1bC	20,2 $\pm$ 0,1bCB	19,3 $\pm$ 0,2bC	20,4 $\pm$ 1,7bB	26,2 $\pm$ 2,0aA	0,0111
	7	33,4 $\pm$ 0,0aA	18,7 $\pm$ 0,5cCD	27,6 $\pm$ 0,9bA	19,4 $\pm$ 0,3cB	14,7 $\pm$ 0,5dC	<0,0001
	14	23,3 $\pm$ 0,3aB	16,7 $\pm$ 0,1cED	23,3 $\pm$ 0,5aB	13,9 $\pm$ 0,8dC	18,8 $\pm$ 0,6bB	<0,0001
	21	20,3 $\pm$ 1,2abC	22,2 $\pm$ 0,8aAB	19,4 $\pm$ 0,7bC	11,6 $\pm$ 0,6dD	16,9 $\pm$ 0,3cBC	0,0003
	28	21,6 $\pm$ 0,7aC	15,5 $\pm$ 0,5bE	15,4 $\pm$ 0,0bD	-	16,5 $\pm$ 0,4bBC	0,0006
	p vred.	<0,0001	0,0004	<0,0001	0,0002	0,0001	
PCB 138	0	24,8 $\pm$ 0,9B	24,2 $\pm$ 1,8B	26,3 $\pm$ 1,1A	23,1 $\pm$ 0,1A	24,4 $\pm$ 0,8B	0,1894
	4	17,4 $\pm$ 0,1dD	29,0 $\pm$ 0,2aA	20,9 $\pm$ 0,2cC	24,3 $\pm$ 2,0bA	27,1 $\pm$ 2,1abA	0,0016
	7	29,6 $\pm$ 0,0aA	22,1 $\pm$ 0,5bBC	22,2 $\pm$ 0,7bBC	19,6 $\pm$ 0,3cB	15,8 $\pm$ 0,5dC	<0,0001
	14	21,0 $\pm$ 0,3bcC	20,3 $\pm$ 0,1cDC	23,3 $\pm$ 0,5aB	18,0 $\pm$ 1,0dB	21,9 $\pm$ 0,7abB	0,0026
	21	21,3 $\pm$ 1,3bC	26,8 $\pm$ 1,0aA	17,7 $\pm$ 0,7cD	13,6 $\pm$ 0,7dC	16,0 $\pm$ 0,3cC	0,0001
	28	22,2 $\pm$ 0,7aC	19,1 $\pm$ 0,7bD	17,3 $\pm$ 0,0cD	-	16,5 $\pm$ 0,4cC	0,0014
	p vred.	<0,0001	0,0002	<0,0001	0,0009	0,0001	
PCB 153	0	24,8 $\pm$ 0,9B	24,2 $\pm$ 1,8BC	26,3 $\pm$ 1,1B	23,1 $\pm$ 0,1A	24,4 $\pm$ 0,8B	0,1894
	4	18,2 $\pm$ 0,1cCD	28,9 $\pm$ 0,2aA	21,9 $\pm$ 0,2bC	21,5 $\pm$ 1,8bA	28,5 $\pm$ 2,2aA	0,0014
	7	27,1 $\pm$ 0,0aA	23,2 $\pm$ 0,6bDC	28,5 $\pm$ 1,0aA	21,3 $\pm$ 0,3cA	17,7 $\pm$ 0,6dC	<0,0001
	14	17,4 $\pm$ 0,3cD	21,6 $\pm$ 0,1bDE	24,8 $\pm$ 0,5aB	15,6 $\pm$ 0,9dB	22,9 $\pm$ 0,8bB	<0,0001
	21	14,7 $\pm$ 0,9dE	26,5 $\pm$ 1,0aB	21,3 $\pm$ 0,8bC	14,7 $\pm$ 0,7dB	16,8 $\pm$ 0,3cC	<0,0001
	28	19,3 $\pm$ 0,6aC	20,3 $\pm$ 0,7aE	19,2 $\pm$ 0,0abD	-	17,9 $\pm$ 0,4bC	0,0391
	p vred.	<0,0001	0,0007	<0,0001	0,0010	0,0002	

Se nadaljuje.

**Nadaljevanje preglednice 22: Vsebnost skupnih in posameznih PCB ( $\mu\text{g}/\text{kg}$  suhe snovi) v suhih salamah med 28-dnevnim sušenjem/zorenjem, brez oz. z dodanimi starterskimi kulturami. V maso za salame smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix**

**Continuation of table 22: Levels of the total PCBs and PCB congeners ( $\mu\text{g}/\text{kg}$  dry matter) in dry fermented sausages during 28 days of drying/ripening, without or with addition of starter cultures. The mass of salami was spiked with standard solution of PCB Congener Mix**

PCB	Čas inkubacije (dnevi)	Vsebnost ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ suhe snovi)					p vred.
		PCBKS	PCB1S	PCB2S	PCB3S	PCB4S	
PCB 180	0	24,8 $\pm$ 0,9A	24,2 $\pm$ 1,8C	26,3 $\pm$ 1,1C	23,1 $\pm$ 0,1A	24,4 $\pm$ 0,8B	0,1894
	4	21,2 $\pm$ 0,1cB	31,8 $\pm$ 0,2aA	28,1 $\pm$ 0,2bBC	15,3 $\pm$ 1,3dC	27,0 $\pm$ 2,1bA	0,0001
	7	25,0 $\pm$ 0,0cA	29,1 $\pm$ 0,7bB	31,9 $\pm$ 1,1aA	19,4 $\pm$ 0,3dB	17,8 $\pm$ 0,6dD	<0,0001
	14	16,8 $\pm$ 0,2dC	24,6 $\pm$ 0,2bB	28,9 $\pm$ 0,6aB	12,5 $\pm$ 0,7eD	20,3 $\pm$ 0,7cC	<0,0001
	21	16,3 $\pm$ 1,0cC	27,4 $\pm$ 1,0aB	20,1 $\pm$ 0,8bE	11,0 $\pm$ 0,6dD	17,2 $\pm$ 0,3cD	<0,0001
	28	13,5 $\pm$ 0,4cD	22,8 $\pm$ 0,8aC	21,9 $\pm$ 0,0aD	-	16,5 $\pm$ 0,4bD	0,0001
	p vred.	<0,0001	0,0006	<0,0001	<0,0001	0,0002	
skupni	0	148,8 $\pm$ 5,2B	145,4 $\pm$ 10,9B	158,0 $\pm$ 6,5B	138,5 $\pm$ 0,7A	146,2 $\pm$ 4,8A	0,1894
	4	133,1 $\pm$ 0,4cC	160,3 $\pm$ 0,8aA	140,6 $\pm$ 1,2bcC	126,6 $\pm$ 10,5cA	158,5 $\pm$ 12,2abA	0,0178
	7	198,3 $\pm$ 0,3aA	142,0 $\pm$ 3,5cB	183,4 $\pm$ 6,2bA	128,1 $\pm$ 2,1dA	98,4 $\pm$ 3,1eC	<0,0001
	14	134,1 $\pm$ 1,9bC	135,1 $\pm$ 0,8bB	161,1 $\pm$ 3,3aB	99,5 $\pm$ 5,5dB	122,7 $\pm$ 4,2cB	0,0001
	21	133,2 $\pm$ 8,1bC	168,0 $\pm$ 6,3aA	133,4 $\pm$ 5,1bC	85,4 $\pm$ 4,3dB	103,6 $\pm$ 2,0cC	0,0002
	28	138,0 $\pm$ 4,3aC	132,3 $\pm$ 4,5aB	117,2 $\pm$ 0,1bD	-	103,1 $\pm$ 2,5cC	0,0017
	p vred.	<0,0001	0,0040	<0,0001	0,0011	0,0002	

Starterske kulture: Texel DCM-1 (*S. carnosus*, *S. xylosus*), Texel LM-30 (*L. sakei*, *S. carnosus*, *S. xylosus*), Biostar Sprint (*L. sakei*, *S. carnosus*, *S. xylosus*), SM-181 (*L. sakei* HJ-7, *S. xylosus* DD-34)

Eksperimentalne skupine: PCBKS – kontrola (brez dodane starterske kulture), PCB1S – starterska kultura Texel DCM-1), PCB2S – starterska kultura Texel LM-30, PCB3S – starterska kultura Biostar Sprint, PCB4S – starterska kultura SM-181

Vrednosti z različno nadpisano črko znotraj vrstice (<sup>a,b,c,d</sup>) se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med eksperimentalnimi skupinami). Vrednosti z različno nadpisano črko znotraj stolpca (<sup>A,B,C,D,E,F</sup>) se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med časi sušenja/zorenja)

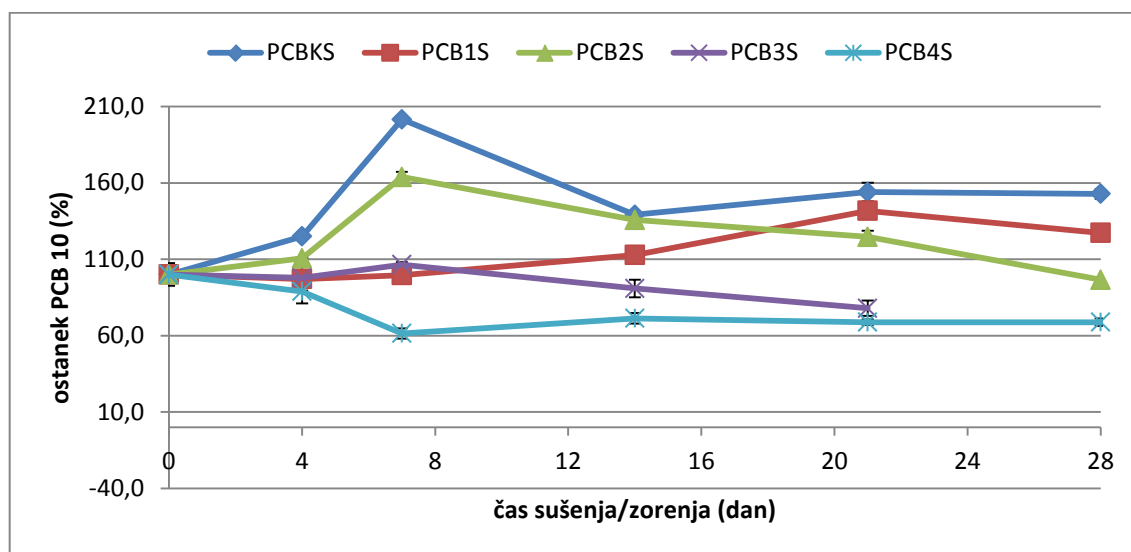
Starter cultures: Texel DCM-1 (*S. carnosus*, *S. xylosus*), Texel LM-30 (*L. sakei*, *S. carnosus*, *S. xylosus*), Biostar Sprint (*L. sakei*, *S. carnosus*, *S. xylosus*), SM-181 (*L. sakei* HJ-7, *S. xylosus* DD-34)

Experimental groups: PCBKS – control (with no addition of a starter culture), PCB1S – starter culture Texel DCM-1, PCB2S – starter culture Texel LM-30, PCB3S – starter culture Biostar Sprint, PCB4S – starter culture SM-181

Means with different superscript letters within row (<sup>a,b,c,d</sup>) differ significantly ( $p \leq 0.05$ ; significance of differences between the experimental groups). Means with different superscript letters within column (<sup>A,B,C,D,E,F</sup>) differ significantly ( $p \leq 0.05$ ; significance of differences between the drying/ripening times)

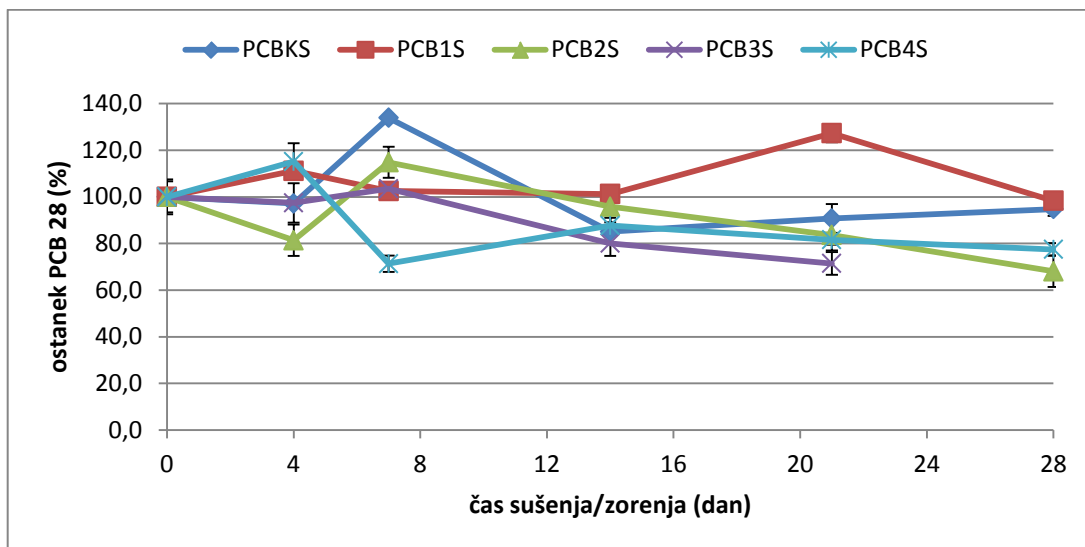
V vseh eksperimentalnih skupinah (PCBKS, PCB1S, PCB2S, PCB3S, PCB4S) se je vsebnost skupnih PCB tekom procesa sušenja/zorenja značilno zmanjševala (preglednica 22). Po 28 dneh je bila največja razgradnja opazna v skupini PCB4S (29,5 %). Vsebnost skupnih PCB se je z začetne koncentracije 146,2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  zmanjšala na 103,1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . S 25,8 % zmanjšanjem je sledila skupina PCB2S. Med ostalima skupinama (PCB1S in PCBKS) nismo opazili statistično značilnih razlik (slika 37). V skupini PCB1S je bil odstotek razgradnje skupnih PCB 9 %, v kontrolni skupini (PCBKS) pa se je vsebnost

zmanjšala za 7,3 %. Podatkov o vsebnosti skupnih in posameznih PCB po 28 dneh v skupini PCB3S nimamo, ker vzorčenje ni bilo opravljeno. Med posameznimi PCB je v skupini PCB4S potrebno izpostaviti PCB 52, PCB 138 in PCB 180, pri vseh treh smo opazili 32,4 % zmanjšanje (slika 33, 34 in 36). V skupini PCB2S je največja razgradnja potekla pri PCB 52 (s 26,3 µg/kg na 15,4 µg/kg), s 34,2 % je sledil PCB 138 in z 31,9 % PCB 28 (slika 32). Vsebnost PCB 10 se je v skupini PCB2S po 28 dneh zmanjšala za 3,42 %, v skupini PCB1S pa povečala z začetnih 24,2 µg/kg na 30,8 µg/kg ( $p = 0,0002$ ), značilno povečanje PCB 10 je bilo opazno tudi v skupini PCBKS ( $p < 0,0001$ ).



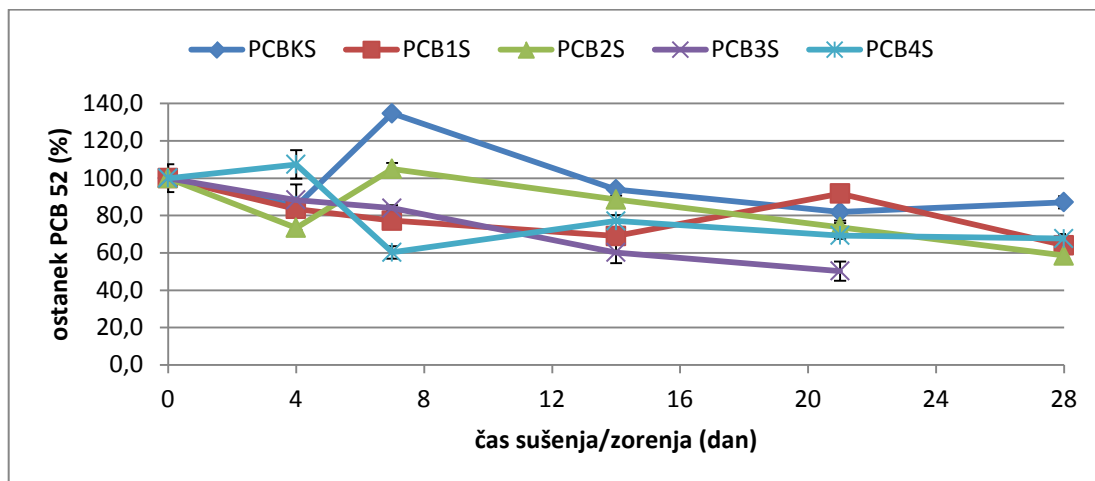
Slika 31: Razgradnja PCB 10 v suhih salamah med 28-dnevnim sušenjem/zorenjem brez (PCBKS – kontrola) oz. z dodanimi starterskimi kulturami (PCB1S – starterska kultura Texel DCM-1, PCB2S – starterska kultura Texel LM-30, PCB3S – starterska kultura Biostar Sprint, PCB4S – starterska kultura SM-181). V maso za salame smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih

Figure 31: Degradation of PCB 10 in dry fermented sausages during 28 days of drying/ripening without (PCBKS – control) or with addition of starter cultures (PCB1S – starter Texel DCM-1, PCB2S – starter Texel LM-30, PCB3S – starter Biostar Sprint, PCB4S – starter SM-181). The mass of salami was spiked with standard solution of PCB Congener Mix. Results are expressed as percentages



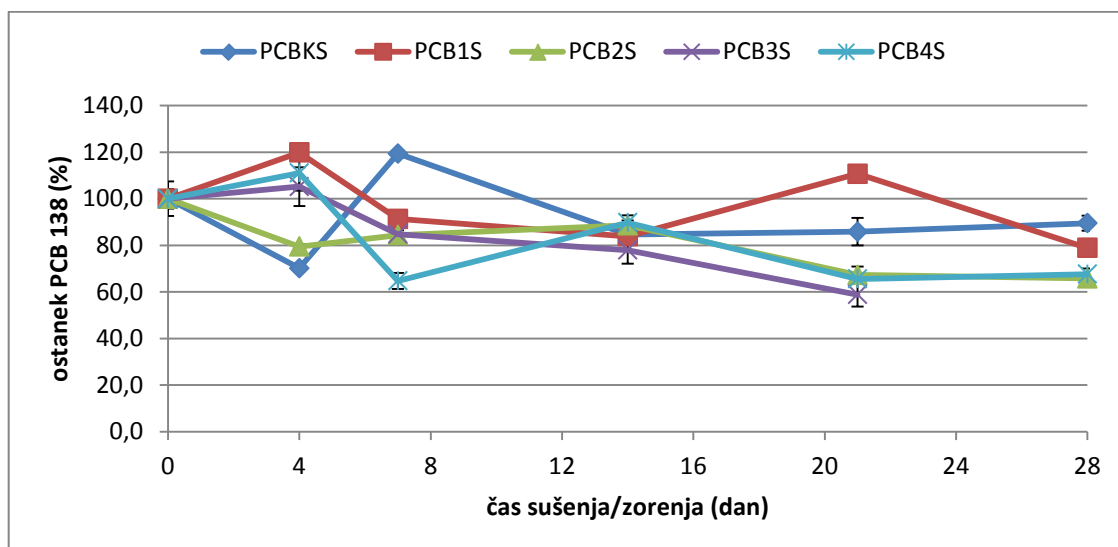
**Slika 32:** Razgradnja PCB 28 v suhih salamah med 28-dnevnim sušenjem/zorenjem brez (PCBKS – kontrola) oz. z dodanimi starterskimi kulturami (PCB1S – starterska kultura Texel DCM-1, PCB2S – starterska kultura Texel LM-30, PCB3S – starterska kultura Biostar Sprint, PCB4S – starterska kultura SM-181). V maso za salame smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih

**Figure 32:** Degradation of PCB 28 in dry fermented sausages during 28 days of drying/ripening without (PCBKS – control) or with addition of starter cultures (PCB1S – starter Texel DCM-1, PCB2S – starter Texel LM-30, PCB3S – starter Biostar Sprint, PCB4S – starter SM-181). The mass of salami was spiked with standard solution of PCB Congener Mix. Results are expressed as percentages



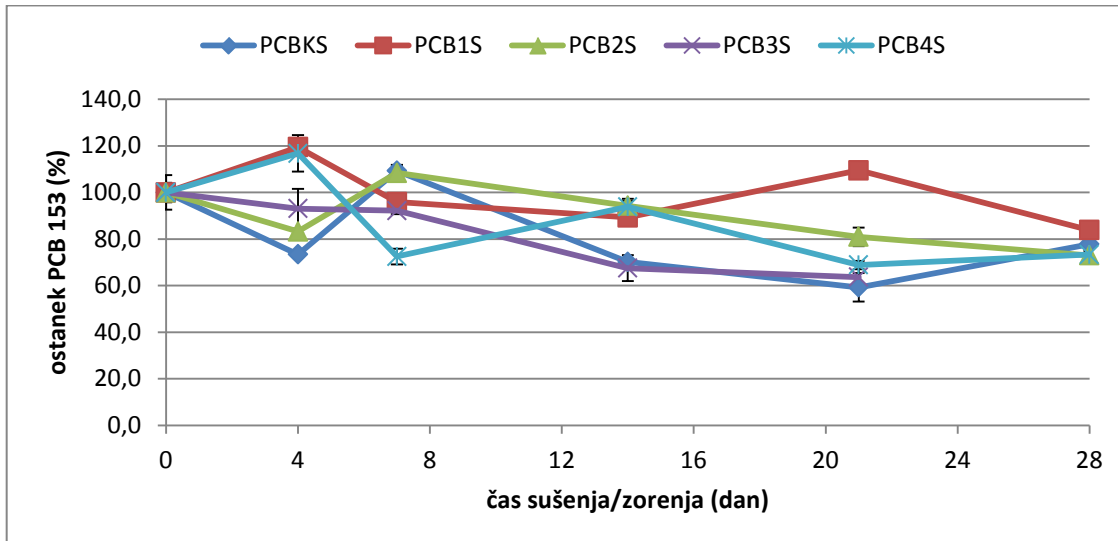
**Slika 33:** Razgradnja PCB 52 v suhih salamah med 28-dnevnim sušenjem/zorenjem brez (PCBKS – kontrola) oz. z dodanimi starterskimi kulturami (PCB1S – starterska kultura Texel DCM-1, PCB2S – starterska kultura Texel LM-30, PCB3S – starterska kultura Biostar Sprint, PCB4S – starterska kultura SM-181). V maso za salame smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih

**Figure 33:** Degradation of PCB 52 in dry fermented sausages during 28 days of drying/ripening without (PCBKS – control) or with addition of starter cultures (PCB1S – starter Texel DCM-1, PCB2S – starter Texel LM-30, PCB3S – starter Biostar Sprint, PCB4S – starter SM-181). The mass of salami was spiked with standard solution of PCB Congener Mix. Results are expressed as percentages



Slika 34: Razgradnja PCB 138 v suhih salamah med 28-dnevnim sušenjem/zorenjem brez (PCBKS – kontrola) oz. z dodanimi starterskimi kulturami (PCB1S – starterska kultura Texel DCM-1, PCB2S – starterska kultura Texel LM-30, PCB3S – starterska kultura Biostar Sprint, PCB4S – starterska kultura SM-181). V maso za salame smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih

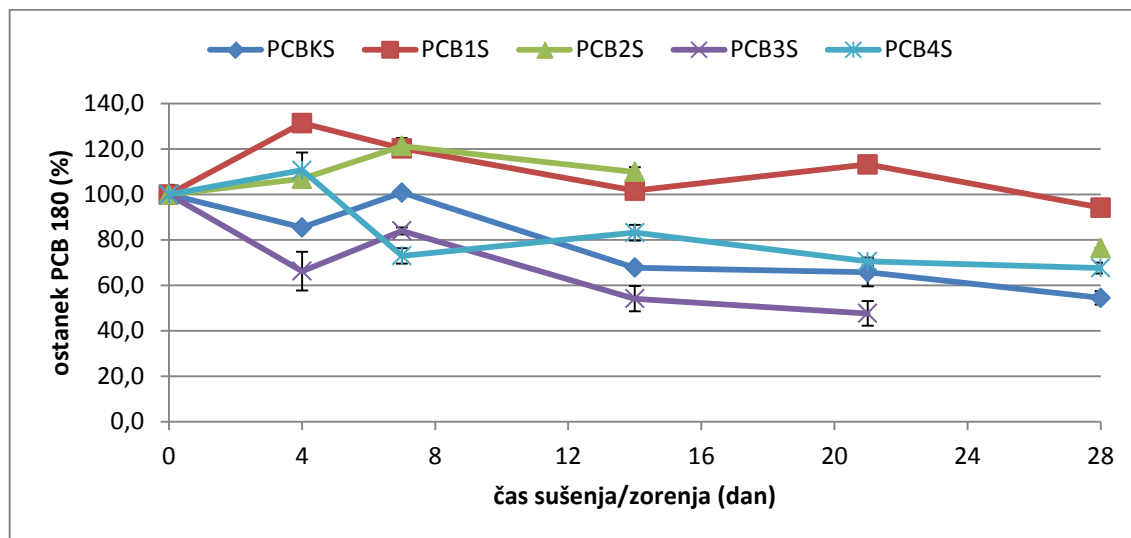
Figure 34: Degradation of PCB 138 in dry fermented sausages during 28 days of drying/ripening without (PCBKS – control) or with addition of starter cultures (PCB1S – starter Texel DCM-1, PCB2S – starter Texel LM-30, PCB3S – starter Biostar Sprint, PCB4S – starter SM-181). The mass of salami was spiked with standard solution of PCB Congener Mix. Results are expressed as percentages



Slika 35: Razgradnja PCB 153 v suhih salamah med 28-dnevnim sušenjem/zorenjem brez (PCBKS – kontrola) oz. z dodanimi starterskimi kulturami (PCB1S – starterska kultura Texel DCM-1, PCB2S – starterska kultura Texel LM-30, PCB3S – starterska kultura Biostar Sprint, PCB4S – starterska kultura SM-181). V maso za salame smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih

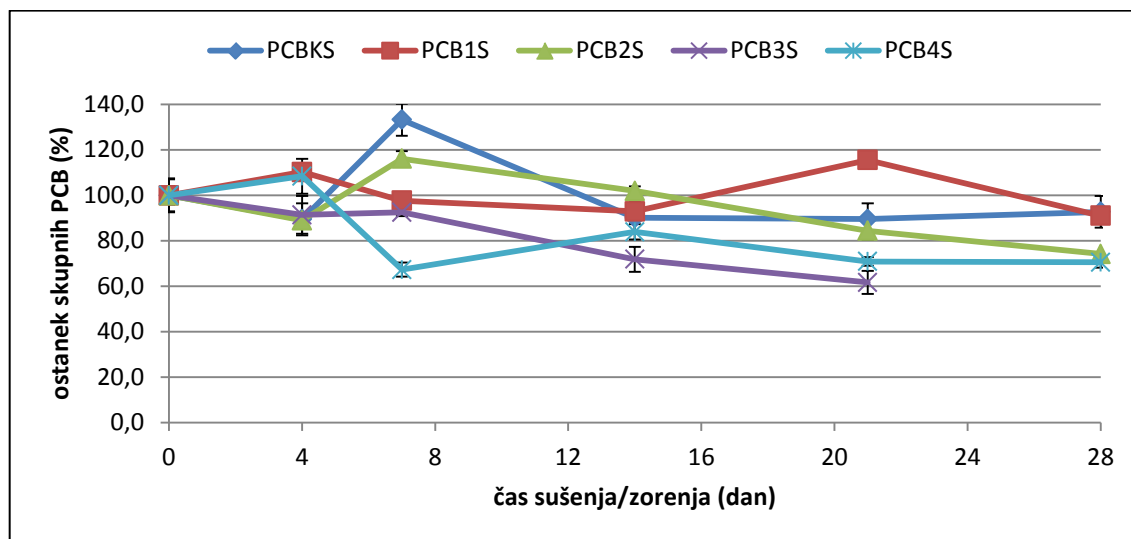
Figure 35: Degradation of PCB 153 in dry fermented sausages during 28 days of drying/ripening without (PCBKS – control) or with addition of starter cultures (PCB1S – starter Texel DCM-1, PCB2S – starter Texel LM-30, PCB3S – starter Biostar Sprint, PCB4S – starter SM-181). The mass of salami was spiked with standard solution of PCB Congener Mix. Results are expressed as percentages





Slika 36: Razgradnja PCB 180 v suhih salamah med 28-dnevnim sušenjem/zorenjem brez (PCBKS – kontrola) oz. z dodanimi starterskimi kulturami (PCB1S – starterska kultura Texel DCM-1, PCB2S – starterska kultura Texel LM-30, PCB3S – starterska kultura Biostar Sprint, PCB4S – starterska kultura SM-181). V maso za salame smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih

Figure 36: Degradation of PCB 180 in dry fermented sausages during 28 days of drying/ripening without (PCBKS – control) or with addition of starter cultures (PCB1S – starter Texel DCM-1, PCB2S – starter Texel LM-30, PCB3S – starter Biostar Sprint, PCB4S – starter SM-181). The mass of salami was spiked with standard solution of PCB Congener Mix. Results are expressed as percentages



Slika 37: Razgradnja skupnih PCB v suhih salamah med 28-dnevnim sušenjem/zorenjem brez (PCBKS – kontrola) oz. z dodanimi starterskimi kulturami (PCB1S – starterska kultura Texel DCM-1, PCB2S – starterska kultura Texel LM-30, PCB3S – starterska kultura Biostar Sprint, PCB4S – starterska kultura SM-181). V maso za salame smo dodali standardno raztopino PCB Congener Mix. Rezultati so podani v odstotkih

Figure 37: Degradation of total PCBs in dry fermented sausages during 28 days of drying/ripening without (PCBKS – control) or with addition of starter cultures (PCB1S – starter Texel DCM-1, PCB2S – starter Texel LM-30, PCB3S – starter Biostar Sprint, PCB4S – starter SM-181). The mass of salami was spiked with standard solution of PCB Congener Mix. Results are expressed as percentages

Po 14 dneh sušenja/zorenja so se vsebnosti skupnih PCB gibale med 99,5 µg/kg (skupina PCB3S) in 161,1 µg/kg (skupina PCB2S) (preglednica 22). Med posameznimi skupinami so bile opazne značilne razlike ( $p = 0,0001$ ). V skupini PCB3S je izstopal PCB 180 s 45,9 % razgradnjo, sledil je PCB 52 (39,8 % zmanjšanje), PCB 153 (32,5 % zmanjšanje) (slika 35) ter PCB 138 z 22,1 % zmanjšanjem, medtem ko je bila razgradnja PCB 10 samo 9,1 %. V skupini PCB4S je PCB 10 predstavljal največji odstotek razgradnje (28,7) (slika 31), sledil je PCB 52 s 23 % in PCB 180 s 16,8 % zmanjšanjem. Najmanjši odstotek razgradnje je predstavljal PCB 153 (6,1 %). Podobna vsebnost PCB 153 je bila izmerjena tudi v skupini PCB1S (10,7 % zmanjšanje). V omenjeni skupini se je vsebnost PCB 52 zmanjšala za 31 % (s 24,2 na 21,6 µg/kg). Opazili smo 10,7 % razgradnjo PCB 153, medtem ko se je vsebnost PCB 10 v omenjeni skupini po 14 dneh značilno povečala (s 24,2 na 27,3 µg/kg). Vsebnost PCB 10 se je povečala tudi v skupini PCB2S (35,7 %), povečanje smo prav tako opazili pri PCB 180 (9,9 %), vsebnost PCB 52 pa se je zmanjšala za 11,4 %. V skupini PCBKS se je vsebnost PCB 180 zmanjšala za 32,3 % (s 24,8 na 16,8 µg/kg), sledil je PCB 153 z 29,8 % zmanjšanjem, medtem ko je bilo pri PCB 52 opazno 6,1 % zmanjšanje. Vsebnost PCB 10 se je v skupini PCBKS ponovno značilno povečala (s 24,8 % na 34,5 %).

## 5 RAZPRAVA IN SKLEPI

### 5.1 RAZPRAVA

V nalogi smo spremljali razgradnjo PCB s komercialnimi mešanici starterskih kultur v različnih medijih. Poskus smo v osnovi razdelili na tri dele. V prvem smo spremljali razgradnjo PCB v tekočih gojiščih, v drugem delu smo kot medij uporabili mesno emulzijo, tretji del pa je predstavljal največji približek mesni industriji – razgradnjo PCB z različnimi komercialnimi starterskimi kulturami smo spremljali v suhih salamah.

#### 5.1.1 Spremljanje razgradnje PCB s komercialnimi starterskimi kulturami v tekočih gojiščih

V poskus sta bili vključeni komercialni starterski kulturi Texel DCM-1 (*S. carnosus*, *S. xylosus*) in Texel LM-30 (*L. sakei*, *S. carnosus*, *S. xylosus*) ter tekoči gojišči BHI (Brain Hearth Infusion Broth) in MRS (de Man, Rogosa in Sharpe). Rezultati so pokazali, da se je vsebnost testiranih PCB s časom inkubacije (14 dni) v vseh eksperimentalnih skupinah (BHI/DCM-1, BHI/LM-30, MRS/DCM-1, MRS/LM-30) zmanjševala, brez opaznih značilnih razlik med posameznimi skupinami. Študijo na gojiščih so izvedli tudi Leães in sod. (2006), kjer so kot startersko kulturo uporabili *S. xylosus*. Čas inkubacije je bil krajši za polovico (7 dni). Dokazali so razgradnjo PCB 138 in PCB 153 v obeh uporabljenih gojiščih BHI in MSM (Mineral Salts Medium), pri čemer je prišlo do največjega zmanjšanja znotraj 24 ur. Negativna eksponentna zveza med časom inkubacije in vsebnostjo PCB 28 ter PCB 180 je bila opažena v gojišču BHI, prav tako tudi pri PCB 52 in PCB 180 v gojišču MSM. V nasprotju pa v našem poskusu nismo opazili značilnih razlik v razgradnji PCB med gojišči BHI in MRS. Za obe uporabljeni gojišči je značilno, da vsebujeta druge vire ogljika, kar pa ne velja za gojišče MSM, kjer edini vir ogljika predstavljajo PCB. Ena od možnih razlag za takšne razlike v rezultatih je, da mikroorganizmi raje uporabijo druge vire ogljika pred PCB (Katayama in Matsumura, 1993; Klasson in sod., 1996). Dokazali smo tudi, da dodatek PCB v gojišča ne vpliva na rast uporabljenih starterskih kultur, kar se ujema z rezultati študije Leãesa in sod. (2006).

Značilne razlike med posameznimi skupinami smo opazili po 7 in 10 dneh inkubacije. V obeh primerih je največja razgradnja PCB potekla v skupini MRS/LM-30. Po 7 dneh je potrebno izpostaviti PCB 28, PCB 138, PCB 153, po 10 dneh pa PCB 10, PCB 138, PCB 153 in PCB 180. Dokazali smo, da se je več kot 50 % skupnih PCB razgradilo znotraj 48 ur, znotraj 7 dneh inkubacije pa je bila razgradnja približno 80 %, kar je večje v primerjavi z rezultati študije Leãesa in sod. (2006). Razlog za takšne razlike je v tem primeru verjetno uporaba različnih starterskih kultur. V našem primeru smo poleg

*S. xylosus* uporabili še *S. carnosus* ter *L. sakei*. Med 7 in 14 dnevi inkubacije so vsebnosti skupnih PCB ostale praktično na enakih vrednostih. Med inkubacijo smo v skupinah BHI/DCM-1 in MRS/LM-30 opazili trenutno povečanje vsebnosti PCB 52, v skupini MRS/DCM-1 pa povečanje vsebnosti PCB 28. Tudi rezultati raziskave (Leães in sod., 2006) kažejo na povečanje vsebnosti PCB 52.

V skupinah MRS/LM-30 in BHI/LM-30, ki vsebujeta tudi *L. sakei*, smo sicer po 7 in 10 dneh zaznali nekoliko večjo stopnjo razgradnje skupnih PCB, vendar med posameznimi skupinami ni bilo opaznih statistično značilnih razlik. Primerljivih podatkov v literaturi, ki bi vključevali *L. sakei* v proces razgradnje PCB, nismo uspeli najti. Obstaja študija (Abou in Arab, 2001), kjer je dokazan neznačilen vpliv starterske kulture *Lactobacillus plantarum* na razgradnjo DDT-ja in lindana.

### **5.1.2 Spremljanje razgradnje PCB s komercialnimi starterskimi kulturami v mesni emulziji**

V tem delu poskusa smo se želeli nekoliko bolj približati pogojem, ki se običajno pojavljajo v mesni industriji. Kot medij za spremljanje razgradnje PCB smo uporabili mesno emulzijo. Z izbiro emulzije smo zmanjšali potencialne težave s homogenostjo vzorcev. Uporabili smo komercialno startersko kulturo Texel DCM-1 (*S. carnosus*, *S. xylosus*) in proteinski ekstrakt (dobljen iz iste starterske kulture). Posamezne skupine mesnih emulzij smo inkubirali 72 ur pri 4 °C, potem pa jih toplotno obdelali (do središčne temperature 78 °C oz. 100 °C). Z nizko temperaturo inkubacije in toplotno obdelavo smo želeli preprečiti morebitno poslabšanje kakovosti emulzije. Za primerjavo lahko navedemo študijo Leães in sod. (2006), kjer je bilo uporabljeno meso kot kompleksen organski matriks (mesna mešanica), inkubacija pa je potekala 168 ur pri 30 °C s startersko kulturo *S. xylosus*.

Na splošno je bila največja razgradnja opazna pri PCB 180, PCB 138 in PCB 153, tako v presni kot toplotno obdelani mesni emulziji. Dobljeni rezultati sovpadajo s hipotezo, da pri PCB, ki imajo vezan klor na *para* (4 in 4') ali *meta* poziciji (3, 3', 5, 5'), biodegradacija poteče hitreje (Wiegel in Wu, 2000; Dobson in Esch, 2003; Borja in sod., 2005). Statistično značilna razgradnja PCB 10 je potekla samo v toplotno obdelani emulziji (do središčne temperature 100 °C), na drugi strani pa je pri PCB 28 in PCB 52 bilo opaziti trenutno povečanje vsebnosti, predvsem v presni mesni emulziji. To lahko pripišemo procesu deklorinacije višje kloriranih PCB, kot sta PCB 153 in PCB 180 (Wiegel in Wu, 2000; Borja in sod., 2005). Nasprotno so v študiji pokazali Leães in sod. (2006), kjer se je v mesni mešanici razgrajeval samo PCB 10, medtem ko je vsebnost višje kloriranih PCB ostala praktično nespremenjena. Možna razlaga za nastale razlike je predvsem v uporabi

različnih starterskih kultur (v našem primeru poleg *S. xylosum* tudi *S. carnosus*) v kombinaciji s proteinskim ekstraktom, razlikujeta se tudi čas in temperatura inkubacije.

V našem primeru se je dodatek starterske kulture v presno in toplotno obdelano mesno emulzijo (središčna temperatura 100 °C) izkazal za učinkovitejšega v primerjavi s proteinskim ekstraktom (Lušnic in sod., 2012). Razgradnjo PCB smo opazili tudi v skupinah z dodanim proteinskim ekstraktom, če le-te primerjamo s kontrolnimi skupinami (kontrola/4, kontrola/78 in kontrola/100). Na osnovi dobljenih rezultatov lahko sklepamo, da proteinski ekstrakt vsebuje določene ekstracelularne encime, ki bi lahko bili odgovorni za razgradnjo posameznih PCB, vendar so na tem področju potrebne dodatne raziskave.

Glede vpliva toplotne obdelave na razgradnjo PCB v mesnih emulzijah v literaturi nismo našli primerljivih podatkov. Perello in sod. (2010) so preverjali vpliv različnih načinov toplotne obdelave na vsebnost PCB v ribjih tkivih. Dokazali so, da bolj kot sam način toplotne obdelave na razgradnjo PCB vpliva vrsta živila.

Dobljeni rezultati so pokazali največjo razgradnjo skupnih PCB v vseh treh skupinah mesnih emulzij s toplotno obdelavo do središčne temperature 100 °C (kontrola/100, +starter/100, +proteinski ekstrakt/100). V primerjavi s pozitivno kontrolo smo zmanjšanje vsebnosti PCB opazili tudi v skupinah s toplotno obdelavo do središčne temperature 78 °C (kontrola/78, +starter/78, +proteinski ekstrakt/78), brez značilnih razlik med skupinami.

Zaključimo lahko, da maksimalno razgradnjo skupnih PCB (32,8 %) v mesni emulziji dosežemo z dodatkom komercialne starterske kulture in toplotno obdelavo do središčne temperature 100 °C (+starter/100).

### **5.1.3 Spremljanje razgradnje PCB s komercialnimi starterskimi kulturami v suhih salamah**

Zadnji del poskusa vključuje izdelavo suhih salam in hkrati predstavlja najpomembnejši del naloge. Maso za suhe salame smo pripravili po klasični recepturi in dodali različne komercialne mešanice starterskih kultur (Texel DCM-1 (*S. carnosus*, *S. xylosum*), Texel LM-30 (*L. sakei*, *S. carnosus*, *S. xylosum*), Biostar Sprint (*L. sakei*, *S. carnosus*, *S. xylosum*) in SM-181 (*L. sakei* HJ-7, *S. xylosum* DD-34). V 28-dnevem procesu sušenja/zorenja smo spremljali razgradnjo testiranih PCB. Pogoje smo poskušali kar najbolj približati tistim v industriji. Na ta način smo naredili korak naprej in razvili tehnološki postopek, s katerim bi lahko vplivali na zmanjšanje vsebnosti rezidualnih PCB ter s tem zmanjšali tveganje za zdravje ljudi.

Vsebnosti PCB smo podajali v  $\mu\text{g}/\text{kg}$  salame in  $\mu\text{g}/\text{kg}$  suhe snovi. Vrednosti PCB, podane na kg salame, so se tekom procesa sušenja/zorenja povečevale na račun izhajanja vode in posledično zmanjševanja mase salame oziroma povečevanja suhe snovi. Dokazali smo, da se je vsebnost skupnih PCB z dolžino sušenja/zorenja značilno povečevala v vseh petih eksperimentalnih skupinah (PCBKS (kontrola), PCB1S (Texel DCM-1), PCB2S (Texel LM-30), PCB3S (Biostar Sprint) in PCB4S (SM -181)). Po 28-dnevem sušenju/zorenju smo največjo vsebnost skupnih PCB določili v kontrolni skupini (PCBKS), kar je pričakovano, glede na to, da v tej skupini ni bilo dodanih starterskih kultur. Po 28 dneh se je za več kot 80 % povečala vsebnost skupnih PCB tudi v skupini PCB1S, ki vsebuje starterski kulturi *S. xylosus* in *S. carnosus*.

Vrednosti PCB, podane v  $\mu\text{g}$  na kg suhe snovi, so se med sušenjem/zorenjem zmanjševale na račun povečevanja suhe snovi v salamah. V tem primeru je bila po 28 dneh največja razgradnja skupnih PCB (predvsem na račun PCB 52, PCB 138 in PCB 180) izmerjena v skupini PCB4S, ki vsebuje starterski kulturi *L. sakei* HJ-7 in *S. xylosus* DD-34. V skupinah PCB1S in PCBKS smo opazili značilno povečanje vsebnosti PCB 10. Ena od verjetnih razlag za spreminjanje vsebnosti skupnih in posameznih PCB v kontrolni skupini (čeprav je brez dodanih starterskih kultur) je ta, da je v suhih salamah prisotna tudi avtohtona mikroflora.

Povzamemo lahko, da vsak poskus posebej dokazuje sposobnost razgradnje PCB z različnimi komercialnimi mešanicami starterskih kultur. Največji odstotek razgradnje skupnih PCB smo dokazali na gojiščih, izstopali sta skupini MRS/LM-30 (88,4 %) in MRS/DCM-1 (86,5 %). V drugem delu smo uporabili kompleksen organski matriks, izdelali smo mesno emulzijo. V surovi emulziji je bila maksimalna razgradnja skupnih PCB opazna v skupini +starter/4 (15,2 %). Tako majhen odstotek razgradnje je verjetno tudi posledica kratkega časa inkubacije (72 ur) ter nizke temperature (4 °C). Tudi toplotna obdelava emulzije do središčne temperature 78 °C ni bistveno vplivala na zmanjšanje vsebnosti skupnih PCB (16,8 % v skupini kontrola/78). Največjo razgradnjo skupnih PCB smo dosegli s toplotno obdelavo do središčne temperature 100 °C (32,8 % v skupini +starter/100). V zadnjem delu, kjer smo se tudi najbolj približali pogojem v industriji, pa smo največjo razgradnjo skupnih PCB v suhi salami dosegli v skupini PCB4S (29,5 %), sledila je skupina PCB2S (25,8 %).

Med posameznimi PCB je bil največji odstotek razgradnje v vseh treh poskusih značilen predvsem za PCB 138, PCB 153 in PCB 180. Zmanjšanje smo opazili tudi pri PCB 10, PCB 28 ter PCB 52, vendar verjetno zaradi razgradnje višje kloriranih PCB v nižje klorirane njihova vsebnost začasno navidezno naraste. Za natančnejše proučevanje procesov razgradnje posameznih PCB bi bile potrebne nadaljnje raziskave. Glede na

podatke iz literature predvidevamo, da je imela največji vpliv na razgradnjo PCB starterska kultura *S. xylosus*. Določen delež k razgradnji sta verjetno prispevala tudi ostala uporabljena mikroorganizma (*S. carnosus*, *L. sakei*), vendar bi bilo za natančnejšo opredelitev potrebno izvesti dodatne raziskave, kar pa v naši nalogi ni bil glavni namen. Želeli smo preveriti uspešnost starterske kulture kot komercialne mešanice in ne kot posameznega mikroorganizma.

Kljub temu, da dobljene rezultate v vseh treh poskusih med seboj težko primerjamo (različen medij, čas inkubacije in temperatura), lahko zaključimo, da delež razgradnje PCB glede na uporabljen medij pada v naslednjem vrstnem redu: gojišča > mesna emulzija > suhe salame. Razgradnja PCB je pričakovano najmanjša v suhih salamah. Tukaj je vpliv medija na razgradnjo PCB največji, slabša je homogenost vzorca, zato tudi velika odstopanja znotraj posameznih eksperimentalnih skupin. Proces razgradnje PCB je namreč odvisen od številnih dejavnikov, velik vpliv imata sestava medija (trdno ali tekoče) in pogoji rasti mikroorganizma (predvsem temperatura). To je tudi razlog, da so študije *in vitro* težko primerljive s tistimi, ki potekajo v kompleksnejših medijih (Bayarri in sod., 1998).

## 5.2 SKLEPI

Na podlagi dobljenih rezultatov lahko oblikujemo naslednje sklepe:

- Z izdelavo fermentiranega mesnega izdelka – suhe salame in uporabo komercialnih mešanic starterskih kultur namesto posameznih mikroorganizmov, smo se kar najbolj približali pogojem v mesni industriji.
- Dokazali smo statistično značilen vpliv uporabljenih starterskih kultur na razgradnjo skupnih PCB v vseh treh poskusih (gojišča, mesna emulzija in suha salama).
- Najmanjšo stopnjo razgradnje PCB smo pričakovano dokazali v suhih salamah, največjo pa v tekočih gojiščih.
- V suhih salamah statistično značilno največji delež razgradnje skupnih PCB po 28 dneh pripada skupini s startersko kulturo SM-181 (*L. sakei* HJ-7, *S. xylosus* DD - 34), značilno najmanjša razgradnja pa poteče v skupini s startersko kulturo Texel DCM-1 (*S. carnosus*, *S. xylosus*).
- V poskusu na gojiščih smo največjo razgradnjo skupnih PCB dokazali v eksperimentalni skupini MRS/LM-30 s startersko kulturo Texel LM-30 (*L. sakei*, *S. carnosus*, *S. xylosus*) v gojišču MRS.
- V mesnih emulzijah smo največjo razgradnjo skupnih PCB dosegli s toplotno obdelavo do središčne temperature 100 °C in startersko kulturo Texel DCM-1 (*S. carnosus*, *S. xylosus*).
- Med posameznimi PCB je bilo v proces razgradnje vključenih vseh šest kongener, poleg nižje kloriranih smo razgradnjo v vseh treh poskusih dokazali tudi pri višje kloriranih PCB.



## 6 POVZETEK (SUMMARY)

### 6.1 POVZETEK

Poliklorirani bifenili (PCB) zaradi svoje toksičnosti, termodinamske stabilnosti, počasnih in kompleksnih mehanizmov razgradnje v okolju, predvsem pa bioakumulacije v živih organizmih, kljub prepovedi uporabe, še vedno predstavljajo aktualen problem doma in po svetu. Prve raziskave povezane z razgradnjo zaostalnih PCB z mikroorganizmi vključujejo starterske kulture, ki so v proizvodnji fermentiranih mesnih izdelkov danes praktično nepogrešljive.

Namen naloge je bil preveriti sposobnost razgradnje PCB z različnimi komercialnimi starterskimi kulturami v fermentiranem mesnem izdelku – suhi salami ter se na ta način poskušali približati pogojem v industriji. Sposobnost razgradnje smo preverjali tudi v tekočih gojiščih in mesni emulziji.

Poskus smo v osnovi razdelili na tri dele. V prvem delu smo spremljali razgradnjo PCB v tekočih gojiščih BHI (Brain Heart Infusion Broth) in MRS (de Man, Rogosa in Sharpe) s komercialnima starterskima kulturama Texel-DCM-1 (*S. carnosus*, *S. xyloso*) ter Texel LM-30 (*L. sakei*, *S. carnosus*, *S. xyloso*), v drugem delu smo razgradnjo spremljali v mesnih emulzijah, kjer smo poleg starterske kulture Texel DCM-1 uporabili še proteinski ekstrakt iz iste starterske kulture. Preverili smo tudi vpliv toplotne obdelave (mesne emulzije smo toplotno obdelali do središčne temperature 78 °C oz. 100 °C) na vsebnost PCB. Tretji del je predstavljal največji približek mesni industriji. Razgradnjo PCB smo med procesom sušenja/zorenja spremljali v suhih salamah. Poleg že omenjenih mešanic starterskih kultur smo uporabili še: Biostar Sprint (*L. sakei*, *S. carnosus*, *S. xyloso*) in SM-181 (*L. sakei* HJ-7, *S. xyloso* DD-34).

V poskusu na gojiščih smo pokazali, da dodatek PCB ne vpliva na rast posameznih starterskih kultur.

V vsakem poskusu smo izvedli drugačno metodo ekstrakcije, predvsem zaradi razlik v uporabljenih medijih. V tekočih gojiščih in mesni emulziji smo za določitev PCB uporabili GC-ECD, v suhih salamah pa GC-MS.

Glede na dobljene rezultate lahko zaključimo, da vsak poskus posebej dokazuje sposobnost razgradnje PCB z različnimi komercialnimi mešanicami starterskih kultur. Delež razgradnje PCB, glede na uporabljen medij, pada v naslednjem vrstnem redu: gojišča > mesna emulzija > suhe salame.

V poskusu na gojiščih, kjer je bila razgradnja skupnih PCB dokazano največja, sta izstopali dve eksperimentalni skupini: MRS/LM-30 (starterska kultura Texel LM-30 v gojišču MRS) z 88,4 % razgradnjo ter MRS/DCM-1 (starterska kultura Texel DCM-1 v gojišču MRS) z 86,5 % razgradnjo PCB.

V mesnih emulzijah smo maksimalno razgradnjo skupnih PCB dosegli s toplotno obdelavo do središčne temperature 100 °C (32,8 %) v skupini z dodano startersko kulturo (+starter/100).

Pričakovano najmanjšo stopnjo razgradnje skupnih PCB smo dokazali v suhih salamah, kjer smo se tudi najbolj približali pogojem v industriji. Največjo razgradnjo PCB smo zasledili v skupini s startersko kulturo SM-181 (29,5 %).

## 6.2 SUMMARY

Polychlorinated biphenyls (PCBs) are, due to their toxicity, thermodynamic stability, slow and complex degradation mechanisms in environment and above all, bioaccumulation in living organisms, despite the ban on their use, still represent an environmental problem at home as well as around the world.

The aim of the thesis was to establish the ability of various starter cultures to degrade PCBs in fermented meat product – dry fermented sausages. By the use of this product the intention was to imitate industrial conditions.

The experiment was basically divided into three parts. In the first part the PCBs degradation was followed in BHI (Brain Heart Infusion Broth) and MRS (de Man, Rogosa in Sharpe) liquid media with added commercial Texel-DCM-1 (*S. carnosus*, *S. xylosum*) and Texel LM-30 (*L. sakei*, *S. carnosus*, *S. xylosum*) starter cultures. In the second part the degradation was followed in meat emulsions in which also protein extract was added in addition to Texel DCM-1 starter culture. Moreover, the influence of heat treatment on PCBs content (meat emulsions were heat treated to core temperatures 78 °C or 100 °C) was tested. The third part represents the best approximation to real meat industry conditions. The PCBs degradation was followed during the dry fermented sausages drying/maturing process. Besides the already mentioned starter culture mixtures also Biostar Sprint (*L. sakei*, *S. carnosus*, *S. xylosum*) and SM-181 (*L. sakei* HJ-7, *S. xylosum* DD-34) were used.

In the nutrient media experiment it has been established that PCBs addition doesn't influence the various starter cultures' growth.

A different extraction method was applied in each of the experiments, mainly due to differences in the media used. GC-ECD was used to determine PCBs concentration in liquid media and meat emulsions and GC-MS was used for the dry fermented sausages.

According to the data obtained it can be concluded that each experiment separately proves the PCBs degradation capability of various commercial starter culture mixtures. PCBs degradation share, according to the media used, decreases in the following order: nutrient media > meat emulsions > dry fermented sausages.

In the nutrient media experiment, in which the total PCBs degradation proved to be the highest, two experimental groups outstood: MRS/LM-30 (starter culture Texel LM-30 in MRS media) with 88,4 % and MRS/DCM-1 (starter culture Texel DCM-1 in MRS media) with 86,5 % PCB degradation.

The maximal total PCBs degradation was in meat emulsions reached in the test group with the added starter culture (+starter/100) with heat treatment up to core temperature of a 100 °C (32,8 %).

The lowest total PCBs degradation rate was, as expected, obtained in the dry fermented sausages, in which the closest connection/resemblance to real meat industry conditions was established. Within the group, the sample with SM-181 (*L. sakei* HJ-7, *S. xylosum* DD-34) starter culture exhibited the highest degradation rate.

## 7 VIRI

- Abad E., Llerena J. J., Sauló J., Caixach J., Rivera J. 2002. Study on PCDDs/PCDFs and co-PCBs content in food samples from Catalonia (Spain). *Chemosphere*, 46: 1435–1441
- Abou-Arab A. A. K. 2002. Degradation of organochlorine pesticides by meat starter in liquid media and fermented sausage. *Food and Chemical Toxicology*, 40: 33–41
- Abraham W. R., Nogales B., Golyshin P. N., Pieper D. H., Timmis K. N. 2002. Polychlorinated biphenyl-degrading microbial communities in soils and sediments. *Current Opinion in Microbiology*, 5: 246–253
- Abramowicz D. A. 1995. Aerobic and anaerobic PCB biodegradation in the environment. *Environmental Health Perspectives*, 103: 97–99
- Bascompta O., Montana M. J., Marti R., Broto-Puig F., Comellas L., Diaz-Ferrero J., Rodriguez-Larena M. C. 2002. Levels of persistent organic pollutants (PCDD/F and dioxin-like PCB) in food from the Mediterranean diet. *Organohalogen Compounds*, 57: 149–152
- Bayarri S., Herrera A., Conchello M. P., Arino A. A., Lazaro R., Yagüe C. 1998. Influence of meat processing and meat starter microorganisms on the degradation of organochlorine contaminants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 3187–3193
- Beck H. C., Hansen A. M., Lauritsen F. R. 2002. Metabolite production and kinetics of branched-chain aldehyde oxidation in *Staphylococcus xylosus*. *Enzyme and Microbial Technology*, 31: 94–101
- Bem Z., Adamič J. 1991. Mikrobiologija mesa in mesnih izdelkov. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 248 str.
- Bevinakatti B., Ninnekar H. 1992. Degradation of biphenyl by a *Micrococcus* species. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 38, 2: 273–275
- Borja J., Marie Taleon D., Auresenia J., Gallardo S. 2005. Polychlorinated biphenyls and their biodegradation. *Process Biochemistry*, 40: 1999–2013
- Charnley G., Kimbrough R. D. 2006. Overview of exposure, toxicity, and risks to children from current levels of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin and related compounds in the USA. *Food and Chemical Toxicology*, 44: 601–615

- Chovancova J., Kočan A., Jursa S. 2005. PCDDs, PCDFs and dioxin-like PCBs in food of animal origin (Slovakia). *Chemosphere*, 61: 1305–1311
- Costabeber I., Emanuelli T. 2003. Influence of alimentary habits, age and occupation on polychlorinated biphenyl levels in adipose tissue. *Food and Chemical Toxicology*, 41: 73–80
- Costabeber I., Sifuentes dos Santos J., Odorissi Xavier A. A., Weber J., Leal Leaes F., Bogusz Junior S., Emanuelli T. 2006. Levels of polychlorinated biphenyls (PCBs) in meat and meat products from the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *Food and Chemical Toxicology*, 44: 1–7
- Čavlek B. 1997. Starter kulture mikroorganizma u proizvodnji fermentiranih proizvoda od mesa. V: *Moderne tehnologije predelave in kakovosti živil*. 18. Bitenčevi živilski dnevi 1997, Ljubljana, 12.–13.6.1997. Žlender B., Gašperlin L., Hočevar I. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 137–150
- Darnerud P. O., Atuma S., Aune M., Bjerselius R., Glynn A., Petersson Grawe K., Becker W. 2006. Dietary intake estimations of organohalogen contaminants (dioxins, PCB, PBDE and chlorinated pesticides, e.g. DDT) based on Swedish market basket data. *Food and Chemical Toxicology*, 44: 1597–1606
- Dobson S., Van Esch G. J. 1993. Polychlorinated biphenyls and terphenyls. 2<sup>nd</sup> ed. Geneva, WHO: 682 str.  
<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc140.htm> (april 2014)
- EFSA. 2012. Update of the monitoring of dioxins and PCBs levels in food and feed. *EFSA Journal*, 10, 7: 2832, doi:10.2903/j.efsa.2012.2832: 82 str.
- EPA – Environmental Protection Agency. 2003. Table of PCB species by congener number: Revised as of november 2003. United States of America, US Environmental Protection Agency: 8 str.  
<http://www.epa.gov/osw/hazard/tsd/pcbs/pubs/congenertable.pdf> (marec 2013)
- Field J. A., Sierra-Alvarez R. 2008. Microbial transformation and degradation of polychlorinated biphenyls. *Environmental Pollution*, 155: 1–12
- Fish K. M., Principe J. M. 1994. Biotransformations of Aroclor 1242 in Hudson River test tube microcosms. *Applied and Environmental Microbiology*, 60, 12: 4289–4296
- Focant J. F., Pirard C., De Pauw E., 2004. Levels of PCDDs, PCDFs and PCBs in Belgian and international fast food samples. *Chemosphere*, 54: 137–142

- Fromberg A., Granby K., Hojgard A., Fagt S., Larsen J. C. 2011. Estimation of dietary intake of PCB and organochlorine pesticides for children and adults. *Food Chemistry*, 125: 1179–1187
- Guitart R., Puig P., Gomez-Catalan J. 1993. Requirement for a standardized nomenclature criterium for PCBs: Computer-assisted assignment of correct congener denomination and numbering. *Chemosphere*, 27: 1451–1459
- Hansen E. B. 2002. Commercial bacterial starter cultures for fermented foods of the future. *International Journal of Food Microbiology*, 78, 1–2: 119–131
- Harlander D., Miljavac B. 2007. Nadaljevanje projekta za ugotavljanje obremenjenosti ljudi in okolja v Beli krajini s PCB in ocene tveganj. V: Letni program javne službe javnega zdravja za leto 2007. Novo mesto, Zavod za zdravstveno varstvo Novo mesto: 7–11  
<https://www.google.si/#q=hartlander+letni+program+javne+slu%C5%BEbe+javne+ga+zdravja+za+leto+2007> (maj 2014)
- Hribar P. 2008. Razvoj analitske metode za določanje vsebnosti polikloriranih bifenilov v divjačinskem mesu različnih lokacij. Diplomsko delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 71 str.
- Kim M., Kim S., Yun S., Lee M., Cho B., Park J., Son S., Kim O. 2004. Comparison of seven indicator PCBs and three coplanar PCBs in beef, pork, and chicken fat. *Chemosphere*, 54: 1533–1538
- Koppe J., Keys J. 2004. PCB-ji in previdnostno načelo. V: Pozne lekcije iz zgodnjih svaril: previdnostno načelo 1896–2000. Rejec Brancelj I., Kovač N. (ur.). Ljubljana, Agencija Republike Slovenije za okolje: 73–85
- Leães F. L., Daniel A. P., Mello G. B., Battisti V., Bogusz Jr. S., Emanuelli T., Fries L. L. M., Costabeber I. 2006. Degradation of polychlorinated biphenyls (PCBs) by *Staphylococcus xylosus* in liquid media and meat mixture. *Food and Chemical Toxicology*, 44: 847–854
- Leroy F., Verluyten J., Vuyst L. 2006. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 106, 3: 270–285
- Liem A. K., Fürst P., Rappe C. 2000. Exposure of populations to dioxins and related compounds. *Food Additives and Contaminants*, 17, 4: 241–259

- Lušnic M., Polak T., Gašperlin L., Absec A., Kirinčič S., Kozolc B., Žlender B. 2012. Degradation of PCBs in a frankfurter-type meat emulsion: effects of a meat starter, its proteins extract and thermal treatments. *Food and Chemical Toxicology*, 50, 8: 2643–2647
- Marianski S., Marianski A. 2009. The art of making fermented sausages. 2<sup>nd</sup> ed. [S. l.], Bookmagic: 39–50
- MeeKyung K., Sooyeon K., Myoungheon L., Byunghoon C., Jongmyung P., Seongwan S., Okkyung K. 2004. Comparison of seven indicator PCBs and three coplanar PCBs in beef, pork and chicken fat. *Chemosphere*, 54: 1533–1538
- Meszaroš A. 2001. Starterske kulture v proizvodnji suhih klobas. *Meso in mesnine*, 2, 2: 44–47
- Mills A. S., Thal D.I., Jonathan B. 2007. A summary of the 209 PCB congener nomenclature. *Chemosphere*, 68: 1603–1612
- Mocarelli P., Gerthoux P. M., Patterson D. G., Milani S., Limonata G., Bertona M., Signorini S., Tramacere P., Colombo L., Crespi C., Brambilla P., Sarto C., Carreri V., Sampson E. J., Turner W. E, Needham L. L. 2008. Dioxin exposure, from infancy through puberty, produces endocrine disruption and affects human semen quality. *Environmental Health Perspectives*, 116: 70–77
- Mohn W. W., Tiedje J. M. 1992. Microbial reductive dehalogenation. *Microbiological Reviews*, 56, 3: 482–507
- Operativni program odstranjevanja polikloriranih bifenilov in polikloriranih terfenilov za obdobje od 2009 do konca 2012. 2009. Ljubljana, Ministrstvo za okolje in prostor: 41 str.  
[http://www.mko.gov.si/fileadmin/mko.gov.si/pageuploads/zakonodaja/varstvo\\_oko\\_lja/operativni\\_programi/op\\_pcb\\_2009\\_2012.pdf](http://www.mko.gov.si/fileadmin/mko.gov.si/pageuploads/zakonodaja/varstvo_oko_lja/operativni_programi/op_pcb_2009_2012.pdf) (julij 2014)
- Ordonez J. A., Hierro E. M. Bruna J. M., De la Hoz L. 1999. Changes in the components of dry-fermented sausages during ripening. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 39, 4: 329–367
- Papadopoulou A., Vassiliadou I., Costopoulou D., Papanicolaou C., Leondiadis L. 2004. Levels of dioxin-like PCBs in food samples on the Greek market. *Chemosphere*, 57: 413–419



- Perello G., Marti-Cid R., Castell V., Llobet J. M., Domingo J. L. 2010. Influence of various cooking process on the concentrations of PCDD/PCDFs, PCBs and PCDEs in foods. *Food Control*, 21: 178–185
- Polak T., Demšar L., Arh G., Pompe M., Hribar P., Žlender B. 2008. Determination of OPCs and PCBs in game meat of different areas. V: Proceedings: 54<sup>th</sup> International Congress of Meat Science & Technology 2008, 10–15 August, Cape Town, South Africa. Cape Town, ICOMST: 2A.20, 4 str. [CD]
- Polič S., Blatnik M., Brvar Š. 1993. Primer Krupa: Stanje onesnaženosti s PCB-ji deset let po odkritju. *Ujma*, 7: 165–170
- Ravyts F., Steen L., Goemaere O., Paelinck H., De Vuyst L., Leroy F. 2010. The application of staphylococci with flavour-generating potential is affected by acidification in fermented dry sausages. *Food Microbiology*, 27: 945–954
- SAS Software. 1999. Version 8.01. Cary, SAS Institute Inc.: Software
- Satler M., Žlender B. 2001. Suhe klobase. *Meso in mesnine*, 2, 2: 13–15
- Schepens P. J. C., Covaci A., Jorens P. G., Hens L., Scharpe S., van Larebeke N. 2001. Surprising findings following a Belgian food contamination with polychlorobiphenyls and dioxins. *Environmental Health Perspectives*, 109: 101–103
- Sierra I., Valera J. L., Marina M. L., Laborda F. 2003. Study of the biodegradation process of polychlorinated biphenyls in liquid medium and soil by a new isolated aerobic bacterium (*Janibacter* sp.). *Chemosphere*, 53: 609–618
- Smole Možina S., Raspor P. 1994. Starter kulture v živilstvu. V: Aditivi. 16. Bitenčevi živilski dnevi 1994, Bled, 9.–10.6.1994. Raspor P. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 99–108
- Sondergaard A. K., Stahnke L. H. 2002. Growth and aroma production by *Staphylococcus xylosum*, *S. carnosus* and *S. equorum*-a comparative study in model systems. *International Journal of Food Microbiology*, 75: 99–109
- Storelli M. M., Giacomini-Stuffler R., Storelli A., Marcotrigiano G.O. 2003. Polychlorinated biphenyls in seafood: contamination levels and human dietary exposure. *Food Chemistry*, 82: 491–496

Turrio-Baldassarri L., Alivernini S., Carasi S., Casella M., Fuselli S., Iacovella N., Iamiceli A. L., La Rocca C., Scarcella C., Battistelli C. L. 2009. PCB, PCDD and PCDF contamination of food of animal origin as the effect of soil pollution and the cause of human exposure in Brescia. *Chemosphere*, 76, 2: 278–285

Voorspoels S., Covaci A., Neels H. 2008. Dietary PCB intake in Belgium. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 25: 179–182

Wiegel J., Wu Q., 2000. Microbial reductive dehalogenation of polychlorinated biphenyls. *FEMS Microbiology Ecology*, 32: 1–15

Yao Y., Takasuga T., Masunaga S., Nakanishi J. 2002. Detailed study on the levels of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans and polychlorinated biphenyls in Yusho rice oil. *Chemosphere*, 46, 9–10: 1461–1469

Zuccato E., Grassi P., Davoli E., Valdicelli L., Wood D., Reitano G., Fanelli R. 2008. PCB concentrations in some foods from European countries. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 1062–1067

Žlender B. 2001. Procesna kontrola v proizvodnji suhih salam. *Meso in mesnine*, 3, 2: 21–25

## ZAHVALA

*Disertacija je rezultat vztrajnosti in nekajletnega dela. Ob tej priložnosti ne smem pozabiti na vse vas, ki ste k temu kakorkoli prispevali:*

*Zahvalila bi se mentorju, prof. dr. Božidarju Žlendru, za pregled naloge in vodenje skozi vsa leta, ki sem jih kot mlada raziskovalka preživela na Katedri za tehnologijo mesa in vrednotenje živil.*

*Hvala prof. dr. Lei Demšar za natančen pregled naloge, vso pomoč in marsikateri nasvet.*

*Hvala tudi doc. dr. Barbari Jeršek in prof. dr. Andreju Kirbišu za hiter in skrben pregled naloge.*

*Zahvala gre Nacionalnemu inštitutu za javno zdravje v Ljubljani, posebej dr. Stanislavi Kirinčič in Brigiti Kozolc, univ. dipl. kem., za opravljene analize na GC-ECD.*

*Hvala dr. Emilu Zlatiču za opravljene analize na GC-MS.*

*Hvala tudi Lini Burkan Makivić, univ. dipl. inž. živ. tehnol., za pregled in pomoč pri navajanju virov.*

*Hvala vsem sodelavcem Katedre za tehnologijo mesa in vrednotenje živil. Leta, ki sem jih preživela v vaši družbi, bodo vedno ostala v lepem spominu. Mojca, tebi pa hvala za prijetne pogovore ob jutranji kavici ter vedno dobro voljo v laboratoriju.*

*Čeprav na koncu, pa vendar zame najpomembnejši...*

*Mama in ati, hvala ker sta mi vseskozi stala ob strani in me podpirala. Hvala tudi sestri in vsem ostalim domačim, ki ste na tej poti verjeli vame.*

*Tomaž in moji sončici Anika in Manca, rečem lahko le, hvala, ker ste.\* Brez vas bi bila ta naloga brez pravega smisla.*

**HVALA!**

\*\*\*

*Skrivnost uspeha v življenju ni v tem, da človek dela tisto, kar ljubi, temveč da ljubi tisto, kar dela.*

(W. Churchill)

## PRILOGA

### Priloga A: Seznam PCB kongener (EPA, 2003)

Kongenera	IUPAC nomenklatura	Tip
	Polikloriran bifenil (PCB)	
1	2-Chlorobiphenyl	Congener
2	3-Chlorobiphenyl	Congener
3	4-Chlorobiphenyl	Congener
4	2,2'-Dichlorobiphenyl	Congener
5	2,3-Dichlorobiphenyl	Congener
6	2,3'-Dichlorobiphenyl	Congener
7	2,4-Dichlorobiphenyl	Congener
8	2,4'-Dichlorobiphenyl	Congener
9	2,5-Dichlorobiphenyl	Congener
10	2,6-Dichlorobiphenyl	Congener
11	3,3'-Dichlorobiphenyl	Congener
12	3,4-Dichlorobiphenyl	Congener
13	3,4'-Dichlorobiphenyl	Congener
14	3,5-Dichlorobiphenyl	Congener
15	4,4'-Dichlorobiphenyl	Congener
16	2,2',3-Trichlorobiphenyl	Congener
17	2,2',4-Trichlorobiphenyl	Congener
18	2,2',5-Trichlorobiphenyl	Congener
19	2,2',6-Trichlorobiphenyl	Congener
20	2,3,3'-Trichlorobiphenyl	Congener
21	2,3,4-Trichlorobiphenyl	Congener
22	2,3,4'-Trichlorobiphenyl	Congener
23	2,3,5-Trichlorobiphenyl	Congener
24	2,3,6-Trichlorobiphenyl	Congener
25	2,3',4-Trichlorobiphenyl	Congener
26	2,3',5-Trichlorobiphenyl	Congener
27	2,3',6-Trichlorobiphenyl	Congener
28	2,4,4'-Trichlorobiphenyl	Congener
29	2,4,5-Trichlorobiphenyl	Congener
30	2,4,6-Trichlorobiphenyl	Congener
31	2,4',5-Trichlorobiphenyl	Congener
32	2,4',6-Trichlorobiphenyl	Congener
33	2,3',4'-Trichlorobiphenyl	Congener

Kongenera	IUPAC nomenklatura	Tip
	Polikloriran bifenil (PCB)	
34	2,3',5'-Trichlorobiphenyl	Congener
35	3,3',4-Trichlorobiphenyl	Congener
36	3,3',5-Trichlorobiphenyl	Congener
37	3,4,4'-Trichlorobiphenyl	Congener
38	3,4,5-Trichlorobiphenyl	Congener
39	3,4',5-Trichlorobiphenyl	Congener
40	2,2',3,3'-Tetrachlorobiphenyl	Congener
41	2,2',3,4-Tetrachlorobiphenyl	Congener
42	2,2',3,4'-Tetrachlorobiphenyl	Congener
43	2,2',3,5-Tetrachlorobiphenyl	Congener
44	2,2',3,5'-Tetrachlorobiphenyl	Congener
45	2,2',3,6-Tetrachlorobiphenyl	Congener
46	2,2',3,6'-Tetrachlorobiphenyl	Congener
47	2,2',4,4'-Tetrachlorobiphenyl	Congener
48	2,2',4,5-Tetrachlorobiphenyl	Congener
49	2,2',4,5'-Tetrachlorobiphenyl	Congener
50	2,2',4,6-Tetrachlorobiphenyl	Congener
51	2,2',4,6'-Tetrachlorobiphenyl	Congener
52	2,2',5,5'-Tetrachlorobiphenyl	Congener
53	2,2',5,6'-Tetrachlorobiphenyl	Congener
54	2,2',6,6'-Tetrachlorobiphenyl	Congener
55	2,3,3',4-Tetrachlorobiphenyl	Congener
56	2,3,3',4'-Tetrachlorobiphenyl	Congener
57	2,3,3',5-Tetrachlorobiphenyl	Congener
58	2,3,3',5'-Tetrachlorobiphenyl	Congener
59	2,3,3',6-Tetrachlorobiphenyl	Congener
60	2,3,4,4'-Tetrachlorobiphenyl	Congener
61	2,3,4,5-Tetrachlorobiphenyl	Congener
62	2,3,4,6-Tetrachlorobiphenyl	Congener
63	2,3,4',5-Tetrachlorobiphenyl	Congener
64	2,3,4',6-Tetrachlorobiphenyl	Congener
65	2,3,5,6-Tetrachlorobiphenyl	Congener
66	2,3',4,4'-Tetrachlorobiphenyl	Congener
67	2,3',4,5-Tetrachlorobiphenyl	Congener
68	2,3',4,5'-Tetrachlorobiphenyl	Congener
69	2,3',4,6-Tetrachlorobiphenyl	Congener

Kongenera	IUPAC nomenklatura	Tip
	Polikloriran bifenil (PCB)	
70	2,3',4',5-Tetrachlorobiphenyl	Congener
71	2,3',4',6-Tetrachlorobiphenyl	Congener
72	2,3',5,5'-Tetrachlorobiphenyl	Congener
73	2,3',5',6-Tetrachlorobiphenyl	Congener
74	2,4,4',5-Tetrachlorobiphenyl	Congener
75	2,4,4',6-Tetrachlorobiphenyl	Congener
76	2,3',4',5'-Tetrachlorobiphenyl	Congener
77	3,3',4,4'-Tetrachlorobiphenyl	Congener
78	3,3',4,5-Tetrachlorobiphenyl	Congener
79	3,3',4,5'-Tetrachlorobiphenyl	Congener
80	3,3',5,5'-Tetrachlorobiphenyl	Congener
81	3,4,4',5-Tetrachlorobiphenyl	Congener
82	2,2',3,3',4-Pentachlorobiphenyl	Congener
83	2,2',3,3',5-Pentachlorobiphenyl	Congener
84	2,2',3,3',6-Pentachlorobiphenyl	Congener
85	2,2',3,4,4'-Pentachlorobiphenyl	Congener
86	2,2',3,4,5-Pentachlorobiphenyl	Congener
87	2,2',3,4,5'-Pentachlorobiphenyl	Congener
88	2,2',3,4,6-Pentachlorobiphenyl	Congener
89	2,2',3,4,6'-Pentachlorobiphenyl	Congener
90	2,2',3,4',5-Pentachlorobiphenyl	Congener
91	2,2',3,4',6-Pentachlorobiphenyl	Congener
92	2,2',3,5,5'-Pentachlorobiphenyl	Congener
93	2,2',3,5,6-Pentachlorobiphenyl	Congener
94	2,2',3,5,6'-Pentachlorobiphenyl	Congener
95	2,2',3,5',6-Pentachlorobiphenyl	Congener
96	2,2',3,6,6'-Pentachlorobiphenyl	Congener
97	2,2',3,4',5'-Pentachlorobiphenyl	Congener
98	2,2',3,4',6'-Pentachlorobiphenyl	Congener
99	2,2',4,4',5-Pentachlorobiphenyl	Congener
100	2,2',4,4',6-Pentachlorobiphenyl	Congener
101	2,2',4,5,5'-Pentachlorobiphenyl	Congener
102	2,2',4,5,6'-Pentachlorobiphenyl	Congener
103	2,2',4,5',6-Pentachlorobiphenyl	Congener
104	2,2',4,6,6'-Pentachlorobiphenyl	Congener
105	2,3,3',4,4'-Pentachlorobiphenyl	Congener

Kongenera	IUPAC nomenklatura	Tip
	Polikloriran bifenil (PCB)	
106	2,3,3',4,5-Pentachlorobiphenyl	Congener
107	2,3,3',4',5-Pentachlorobiphenyl	Congener
108	2,3,3',4,5'-Pentachlorobiphenyl	Congener
109	2,3,3',4,6-Pentachlorobiphenyl	Congener
110	2,3,3',4',6-Pentachlorobiphenyl	Congener
111	2,3,3',5,5'-Pentachlorobiphenyl	Congener
112	2,3,3',5,6-Pentachlorobiphenyl	Congener
113	2,3,3',5',6-Pentachlorobiphenyl	Congener
114	2,3,4,4',5-Pentachlorobiphenyl	Congener
115	2,3,4,4',6-Pentachlorobiphenyl	Congener
116	2,3,4,5,6-Pentachlorobiphenyl	Congener
117	2,3,4',5,6-Pentachlorobiphenyl	Congener
118	2,3',4,4',5-Pentachlorobiphenyl	Congener
119	2,3',4,4',6-Pentachlorobiphenyl	Congener
120	2,3',4,5,5'-Pentachlorobiphenyl	Congener
121	2,3',4,5',6-Pentachlorobiphenyl	Congener
122	2,3,3',4',5'-Pentachlorobiphenyl	Congener
123	2,3',4,4',5'-Pentachlorobiphenyl	Congener
124	2,3',4',5,5'-Pentachlorobiphenyl	Congener
125	2,3',4',5',6-Pentachlorobiphenyl	Congener
126	3,3',4,4',5-Pentachlorobiphenyl	Congener
127	3,3',4,5,5'-Pentachlorobiphenyl	Congener
128	2,2',3,3',4,4'-Hexachlorobiphenyl	Congener
129	2,2',3,3',4,5-Hexachlorobiphenyl	Congener
130	2,2',3,3',4,5'-Hexachlorobiphenyl	Congener
131	2,2',3,3',4,6-Hexachlorobiphenyl	Congener
132	2,2',3,3',4,6'-Hexachlorobiphenyl	Congener
133	2,2',3,3',5,5'-Hexachlorobiphenyl	Congener
134	2,2',3,3',5,6-Hexachlorobiphenyl	Congener
135	2,2',3,3',5,6'-Hexachlorobiphenyl	Congener
136	2,2',3,3',6,6'-Hexachlorobiphenyl	Congener
137	2,2',3,4,4',5-Hexachlorobiphenyl	Congener
138	2,2',3,4,4',5'-Hexachlorobiphenyl	Congener
139	2,2',3,4,4',6-Hexachlorobiphenyl	Congener
140	2,2',3,4,4',6'-Hexachlorobiphenyl	Congener
141	2,2',3,4,5,5'-Hexachlorobiphenyl	Congener

Kongenera	IUPAC nomenklatura	Tip
	Polikloriran bifenil (PCB)	
142	2,2',3,4,5,6-Hexachlorobiphenyl	Congener
143	2,2',3,4,5,6'-Hexachlorobiphenyl	Congener
144	2,2',3,4,5',6-Hexachlorobiphenyl	Congener
145	2,2',3,4,6,6'-Hexachlorobiphenyl	Congener
146	2,2',3,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl	Congener
147	2,2',3,4',5,6-Hexachlorobiphenyl	Congener
148	2,2',3,4',5,6'-Hexachlorobiphenyl	Congener
149	2,2',3,4',5',6-Hexachlorobiphenyl	Congener
150	2,2',3,4',6,6'-Hexachlorobiphenyl	Congener
151	2,2',3,5,5',6-Hexachlorobiphenyl	Congener
152	2,2',3,5,6,6'-Hexachlorobiphenyl	Congener
153	2,2',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl	Congener
154	2,2',4,4',5,6'-Hexachlorobiphenyl	Congener
155	2,2',4,4',6,6'-Hexachlorobiphenyl	Congener
156	2,3,3',4,4',5-Hexachlorobiphenyl	Congener
157	2,3,3',4,4',5'-Hexachlorobiphenyl	Congener
158	2,3,3',4,4',6-Hexachlorobiphenyl	Congener
159	2,3,3',4,5,5'-Hexachlorobiphenyl	Congener
160	2,3,3',4,5,6-Hexachlorobiphenyl	Congener
161	2,3,3',4,5',6-Hexachlorobiphenyl	Congener
162	2,3,3',4',5,5'-Hexachlorobiphenyl	Congener
163	2,3,3',4',5,6-Hexachlorobiphenyl	Congener
164	2,3,3',4',5',6-Hexachlorobiphenyl	Congener
165	2,3,3',5,5',6-Hexachlorobiphenyl	Congener
166	2,3,4,4',5,6-Hexachlorobiphenyl	Congener
167	2,3',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl	Congener
168	2,3',4,4',5',6-Hexachlorobiphenyl	Congener
169	3,3',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl	Congener
170	2,2',3,3',4,4',5-Heptachlorobiphenyl	Congener
171	2,2',3,3',4,4',6-Heptachlorobiphenyl	Congener
172	2,2',3,3',4,5,5'-Heptachlorobiphenyl	Congener
173	2,2',3,3',4,5,6-Heptachlorobiphenyl	Congener
174	2,2',3,3',4,5,6'-Heptachlorobiphenyl	Congener
175	2,2',3,3',4,5',6-Heptachlorobiphenyl	Congener
176	2,2',3,3',4,6,6'-Heptachlorobiphenyl	Congener
177	2,2',3,3',4,5',6'-Heptachlorobiphenyl	Congener



Kongenera	IUPAC nomenklatura	Tip
	Polikloriran bifenil (PCB)	
178	2,2',3,3',5,5',6-Heptachlorobiphenyl	Congener
179	2,2',3,3',5,6,6'-Heptachlorobiphenyl	Congener
180	2,2',3,4,4',5,5'-Heptachlorobiphenyl	Congener
181	2,2',3,4,4',5,6-Heptachlorobiphenyl	Congener
182	2,2',3,4,4',5,6'-Heptachlorobiphenyl	Congener
183	2,2',3,4,4',5',6-Heptachlorobiphenyl	Congener
184	2,2',3,4,4',6,6'-Heptachlorobiphenyl	Congener
185	2,2',3,4,5,5',6-Heptachlorobiphenyl	Congener
186	2,2',3,4,5,6,6'-Heptachlorobiphenyl	Congener
187	2,2',3,4',5,5',6-Heptachlorobiphenyl	Congener
188	2,2',3,4',5,6,6'-Heptachlorobiphenyl	Congener
189	2,3,3',4,4',5,5'-Heptachlorobiphenyl	Congener
190	2,3,3',4,4',5,6-Heptachlorobiphenyl	Congener
191	2,3,3',4,4',5',6-Heptachlorobiphenyl	Congener
192	2,3,3',4,5,5',6-Heptachlorobiphenyl	Congener
193	2,3,3',4',5,5',6-Heptachlorobiphenyl	Congener
194	2,2',3,3',4,4',5,5'-Octachlorobiphenyl	Congener
195	2,2',3,3',4,4',5,6-Octachlorobiphenyl	Congener
196	2,2',3,3',4,4',5,6'-Octachlorobiphenyl	Congener
197	2,2',3,3',4,4',6,6'-Octachlorobiphenyl	Congener
198	2,2',3,3',4,5,5',6-Octachlorobiphenyl	Congener
199	2,2',3,3',4,5,5',6'-Octachlorobiphenyl	Congener
200	2,2',3,3',4,5,6,6'-Octachlorobiphenyl	Congener
201	2,2',3,3',4,5',6,6'-Octachlorobiphenyl	Congener
202	2,2',3,3',5,5',6,6'-Octachlorobiphenyl	Congener
203	2,2',3,4,4',5,5',6-Octachlorobiphenyl	Congener
204	2,2',3,4,4',5,6,6'-Octachlorobiphenyl	Congener
205	2,3,3',4,4',5,5',6-Octachlorobiphenyl	Congener
206	2,2',3,3',4,4',5,5',6-Nonachlorobiphenyl	Congener
207	2,2',3,3',4,4',5,6,6'-Nonachlorobiphenyl	Congener
208	2,2',3,3',4,5,5',6,6'-Nonachlorobiphenyl	Congener
209	Decachlorobiphenyl	Congener