

# Karakterizacija hlapljivih spojeva iz trajne kobasice Bosanski sudžuk

---

**Pupačić, Josipa**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2018**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:167:661534>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-12**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**KARAKTERIZACIJA HLAPLJIVIH SPOJEVA IZ TRAJNE**  
**KOBASICE *BOSANSKI SUDŽUK***

**ZAVRŠNI RAD**

**JOSIPA PUPAČIĆ**

**Matični broj:1463**

**Split,listopad 2018**

**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**  
**STRUČNI STUDIJ KEMIJSKA TEHNOLOGIJA**  
**SMJER PREHRAMBENA TEHNOLOGIJA**

**KARAKTERIZACIJA HLAPLJIVIH SPOJEVA IZ TRAJNE**  
**KOBASICE *BOSANSKI SUDŽUK***

**ZAVRŠNI RAD**

**JOSIPA PUPAČIĆ**

**Matični broj:1463**

**Split,listopad 2018**

**UNIVERSITY OF SPLIT**  
**FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY**  
**PROFESSIONAL STUDY CHEMICAL TECHNOLOGY**  
**FOOD TECHNOLOGY DIRECTION**

**CHARACTERIZATION OF VOLATILE COMPOUNDS FROM**  
**DRY FERMENTED SAUSAGE *BOSANSKI SUDŽUK***

**BACHELOR THESIS**

**JOSIPA PUPAČIĆ**

**Parentnumber:1463**

**Split,october 2018**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu  
Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu  
Stručni studij Kemijske tehnologije  
Smjer Prehrambena tehnologija

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti

**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija

**Tema rada:** je prihvaćena na 3. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko tehnološkog fakulteta

**Mentor:** Doc. dr. sc. Zvonimir Marijanović

### KARAKTERIZACIJA HLAPLJIVIH SPOJEVA IZ TRAJNE KOBASICE *BOSANSKI SUDŽUK*

Josipa Pupačić, 1463

#### Sažetak:

*Bosanski sudžuk*, suha fermentirana kobasica, proizvodi se u većini dijelova Bosne i Hercegovine, i jedna je od tradicionalnih kobasica na tom području. Tijekom procesiranja fermentiranih proizvoda odvijaju se brojne enzimatske i neenzimatske reakcije koje dovode do povećanja koncentracije hlapljivih komponenata aroma. Te komponente su odgovorne za specifične okusne i mirisne osobine ovog proizvoda. Za ekstrakciju hlapljivih spojeva iz uzoraka korištena je mikroekstrakcija na čvrstoj fazi iz para iznad otopine (HS-SPME-*Headspace-Solid Phase Microextraction*). Uzorci hlapljivih spojeva su analizirani plinskom kromatografijom spektrometrijom masa (GC-MS-*Gas chromatography-mass spectrometry*). U svim testiranim uzorcima kobasice terpeni su bili najzastupljeniji spojevi i to: limonen (21,36-27,05 %) , te  $\delta$ -3-karen (16,25-16,73 %).

**Ključne riječi:** *Bosanski sudžuk*, HS-SPME, GC-MS, hlapljivi spojevi, arome

**Rad sadrži:** 29 stranica, 15 slika, 3 tablice, 21 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** hrvatski

#### Sastav Povjerenstva za obranu:

- |                                      |               |
|--------------------------------------|---------------|
| 1. Doc. dr. sc. Marina Zekić         | predsjednik   |
| 2. Doc. dr. sc. Danijela Skroza      | član          |
| 3. Doc. dr. sc. Zvonimir Marijanović | član - mentor |

**Datum obrane:** 31. 10. 2018.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta Split, Ruđera Boškovića 35.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

## BACHELOR THESIS

**University of Split**  
**Faculty of Chemistry and Technology Split**  
**Professional study of Chemical Technology**  
**Food Technology direction**

**Scientific area:** Biotechnicalsciences

**Scientific field:** FoodTechnology

**Thesis subject:** was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology,  
session no. 3th

**Mentor:** Ph. D. Zvonimir Marijanović, AssistantProfessor

### CHARACTERIZATION OF VOLATILE COMPOUNDS FROM DRY FERMENTED SAUSAGE *BOSANSKI SUDŽUK*

JosipaPupačić,1463

#### **Abstract:**

*Bosanski sudžuk* thedry fermented sausage, is produced in most parts of Bosnia and Herzegovina and is one of the traditional sausages in the area. During the processing of dry-cured meat products numerous enzymatic and nonenzymatic reactions are carried out. This leads to an increase in the concentration of volatile aroma compounds. These compounds are responsible for the specific olfactory properties of products. For extraction of such compounds from the samples, a headspace solid-phase microextraction was used (HS-SPME-*Headspace-Solid Phase Microextraction*). The extracts were analysed by gas chromatography-mass spectrometry analysis (GC-MS-*Gas chromatography-mass spectrometry*).

In all tested specimens of sausages, terpenes were the most commonly used compounds: limonene (21.36-27.05 %) and  $\delta$ -3-carene (16.25-16.73 %).

**Keywords:** *Bosanski sudžuk*, HS-SPME, GC-MS, volatilecompounds, aroma

**Thesis contains:** 29 pages, 15 figures, 3 tables, 21 references

**Original in:** Croatian

#### **Defence committee:**

- |   |              |
|---|--------------|
| 1.Ph.D. Marina Zekić – Aassistant prof.       | chair person |
| 2.Ph.D. DanijelaSkroza– Aassistant prof.      | member       |
| 3.Ph.D. Zvonimir Marijanović -Assistant prof. | supervisor   |

**Defence date:** October 31<sup>th</sup>, 2018

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Ruđera Boškovića 35.

Završni rad je izrađen u Zavodu za Prehrambenu tehnologiju i biotehnologiju i Zavodu za Organsku kemiju, Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom doc. dr. sc. Zvonimira Marijanovića, u razdoblju od svibnja do listopada 2018.

Zahvaljujem se mentoru doc.dr.sc. Zvonimiru Marijanoviću na pomoći koju mi je pružio tijekom izrade i pisanja ovog završnog rada.

Veliko hvala mojoj obitelji i prijateljima na podršci i razumijevanju koju su mi pružali cijelo moje studiranje.



## ZADATAK

Zadatak ovog završnog rada bio je odrediti sadržaj hlapljivih spojeva iz tri uzorka trajne kobasice *Bosanskog sudžuka*.

U tu svrhu bilo je potrebno :

- Izolirati hlapljive spojeve mikroekstrakcijom vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME-*Headspace-Solid Phase Microextraction*).
- Dobivene uzorke hlapljivih spojeva analizirati spregnutom tehnikom plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS-*Gas chromatography-mass spectrometry*).
- Obradom dobivenih podataka utvrditi sličnosti i razlike dobivenih rezultata s objavljenom znanstveno-stručnom literaturom o hlapljivim spojevima *Bosanskog sudžuka*.

## SAŽETAK

*Bosanski sudžuk*, suha fermentirana kobasica, proizvodi se u većini dijelova Bosne i Hercegovine, i jedna je od tradicionalnih kobasica na tom području. Tijekom procesiranja fermentiranih proizvoda odvijaju se brojne enzimatske i neenzimatske reakcije koje dovode do povećanja koncentracije hlapljivih komponenata aroma. Te komponente su odgovorne za specifične okusne i mirisne osobine ovog proizvoda. Za ekstrakciju hlapljivih spojeva iz uzoraka korištena je mikroekstrakcija na čvrstoj fazi iz para iznad otopine (*HS-SPME-Headspace-Solid Phase Microextraction*). Uzorci hlapljivih spojeva su analizirani plinskom kromatografijom spektrometrijom masa (*GC-MS-Gas chromatography-mass spectrometry*). U svim testiranim uzorcima kobasice terpeni su bili najzastupljeniji i to : limonen (21,36-27,05 %) te  $\delta$ -3-karen (16,25-16,73 %).

**Ključne riječi:** *Bosanski sudžuk*, HS-SPME, GC-MS, hlapljivi spojevi, arome

## SUMMARY

*Bosanski sudžuk* the dry fermented sausage, is produced in most parts of Bosnia and Herzegovina and is one of the traditional sausages in the area. During the processing of dry-cured meat products numerous enzymatic and nonenzymatic reactions are carried out. This leads to an increase in the concentration of volatile aroma compounds. These compounds are responsible for the specific olfactory properties of products. For extraction of such compounds from the samples, a headspace solid-phase microextraction was used (HS-SPME- *Headspace-Solid Phase Microextraction*). The extracts were analysed by gas chromatography-mass spectrometry analysis (GC-MS- *Gas chromatography-mass spectrometry*). In all tested specimens of sausages, terpenes were the most commonly used compounds: limonene (21.36-27.05 %) and  $\delta$ -3-carene (16.25-16.73 %).

**Keywords:** *Bosanski sudžuk*, HS-SPME, GC-MS, volatile compounds, aroma

## SADRŽAJ

UVOD	1
1. OPĆI DIO	2
1.1. AROMA SUŠENOG MESA	2
1.2. MESO	2
1.3. DIM	4
1.4. TEHNOLOŠKI PROCES PROIZVODNJE <i>BOSANSKOG SUDŽUKA</i>	5
1.5. METODE IZOLACIJE HLAPLJIVIH SPOJEVA	7
1.5.1. MIKROEKSTRAKCIJA NA KRUTOJ FAZI	7
1.5.2. DESTILACIJA S DUŠIKOM I TRAPOVIMA	8
1.6. ANALIZA HLAPLJIVIH SPOJEVA	9
1.6.1. PLINSKA KROMATOGRAFIJA	9
1.6.2. SPEKTROMETIJA MASA	10
1.6.3. SPREGNUTA TEHNIKA PLINSKA KROMATOGRAFIJA - SPEKTROMETIJA MASA	12
2. EKSPERIMENTALNI DIO	13
2.1. OPĆE KARAKTERISTIKE <i>BOSANSKOG SUDŽUKA</i>	13
2.2. IZBOR I PRIPREMA UZORKA	14
2.3. APARATURA	14
2.4. IZOLACIJA HLAPLJIVIH SPOJEVA	15
2.5. GC-MS ANALIZA HLAPLJIVIH SPOJEVA	17
3. REZULTATI	19
3.1. PRIKAZ REZULTATA	19
4. RASPRAVA	25
5. ZAKLJUČAK	27
6. LITERATURA	28

## UVOD

Suhomesnati proizvodi su specijaliteti koji se proizvode soljenjem ili salamurenjem i sušenjem ili termičkom obradom, uz dimljenje ili bez dima (1).

Sudžuk je tipičan suhi fermentirani mesni proizvod porijeklom iz Turske. Proizvodi se od goveđeg, bivoljog i konjskog mesa (Kazakhstan), goveđeg i ovčjeg loja, soli, šećera i raznih začina kao što su češnjak, crveni papar, crni papar, kumin... Jedna od značajki izvornog sudžuka je da nije dimljen poput nekih tipičnih europskih kobasica. Ipak u proizvodnji *Bosanskog sudžuka* se koristi dim u svrhu postizanja specifičnog ugodnog mirisa i okusa, tamnosmeđe boje i povećanja trajnosti sudžuka zbog baktericidnog djelovanja dima. Također proces dimljenja pospješuje sušenje, pri čemu se maseni udio vode na kraju procesa smanjuje do 40 % (2).

Prihvatljivosti fermentiranih mesnih proizvoda od strane potrošača, ovisi o okusu i mirisu suhih fermentiranih kobasica koji se ne mogu pripisati samo hlapivim tvarima već velikom broju drugih spojeva prisutnih u proizvodu u prikladnim omjerima (1).

Proizvodnja suhih fermentiranih kobasica je kompleksna i uključuje veliki broj biokemijskih reakcija, kao fermentaciju ugljikohidrata, lipolizu, proteolizu, oksidaciju lipida i katabolizam aminokiselina (2).



**Slika 1.** *Sudžuk* (3)

# 1. OPĆI DIO

## 1.1. AROMA SUŠENOG MESA

Aroma je izuzetno bitan parametar pomoću kojeg konzumenti ocjenjuju kvalitetu i komercijalan uspjeh mesnih proizvoda. Sirovo meso ima jako malo okusa i mirisa. Za stvaranje mirisa potrebna je termička obrada, fermentacija i/ili sušenje. Proizvodnja sušenog mesa je kompleksna i uključuje velik broj biokemijskih reakcija. Proteini mišića podliježu intenzivnoj proteolizi stvarajući veliki broj malih peptida i veliki broj slobodnih aminokiselina (4). Ove slobodne aminokiseline ne pridonose samo mirisu već služe i kao prekursori drugim hlapljivim spojevima (5). Proteinaza i egzopeptidaza su enzimi odgovorni za ove promjene tijekom fermentacije i sušenja. Lipidi mišića i masnog tkiva su podložni intenzivnoj lipolizi stvarajući slobodne masne kiseline uz pomoć djelovanja enzima lipaze. Slobodne masne kiseline i slobodne aminokiseline podliježu daljnjim reakcijama dajući hlapljive spojeve. Različiti hlapljivi spojevi pronađeni su u sušenom mesu: ugljikovodici (alkani, alkeni, alkandieni), ketoni, alkoholi, kratkolančane masne kiseline, terpeni, sumporni spojevi i dušikovi spojevi (5).

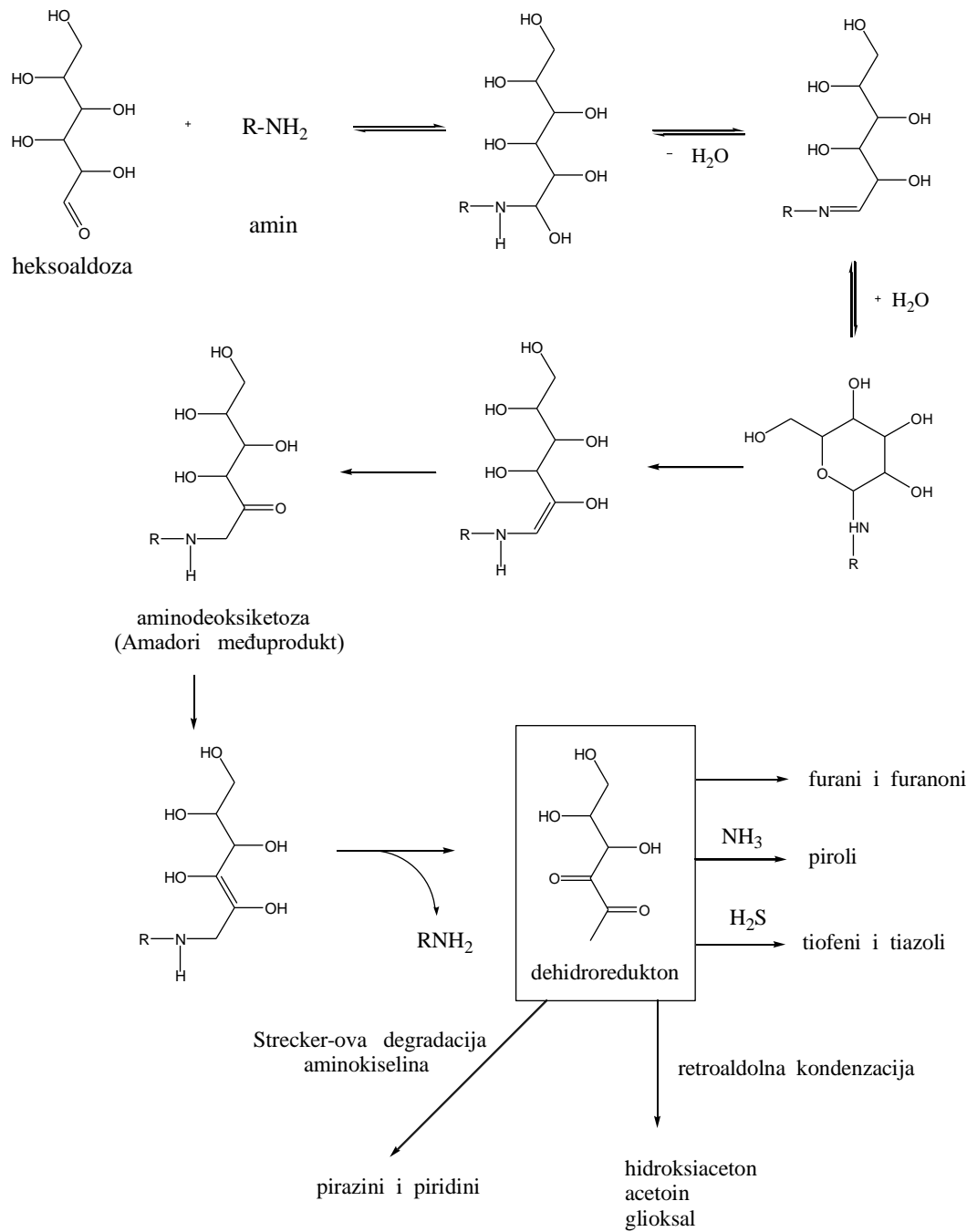
## 1.2. MESO

Kemijski sastav mesa s obzirom na gradivne tvari (vodu, masti, proteine, minerale i ugljikohidrate) daje osnovne informacije o njihovoj kakvoći, cijeni i energetske vrijednosti. Općenito vrijedi pravilo da veći maseni udio proteina u mesu, u odnosu na druge gradivne tvari, meso čini kvalitetnijim i tržišno vrijednijim (6).

U mesu su u manjim količinama zastupljeni i spojevi u tragovima koji izgrađuju enzime, koenzime i vitamine. Nositelji mirisa i okusa sirovog mesa su organski spojevi male molekulske mase koji su u mišićnom i masnom tkivu zastupljeni u malim količinama (1).

Dobra aroma mesa proporcionalna je masenom udjelu inozinske i glutaminske kiseline. Također na dobru aromu utjecaj imaju i aminokiseline i njihovi razgranati produkti, masti, sumporovodik i dr. U procesu stvaranja mirisa veliku ulogu imaju i Maillardove reakcije (Slika 2.) tj. reakcije aminokiselina i reducirajućih šećera pri čemu

nastaje smeđa boja mesa i specifična aroma. Ova reakcija se osim *in vivo* javlja i u grijanim, pečenim i sušenim prerađevinama mesa (1).

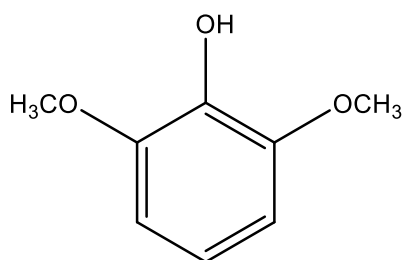


**Slika 2.** Opća shema Maillard-ove reakcije (7)

### 1.3. DIM

Sušenje hrane dimom jedna je od najstarijih tehnika konzerviranja i čuvanja hrane. Spojevi pronađeni u dimu su karboksilne kiseline, esteri i lignin monomeri kao što su alkil-aril esteri i fenolni derivati. Osim lignin monomera otkriveno je i prisustvo lignin dimera koji se zajedno s lignin trimerima osim u dimu nalaze na zidu prostorije za dimljenje (smeše naslage). Ovi spojevi imaju veliku sklonost ka migraciji na zidove prostorija pa ranije nisu opisani kao spojevi dima ili dimnog začina. Lignin trimeri i dimeri važni su za trajnost dimljene hrane zbog njihove velike antioksidacijske sposobnosti (6).

Dimljeno meso sadrži i derivate fenola male molekulske mase koji se nalaze u dimu, a nastaju pirolizomlignina. Nažalost, u dimu mogu nastati i kancerogeni policiklički aromatski ugljikovodici (PAH). Ukoliko nisu kancerogeni, ponašaju se sinergistički. Fenolni spojevi u hrani su izuzetno važni zbog svoje antioksidacijske, antimutagene, antikancerogene i antiviralne aktivnosti. Većina njih osjetno pridonosi atributima kvalitete hrane kao što su miris i boja. Fenolni derivati nastaju pirolizomlignina. Metoksifenolni spojevi od velike su važnosti za miris dima. 2-Metoksifenolni spojevi čine 20-30 %, 2,6-dimetoksifenoli 70-80 % od ukupnih fenola. Koncentracija fenola, kao i metilfenola, dimetilfenola i etilfenola, je veoma mala (6).



**Slika 3.** 2,6-dimetoksifenol



#### 1.4. TEHNOLOŠKI PROCES PROIZVODNJE *BOSANSKOG SUDŽUKA*

Specifičnosti tehnologije *Bosanskog sudžuka* (8):

**1. Izvor sirovina:** goveđe meso I, II i II kategorije, dodatak loja do 3%.

**2. Primarna obrada:** životinje, čije se meso upotrebljava za proizvodnju *Bosanskog sudžuka*, trebaju biti čiste i zdrave, veterinarski pregledane prije klanja i ohlađene po normama.

**3. Izbor i priprema omotača:** za punjenje *Bosanskog sudžuka* upotrebljavaju se uglavnom tanka crijeva goveda čija je uloga da povežu smjesu i daju joj oblik. Goveđa se crijeva prije korištenja moraju obraditi tj. očistiti od masti. Soljenje crijeva vrši se kuhinjskom soli koja ima pozitivan učinak, međutim dodatak soli u većim količinama može dovesti do pucanja crijeva prilikom punjenja.

**4. Usitnjavanje, zrenje i mljevenje:** meso se rasijeca na kategorije te se usitnjava ručno uz dodatak 3 do 5% kuhinjske soli. Nakon toga meso se stavlja na zrenje u rashladnu komoru na temperaturu od 4°C na cijeli dan. Poslije zrenja, meso se melje mašinom za mljevenje (promjer otvora rešetki je 4mm).

**5. Dodatak začina:** vegeta (0,7%), bijeli luk (0,3%), te kod nekih papar (0,1-0,3%) i šećer (0,3%).

**6. Punjenje nadjeva:** u ovoj fazi jako je važno odstraniti zrak i crijeva čvrsto napuniti, masom, jer ukoliko ostane zraka u nadjevu može doći do kvarenja.

**7. Hladno dimljenje, fermentacija, sušenje i zrenje:** temperatura hladnog dimljenja kreće se oko 18°C i traje od 21 do 28 dana. Sušenje se odvija pri temperaturi od 15-20°C, pri relativnoj vlažnosti zraka 80-90%. Dimljenje se provodi svaki dan po pola sata i ukupno 4 dana. Sušenje i zrenje *Bosanskog sudžuka* smatra se gotovim kada izgubi 30-35% svoje mase.

**8. Dozrijevanje:** *Bosanski sudžuk* se ostavlja 10 dana na dozrijevanju čime on dobiva tvrdi konzistenciju.

**9. Skladištenje:** u suhoj, hladnoj, tamnoj i prozračnoj prostoriji.



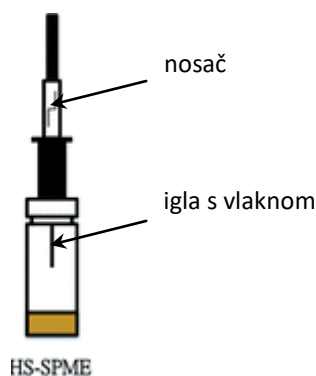
**Slika 4.** Shema proizvodnje sudžuka (3)

## 1.5. METODE IZOLACIJE HLAPLJIVIH SPOJEVA

Za izolacija hlapljivih spojeva iz suhomesnatih proizvoda, posljednjih se godina najčešće koriste mikroekstrakcija na krutoj fazi i destilacija s dušikom i trapovima.

### 1.5.1. MIKROEKSTRAKCIJA NA KRUTOJ FAZI

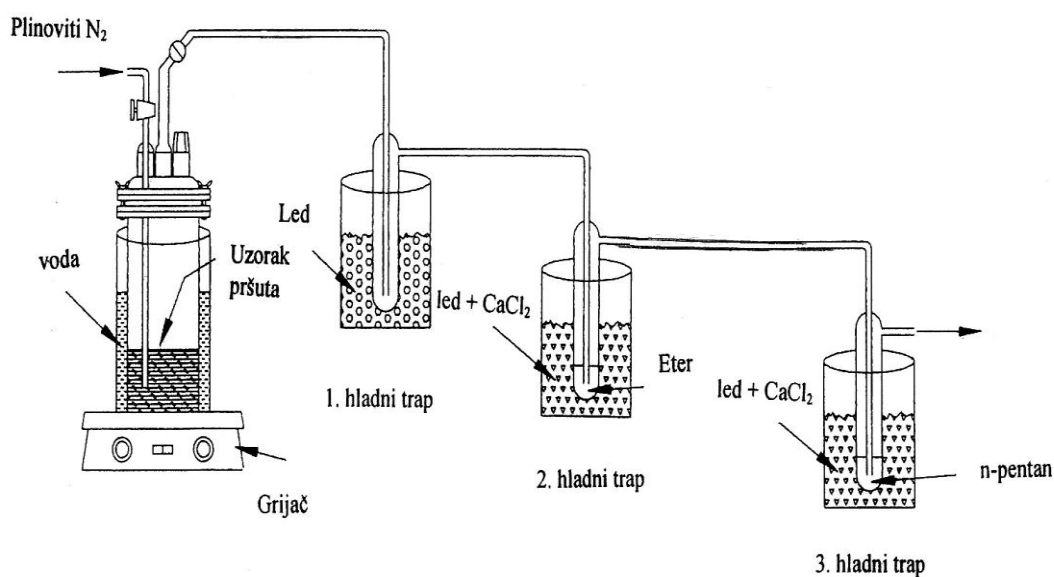
Mikroekstrakcija na krutoj fazi (SPME-*Solid-phase microextraction*) vrlo jednostavna i djelotvorna metoda koja ne koristi otapalo, a otkrio ju je Pawliszyn 1989. godine; SPME se obično koristi u kombinaciji sa spregnutom tehnikom GC-MS(*Gas chromatography-mass spectrometry*) i uspješno se primjenjuje na veliki broj hlapljivih spojeva. Kod SPME svi koraci uobičajene tekuće-tekuće ekstrakcije, kao što su ekstrakcija, koncentriranje te prijenos do plinskog kromatografa, su integrirani u jedan korak, znatno pojednostavljujući postupak izolacije. Aparatura za SPME je vrlo jednostavna, izgleda kao modificirana šprica koja se sastoji od nosača, igle i SPME vlakna (Slika 5.) SPME vlakno je tanko optičko vlakno, obavijeno tankim polimernim filmom (npr. polidimetilsiloksan, PDMS) koji apsorbira i koncentrira organske spojeve. Tip vlakna koji se koristi utječe na selektivnost ekstrakcije, pa se tako polarna vlakna koriste za polarne spojeve, a nepolarna vlakna za nepolarne spojeve. Prije upotrebe vlakno je potrebno kondicionirati (9).



**Slika 5.** Mikroekstrakcija na krutoj fazi (10)

## 1.5.2. DESTILACIJA S DUŠIKOM I TRAPOVIMA

Aparatura za destilaciju s dušikom i trapovima (engl. *nitrogenpurgeandsteamdistillation*, NPSD) se sastoji od zatvorene posude (u koju se stavi uzorak) s dvije staklene cijevi za ulaz čistog dušika i izlaz dušika obogaćenog isparljivim spojevima uzorka. Uzorak se nalazi u posudi na konstantnoj temperaturi  $102 \pm 5$  °C što se postiže korištenjem uljne kupelji. Laganim strujanjem kroz uzorak, dušik izdvaja najhlapljivije komponente koje zajedno s vodenom parom (voda iz uzorka) destiliraju i kondenziraju se u seriji hladnih trapova. Prvi trap se nalazi na temperaturi 2-4 °C; drugi hladni trap sadrži 30 mL etera i nalazi se na temperaturi -20 °C; treći hladni trap sadrži 30 mL *n*-pentana i također se nalazi na temperaturi -20 °C (11).



**Slika 6.** Aparatura za destilaciju sa dušikom i trapovima (11)

## 1.6. ANALIZA HLAPLJIVIH SPOJEVA

Za analizu smjese hlapljivih spojeva odgovornih za arome, najbolja metoda je plinska kromatografija. Pod analizom hlapljivih spojeva podrazumijeva se identifikacija pojedinih sastojaka smjese, odnosno kvalitativna analiza i određivanje udjela pojedinog sastojka u smjesi, odnosno kvantitativna analiza (12).

### 1.6.1. PLINSKA KROMATOGRAFIJA

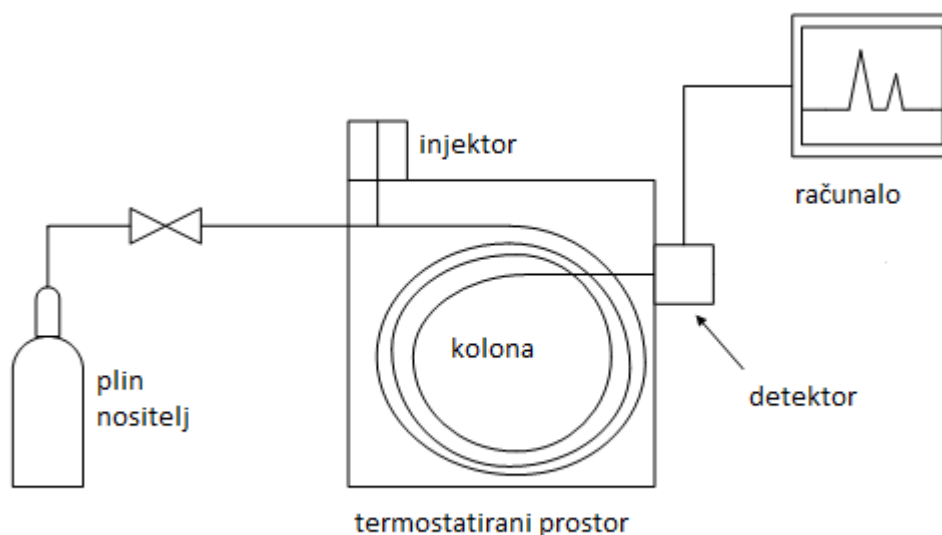
Plinska kromatografija (GC-Gas chromatography) je najčešće korištena tehnika odjeljivanja smjesa hlapljivih spojeva. GC se sastoji od injekcijskog bloka, kromatografske kolone koja se nalazi u termostatiranom prostoru, detektora i računala. Uzorak u injektoru brzo i potpuno ispari. Inertni plin prenese pare uzorka od injekcijskog bloka preko kolone, na kojoj se vrši odjeljivanje sastojaka smjese, do detektora (13).

Uzorci za plinsko-kromatografsku analizu moraju biti hlapljivi i stabilni na temperaturi zagrijavanja kromatografske kolone. Mobilna faza je inertni plin (He, Ar, N<sub>2</sub>), koji ne utječe na proces odjeljivanja sastojaka smjese. Stacionarna faza je najčešće tekućina nanosena na neki kruti adsorbens (punjene kolone) ili vezana za stijenke kapilare (kapilarne kolone).

Sastojci smjese, koji su odijeljeni na kromatografskoj koloni i izneseni plinom nositeljem, moraju se na neki način registrirati odnosno detektirati. Neki od najvažnijih vrsta GC detektora su (13):

- plamenoionizacijski detektor (engl. „FlameIonizationDetector“, FID) – jedan od najčešće korištenih GC-detektora čiji je najveći nedostatak činjenica da razara uzorak
- detektor toplinske vodljivosti (engl. „ThermalConductivityDetector“, TCD)
- plamenofotometrijski detektor (engl. „FlamePhotometricDetector“, FPD)
- fotoionizacijski detektor (engl. „Photo-ionizationDetector“, PID)
- detektor apsorpcije elektrona (engl. „ElectronCaptureDetector“, ECD).

Pravilan izbor detektora od posebne je važnosti i za kvalitativnu i za kvantitativnu analizu. Najveći broj podataka potrebnih za identifikaciju i određivanje strukture složenih organskih molekula pruža spektrometrija masa(13).

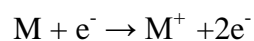


**Slika 7.** Plinski kromatograf(14)

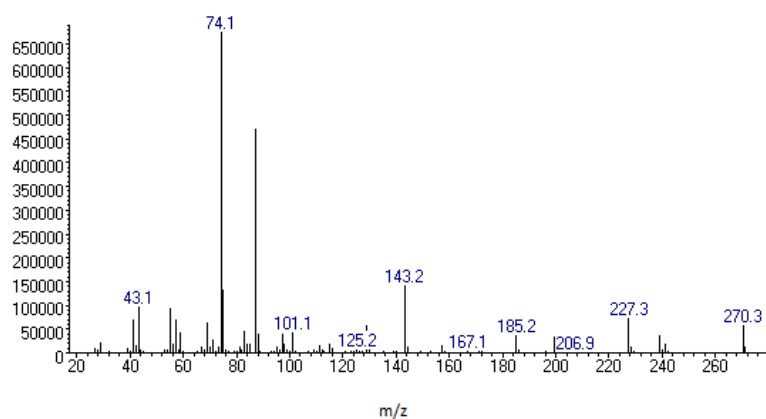
### 1.6.2. SPEKTROMETRIJA MASA

Spektrometrija masa je metoda u kojoj se molekule ioniziraju, a potom se ioni razdvajaju prema njihovoj masi. Postupak se primjenjuje za određivanje relativnih molekulskih masa, a preko njihovih molekulskih formula. Spektrometrija masa uključuje dva važna postupka, prvi je ionizacija uzorka, a zatim slijedi razdvajanje i određivanje iona (9).

Spektrometar masa se sastoji od komore za bombardiranje, u koju se unosi mala količina uzorka u plinovitom stanju. Unutrašnjost spektrometra je pod vakuumom, što omogućava ionima prelazak puta od izvora do senzora bez sudara s drugim molekulama. Kod elektronske ionizacije (EI) uzorak se bombardira elektronima visoke energije pri čemu se molekule ioniziraju i nastaje pozitivni ion  $M^+$  koji se fragmentira (13):



Tako nastaju različiti fragmenti, a analizom se može zaključiti kakva je struktura dotičnog spoja i kolika mu je molekulska masa. Dobiveni ioni se razvrstavaju u analizatoru prema intenzitetu i veličini  $m/z$ . Ioni se na osjetljivom dijelu analizatora registriraju kao električni signal. Signal elektronskim sustavom biva zabilježen u memoriji računala i tako se dobiva spektar masa koji se obično prikazuje kao linijski dijagram s odnosom relativnog intenziteta i omjera mase i naboja fragmenata ( $m/z$ ) (Slika 8.) (13).



**Slika 8.** Primjer spektra masa

Način fragmentiranja u spektrometrima masa organskih spojeva u bliskoj je vezi s kidanjem veza u njihovim kemijskim reakcijama. Tumačenje samog fragmentiranja važno je za dokazivanje spoja (13).

### 1.6.3. VEZANI SUSTAV PLINSKA KROMATOGRAFIJA-SPEKTROMETRIJA MASA

Vežani sustav plinska kromatografija-spektrometrija masa (engl. „gas chromatography-mass spectrometry“, GC-MS) omogućava dobivanje velikog broja podataka uz korištenje minimalne količine uzorka.

Kod ove tehnike spektrometar masa djeluje kao vrlo osjetljiv detektor za plinsku kromatografiju i može djelovati kao opći (kada detektira sve fragmente  $m/z$  u zadanom intervalu) ili vrlo selektivni detektor (kada detektira samo određene fragmente  $m/z$  koji su karakteristični za pojedinu strukturu) (15).

Plinska kromatografija je uspješna metoda za separaciju i kvantizaciju, ali i nepouzdana za kvalitativno određivanje, gdje je spektrometrija masa gotovo savršena. Kombinacijom ovih dviju metoda se može postići visoka osjetljivost (do  $10^{-15}$  g) te se mogu analizirati smjese s velikim brojem komponenti relativno velikom brzinom (15).

Komponente smjese se odjeljuju u termostatiranoj koloni plinskog kromatografa, a zatim odijeljene komponente odlaze plinom nositeljem u detektor (spektrometar masa).

Dobiveni spektar masa se uspoređuje s računalnom bazom spektara masa te se određuje postotak slaganja na osnovu čega se može identificirati spoj. Još jedan važan podatak za identifikaciju spoja je vrijeme zadržavanja pojedinog spoja na koloni. Dakle, za svaki odijeljeni spoj vežani sustav GC-MS daje dva važna podatka za identifikaciju spoja: vrijeme zadržavanja spoja na koloni i spektar masa (15).



## 2. EKSPERIMENTALNI DIO

### 2.1. OPĆE KARAKTERISTIKE *BOSANSKOG SUDŽUKA*

*Bosanski sudžuk* (Slika 8.) je suha fermentirana kobasica koja se proizvodi u većim dijelovima Bosne i Hercegovine i ujedno je jedna od tradicionalnih trajnih kobasica na tom području. Za proizvodnju *Bosanskog sudžuka* koristi se meso starijih goveda (I, II i III kategorije u različitim omjerima) uz dodatak prsnog i leđnog loja u masenom omjeru mesa i loja: 85/15, 90/10 i 95/ (5).

Za punjenje *Bosanskog sudžuka* koriste se tanka crijeva goveda koja se prethodno čiste od masti. Obzirom da imaju ulogu povezati i oblikovati smjesu prilikom punjenja crijeva se trebaju dobro napuniti pazeći da ne ostane zraka. Ukoliko je postupak pravilno proveden dobiva se proizvod dobro povezanog nadjeva, umjereno mekane teksture, te umjereno sočan i ne previše suh. Osim što *Bosanski sudžuk* karakterizira slabo izražena aroma dima, on je umjereno slani proizvod s diskretnom kiselošću i umjereno izraženim mirisom i okusom na bijeli luk i crni papar. Boja u presjeku može biti umjereno do vrlo tamnocrvene boje, dok boja masnog tkiva može varirati od bijele do umjereno bijele boje. *Bosanski Sudžuk* se smatra gotovim kad izgubi oko 40 % od svoje prvotne mase (16).



**Slika 9.** *Bosanski sudžuk* (17)

## 2.2. IZBOR I PRIPREMA UZORKA

U ovom radu za izolaciju hlapljivih spojeva koristila su se tri komercijalna uzorka *Bosanskog sudžuka* (1,0 grama), od tri različita proizvođača: Uzorak I je bio od proizvođača *Semko* (Bosna i Hercegovina); uzorak II od *Bajra* (Bosna i Hercegovina) i uzorak III od *Gavrilović* (Hrvatska).

## 2.3. APARATURE

U ovom radu su korištene sljedeće aparature:

- tehnička vaga Adam PGW 1502i, Ujedinjeno Kraljevstvo
- vodenu kupelj s termostatom, Heidolph EKT 3001, Njemačka
- držač za mikroekstrakciju vršnih para na krutoj fazi, SupelcoCo., SAD
- sivo vlakno s ovojnicom divinilbenzen/karboksen/polidimetilsiloksan (DVB/CAR/PDMS) dužine 5 cm (SupelcoCo., SAD)
- vezani sustav plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS), AgilentTehnologies, Santa Clara, SAD: plinski model 7820A i spektrometar masa model 5977E MSD

## 2.4. IZOLACIJA HLAPLJIVIH SPOJEVA

1,0 g uzorka se stavi u staklenu posudu od 20 mL. Posuda se hermetički zatvori teflonskom PTFE/silikon septom te postavi u vodenu kupelj (40 °C), s termostatom. Na Slici 10. prikazana je korištena aparatura za mikroekstrakciju vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME).



Prije upotrebe, u skladu s uputama proizvođača, sivo vlakno aktivirano kondicioniranjem 60 min na 270°C i to postavljanjem SPME igle u injektor plinskog kromatografa. Nakon kondicioniranja, vlakna su odmah korištena za ekstrakciju vršnih para uzoraka (18).

**Slika 10.** Aparatura za mikroekstrakciju vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME) (18)

Za uzorke *Bosanskog sudžuka* korišteno je sivo vlakno s ovojnicom divinilbenzen/karboksen/polidimetilsiloksan (DVB/CAR/PDMS) dužine 5 cm (Slika 11).



**Slika 11.** Vlakna s ovojnica DVB/CAR/PDMS (sivo vlakno)

Nakon kondicioniranja uzorka (15 min), SPME igla je postavljena u posudu, a vlakno provodi ekstrakcija vršnih para u vremenu od 40 min. Nakon uzorkovanja, SPME vlakno je vraćeno u iglu, izvučeno iz posude i odmah postavljeno u GC-MS injektor (250 °C, 7 min), gdje je provedena toplinska desorpcija ekstrahiranih spojeva izravno u GC kolonu (19). Injektiranje uzoraka provedeno je ručno pomoću držača za HS-SPME (20).

## 2.5. GC-MS ANALIZA HLAPLJIVIH SPOJEVA

Analiza izoliranih hlapljivih spojeva *Bosanskog sudžuka* provedena je vezanim sustavom plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS), koristeći plinski kromatograf u kombinaciji s Agilent Technologies masenim detektorom, spojenim na računalo (Slika 12.). Analize su izvršene na koloni sa nepolarnom stacionarnom fazom HP-5MS ((5% fenil)-metilpolisiloksan; 30 m × 0,25 mm; debljina sloja stacionarne faze 0,25 μm, J&W, SAD).



**Slika 12.** Vezani sustav plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS)

Plin nositelj je helij protoka 1 mL/min; omjer cijepanja 1:50; temperatura injektora 250 °C; temperatura detektora 280 °C; energija ionizacije 70 eV. Temperatura peći je programirana kako slijedi: 0,0 min na 70 °C, zatim 70 – 200 °C s porastom od 3 °C/min i 18 min na 200 °C.

Identifikacija pojedinačnih spojeva provedena je usporedbom njihovih vremena s vremenima zadržavanja poznatih tvari iz začina origana. Osim toga identifikacija je provedena i usporedbom retencijskih indeksa (RI, u odnosu na C<sub>8</sub>-C<sub>28</sub> *n*-alkane za HP-5MS kolonu), kao i usporedbom njihovih spektara masa sa spektrima masa iz *WileyLibrary9MS* (Wiley, SAD) i *NIST14* (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, SAD) i /ili usporedbom s onima iz literature (14).

Za svaki uzorak analiziran vezanim sustavom GC-MS dobiveni su sljedeći rezultati:

- kromatogram ukupne ionske struje;
- vrijeme zadržavanja svake komponente (koja je na kromatogramu predstavljena pikom), odakle je izračunat retencijski indeks;
- relativni udio pojedine komponente izražen u postotcima (udio površine pika u ukupnoj površini);
- naziv spoja ili spojeva čiji spektar ili spektri su najbliži spektru nepoznate komponente pojedinog pika iz kromatograma ukupne ionske struje; sličnosti spektara koji se uspoređuju izraženi su vjerojatnošću u postotcima (21).

### 3. REZULTATI

#### 3.1. PRIKAZ REZULTATA

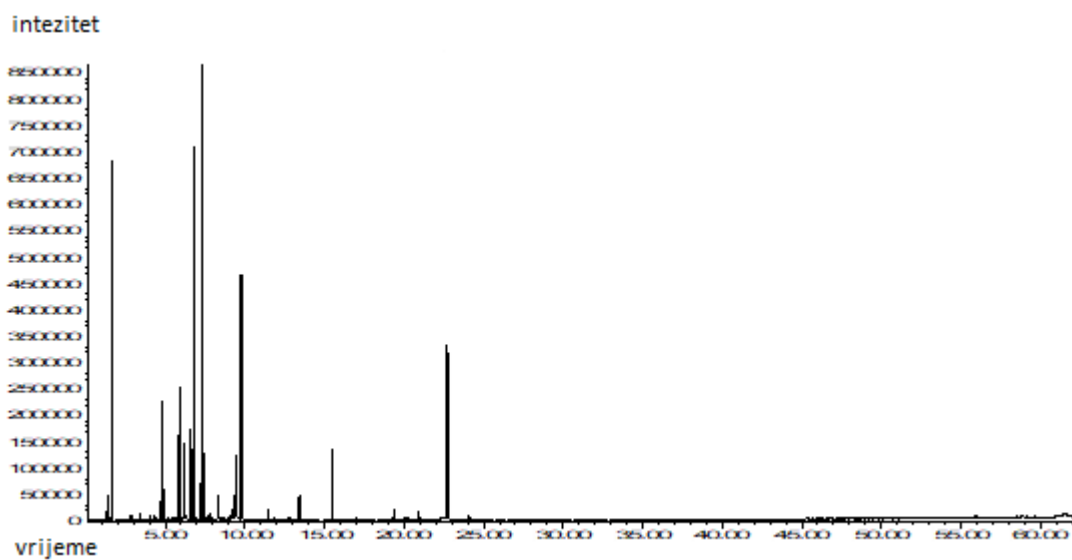
Hlapljivi spojevi *Bosanskog sudžuka* određeni su vezanim sustavom plinska kromatografija-spektrometrija masa GC-MS i to na koloni HP-5MS. Rezultati ispitivanja na vezanom sustavu su prikazani tablično, te u obliku kromatograma.

Tablica 1. Kemijski sastav i udio hlapljivih spojeva *Bosanskog sudžuka* (uzorak I) izolirani pomoću sivog vlakna

Redni broj	RI <sup>a</sup>	Spoj	Udio(%)
1.	<900	Heksan	1,92
2.	935	$\alpha$ -tujen	0,67
3.	942	$\alpha$ -pinen	4,26
4.	981	Sabinen	3,35
5.	976	$\beta$ -pinen	3,35
6.	994	$\beta$ -mircen	3,07
7.	1010	$\alpha$ -felandren	3,94
8.	1017	$\delta$ -3-karen	16,63
9.	1031	<i>p</i> -cimen	1,59
10.	1035	Limonen	22,11
11.	1065	$\gamma$ -terpinen	1,01
12.	1092	$\alpha$ -terpinolen	1,11
13.	1093	2-metoksifenol	4,13
14.	1103	Linalol	12,13
15.	1195	2-metoksi-4-metilfenol	1,77

<b>16.</b>	1249	karvon	4,25
<b>17.</b>	1422	<i>trans</i> - $\beta$ - kariofilen	11,71
<b><i>Ukupno identificirano (%)</i></b>		<b><i>97,17</i></b>	

<sup>a</sup>RI = retencijski indeks na koloni HP-5MS



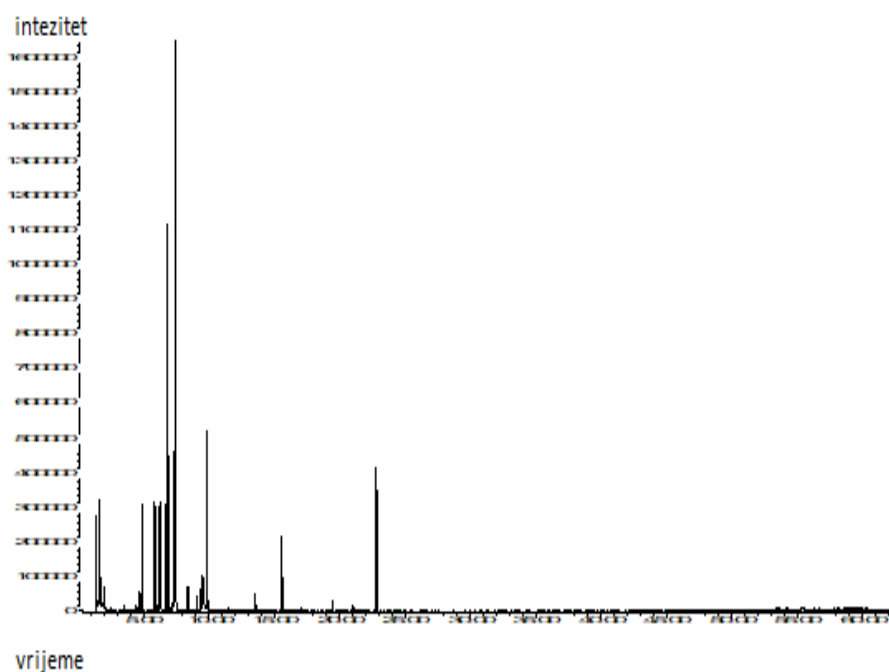
**Slika 13.** Kromatogram ukupne ionske struje hlapljivih spojeva *Bosanskog sudžuka* (za uzorak I) izoliran HS-SPME tehnikom



Tablica 2. Kemijski sastav i udio hlapljivih spojeva Bosanskog sudžuka (uzorak II)  
izolirani pomoću plavog i sivog vlakna

Redni broj	RI <sup>a</sup>	Spoj	Udio(%)
1.	<900	octena kiselina	2,35
2.	<900	metil-alil-sulfid	0,64
3.	935	$\alpha$ -tujen	0,70
4.	942	$\alpha$ -pinen	3,65
5.	981	Sabinen	3,68
6.	976	$\beta$ -pinen	3,92
7.	994	$\beta$ -mircen	4,05
8.	1010	$\alpha$ -felandren	4,38
9.	1017	$\delta$ -3-karen	16,25
10.	1031	<i>p</i> -cimen	2,29
11.	1035	Limonen	27,05
12.	1065	$\gamma$ -terpinen	1,05
13.	1092	$\alpha$ -terpinolen	0,94
14.	1093	2-metoksifeno l	2,53
15.	1103	Linalol	7,75
16.	1249	karvon	4,20
17.	1422	<i>trans</i> - $\beta$ -kariofilen	7,73
<b>Ukupno identificirano (%)</b>		<b>93,16</b>	

<sup>a</sup> RI = retencijski indeks na koloni HP-5MS



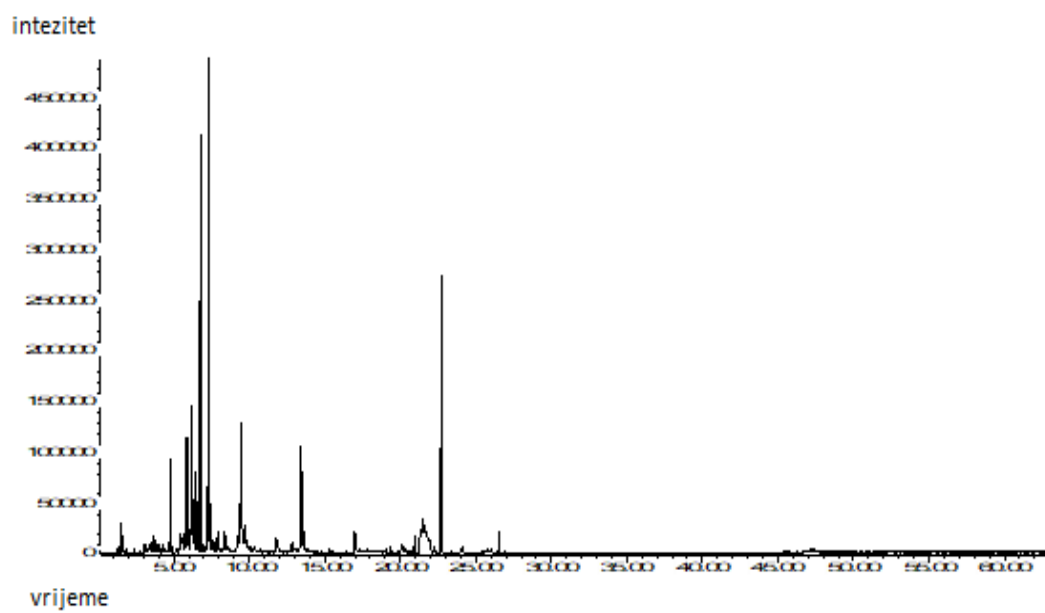
**Slika 14.** Kromatogram ukupne ionske struje hlapljivih spojeva *Bosanskog suđžuka* (za uzorak II) izoliran HS-SPME tehnikom

Tablica 3. Kemijski sastav i udio hlapljivih spojeva *Bosanskog suđžuka* (uzorak III) izolirani pomoću sivog vlakna

Redni broj	RI <sup>a</sup>	Spoj	Udio(%)
1.	<900	1,3-dimetilbenzen	0,64
2.	942	$\alpha$ -pinen	3,78
3.	964	Benzaldehid	0,36
4.	981	Sabinen	0,87
5.	976	$\beta$ -pinen	4,11
6.	994	$\beta$ -mircen	6,13

7.	1010	$\alpha$ -felandren	1,87
8.	1017	$\delta$ -3-karen	16,73
9.	1031	<i>p</i> -cimen	2,63
10.	1035	Limonen	21,36
11.	1043	( <i>Z</i> )- $\beta$ -ocimen	0,89
12.	1065	$\gamma$ -terpinen	0,68
13.	1077	3-metilfenol	1,50
14.	1092	$\alpha$ -terpinolen	0,70
15.	1093	2-metoksifeno 1	7,39
16.	1195	2-metoksi- 4-metilfenol	6,66
17.	1282	4-etil-2- metoksifeno 1	1,54
18.	1103	$\alpha$ -kopaen	0,88
19.	1422	<i>trans</i> - $\beta$ - kariofilen	13,17
20.	1515	4-metil-2,6- bis(1,1dimet iletil)fenol	0,94
<b>Ukupno identificirano (%)</b>			<b>92,83</b>

<sup>a</sup> RI = retencijski indeks na koloni HP-5MS



**Slika 15.** Kromatogram ukupne ionske struje hlapljivih spojeva *Bosanskog sudžuka* (za uzorak III) izoliran HS-SPME tehnikom

#### 4. RASPRAVA

Proizvodnja autohtonog dimljenog i sušenog *Bosanskog sudžuka* obuhvaća mnoge biokemijske i kemijske procese, koji ukoliko su sinkronizirani, daju *sudžuku* posebnu aromu. Nakon izolacije s metodom HS-SPME (s pomoću sivog vlakna) u uzorku I je identificirano 17 spojeva, što ujedno čini 97,17 % svih izoliranih i identificiranih spojeva.

Hlapljivi spojevi s najvišim postotkom u uzorku I su: limonen (22,11%), $\delta$ -3-karen (16,63 %), linalol (12,13 %) i *trans*- $\beta$ -kariofilen (11,71 %).

Ostali kvantitativno bitni spojevi u uzorku I su:  $\alpha$ -pinen (4,26 %), karvon (4,25 %), 2-metoksifenol (4,13 %),  $\alpha$ -felandren (3,94 %),  $\beta$ -pinen (3,35 %), sabinen (3,35 %) i  $\beta$ -mircen (3,07 %). Svi ostali identificirani sastojci u hlapljivim spojevima uzorka I prisutni su u količinama <2,0 %.

Izolacija pomoću HS-SPME te kvalitativna i kvantitativna analiza hlapljivih spojeva uzorka II izvršena je GC-MS tehnikom te je ukupno identificirano 17 spojeva što predstavlja 93,16 % površine kromatograma. Glavne hlapljive komponente uzorka II su: limonen (27,05%), $\delta$ -3-karen (16,25 %), linalol (7,75 %) i *trans*- $\beta$ -kariofilen (7,73 %).

Drugi bitni spojevi u uzorku II su:  $\alpha$ -felandren (4,38 %), karvon (4,20 %),  $\beta$ -mircen (4,05 %),  $\beta$ -pinen (3,92 %), sabinen (3,68 %),  $\alpha$ -pinen (3,65 %) i 2-metoksifenol (2,53 %).

U uzorku III identificirano je dvadeset spojeva što predstavlja 92,83 % udjela hlapljivih spojeva. Najzastupljeniji spojevi su: limonen (21,36%), $\delta$ -3-karen (16,73 %), *trans*- $\beta$ -kariofilen (13,17 %), 2-metoksi-4-metilfenol (6,66 %) i  $\beta$ -mircen (6,13%).

Osim navedenih spojeva drugi zastupljeni spojevi su:  $\beta$ -pinen (4,11 %),  $\alpha$ -pinen (3,78 %), 4-etil-2-metoksifenol (1,54 %) i 3-metilfenol (1,50 %).

U uzorku I jedino je pronađen heksan dok kod ostala dva uzorka nije identificiran. Uzorak II je jedini sadržavao octenu kiselinu i metil-alil-sulfid, organosumporni spoj s jakim mirisom karakterističnim za alil sulfide, a on je metabolit češnjaka.

1,3-Dimetilbenzen, benzaldehid, (*Z*)- $\beta$ -ocimen, 3-metilfenol, 4-etil-2-metoksifenol,  $\alpha$ -kopaen i 4-metil-2,6-bis(1,1dimetiletil)fenol, su prisutni samo u uzorku III.

U sva tri uzorka terpeni su skupina sa najvećim postotkom. Oni potječu od začina, a začini su važni u procesu proizvodnje *sudžuka*, gdje njihova količina može nekada preći i 5% od ukupne mase *sudžuka* (20). Također kod svih uzoraka su nađeni fenolni spojevi, derivati lignina kao što se 2-metoksifenol, 2-metoksi-4-metilfenol, 3-metilfenol i 4-etil-2-metoksifenol, iz čega je vidljivo da su *sudžuci* podvrgnuti dimljenju.

## 5. ZAKLJUČAK

Uzimajući u obzir dobivene rezultate, kao i raspravu ovog završnog rada može se zaključiti sljedeće:

- U uzorku I je identificirano 17 spojeva što predstavlja 97,17 % površine kromatograma.
- U uzorku II je identificirano 17 spojeva što predstavlja 93,16 % površine kromatograma.
- U uzorku III je identificirano 20 spojeva što predstavlja 92,83 % površine kromatograma.
- U analiziranim uzorcima najzastupljeniji spoj je limonenjer su upotrebljavani začini sa značajnijim udjelom terpena(21,36-27,05 %).
- Terpenilinalol (12,13-7,75 %) i karvon (4,25-4,20 %)su pronađeni u uzorku I i II.
- Najzastupljeniji fenolni spoj je 2-metoksifenol (2,53-7,39 %).
- 2-Metoksi-4-metilfenol (1,77-6,66 %) je pronađen u uzorku I i III.
- Od ostalih fenolnih spojeva: 4-etil-2-metoksifenol (1,54 %), 3-metilfenol (1,50 %)i 4-metil-2,6-bis(1,1-dimetietil)fenol su jedino pronađeni u uzorku III.
- Jedini organosumporni spoj koji potječe od češnjaka metil-alil-sulfid je pronađen u uzorku II.

## 6. LITERATURA

1. Kovačević D. Kemija i tehnologija mesa i ribe. Osijek. Grafika Osijek. 2001; 22-50.
2. Kaban G, Kaya M. Effect of starter culture on growth of *Staphylococcus aureus* in suck. *Food Control*. 2006; 17: 797-801. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.05.003>
3. <http://ustedite.ba/artikal/12196/sudzuk-1kg-semko-visoko/konzum/katalog/22.06.-28.06>. (preuzeto 06.09.2018.)
4. Toldra F, Flores M, Sanz Y. Dry-cured ham flavor: enzymatic generation and process influence. *Food Chemistry*. 1997; 59: 523-30. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.04.011>
5. Martin A, Cordoba JJ, Nunez F, Benito J, Asenio MA. Contribution of a selected fungal population to proteolysis on dry-cured ham. *International Journal of Food Microbiology*. 2004; 94: 55-66. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2003.12.018>
6. Tartaglia S. Utjecaj dozrijevanja i prženja na hlapljive spojeve Dalmatinskog pršuta. Diplomski rad. Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu. Split. 2007; 1-5.
7. O'Hare WT, Grigor J. Flavor generation in Food. *Chemistry and technology of flavors and fragrances*. Oxford, Blackwell Publishing Ltd: UK, 2005; 35-52
8. <http://seerural.org/wp-content/uploads/2018/04/Prirucnik-Tipicni-Proizvodi-BiH.pdf> (preuzeto 06.09.2018.)
9. Pawliszyn J. *Solid Phase Microextraction: Theory and Practice*. Wiley VCH. New York. USA. 1997; 185.
10. Hung CH, Lee CY, Yang CL, MR. Classification and differentiation of agarwoods by using non-targeted HS-SPME-GC/MS and multivariate analysis. *Analytical Methods*. 2014; 18: 7449-56. doi: <https://doi.org/10.1039/c4ay01151a>
11. Jerković I. Kemija aroma. Kemijsko-tehnološki fakultet. Sveučilišta u Splitu. Interna skripta. Split. 2011; 132.
12. Lovrić I. Aromatični profil brnistre. Diplomski rad. Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu. Split. 2017; 2-17.
13. Kasum A. Profil hlapljivih spojeva monoflornog meda drače (*Paliurus spina-christi*) Diplomski rad. Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu. Split. 2007; 4-18.



14. <http://www.holyoak.co/gas-chromatograph-labeled-diagram.html> (preuzeto 14.09.2018.).
15. El-Sayed AM. Thepherobase: databasofinsectpheromonesandsemiochemicals (2007). <http://www.pherobase.com>(preuzeto 14.04.2010.).
16. Kovačević D. Tehnologija kulena i drugih fermentiranih kobasica. Osijek, Grafika d.o.o.; 2014. p.p. 230-31.
17. [https://www.google.com/search?q=bosanski+sud%C5%BEuk&source=Inms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwiUrraqabdAhVBJcAKHaWPCpgQ\\_AUICigB&biw=1600&bih=794#imgrc=DaRGI2wnrDOKkM](https://www.google.com/search?q=bosanski+sud%C5%BEuk&source=Inms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwiUrraqabdAhVBJcAKHaWPCpgQ_AUICigB&biw=1600&bih=794#imgrc=DaRGI2wnrDOKkM) (preuzeto 06.09.2018.)
18. Marijanović Z. Primjena ultrazvučne ekstrakcije otapalom i mikroekstrakcije vršnih para na krutoj fazi za karakterizaciju meda. Doktorski rad. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek. Osijek. 2014; 34-5.
19. Nemeč Z. Profil hlapljivih spojeva curry (mješavine) začina. Veleučilište „Marko Marulić“ u Kninu, Odjel za Prehrambenu tehnologiju. Knin. 2017; 22.
20. Serreli G, Jerković I, Gil KA, Marijanović Z, Pacini VTuberoso CIG. PhenolicCompounds, VolatilesandAntioxidantCapacityof White Myrtle Berry Liqueurs,Plant Foods Hum Nutr. 2017; 72: 1-6. <https://doi.10.1007/s11130-017-0611-8>
21. Kaban G. VolatilecompoundsoftraditionalTurkishdryfermented sausage (Sucuk). InternationalJournalofFoodProperties. 2010; 13: 525-34.<https://doi.org/10.1080/10942910802688184>