

Identification and extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from smoked fish and their Effects on the quality, microbial, and fatty acid indexes

Kowsar Rezaei¹,
Masoud Hedayatifard²,
Esmail Fattahi³

¹ MSc Student, Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Science and Research Ayatollah Amoli Branch, Amol, Iran

² Assistant Professor, Department of Fisheries, Advanced Educational Center, Islamic Azad University, Qaemshahr Branch, Qaemshahr, Iran

³ Assistant Professor, Department of Biology, College of Basic Science, Islamic Azad University, Science and Research Ayatollah Amoli Branch, Amol, Iran

(Received August 9, 2013; Accepted October 5, 2013)

Abstract

Background and purpose: Cold-smoking is one of the most common ways to increase the shelf life of fish during storage.

Materials and methods: This study aimed to extract and measure the polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) carcinogens, using high-pressure liquid chromatography (HPLC)-mass, fatty acids profile, nutritional value, and bacterial community in three widely-used species of smoked fishes [Rutilus frisii (Kutum), Liza aurata, and Hypophthalmichthys molitrix] of Caspian Sea, Iran.

Results: Amounts of high molecular weight (HMW)-PAHs, as indicator of carcinogenic components in smoke, showed concentrations of 0.100, 0.039 and 0.033 $\mu\text{g}/\text{kg}$ in smoked Hypophthalmichthys molitrix, Liza aurata and Rutilus frisii, respectively ($P < 0.05$). The concentration of Benzo[a]Pyrene was calculated in Hypophthalmichthys molitrix and Rutilus frisii 0.001, and in Liza aurata 0.004 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($P < 0.05$). The amounts of ω -3 in Hypophthalmichthys molitrix, Liza aurata and Rutilus frisii were 15.79%, 11.18% and 8.74%, respectively ($P < 0.05$). The Poylen index amounts (EPA+DHA/C16) were 0.30% in, 0.13% and 0.14% in Hypophthalmichthys molitrix, Liza aurata and Rutilus frisii, respectively ($P < 0.05$). High correlation was considered between amounts of lipids and PAHs ($R^2 = 0.56$). Number of anaerobic bacteria in smoked Hypophthalmichthys molitrix, Liza aurata and Rutilus frisii was 5.26, 5.15 and 5.18 log ufc/g, respectively and amounts of total count (TC) was recorded 5.21, 5.23 and 5.20 in them, respectively ($P < 0.05$).

Conclusion: Contents of PAHs, quality indexes and bacterial community were at the accepted ranges and the suitable unsaturated fatty acids (UFA) and Poylen index were considerable in studied fish.

Keywords: Benzo[a]Pyrene, quality, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), smoked fish

شناسایی و استخراج هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای آروماتیک از بافت ماهیان دودی و اثرات آن بر روی شاخص‌های کیفی، میکروبی و ترکیب اسیدهای چرب

کوثر رضایی^۱مسعود هدایتی فرد^۲اسماعیل فتاحی^۳

چکیده

سابقه و هدف: دودی کردن سرد یکی از روش‌های قدیمی و رایج برای افزایش مدت زمان نگهداری ماهیان می‌باشد. **مواد و روش‌ها:** این مطالعه به استخراج و بررسی میزان هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای (PAHs) یا Polycyclic aromatic hydrocarbon (سرطان‌زا توسط High-pressure liquid chromatography (HPLC) و همچنین مقادیر اسیدهای چرب، ارزش غذایی و جمعیت باکتریایی در بافت ۳ گونه از ماهیان دودی پر مصرف شامل ماهیان سفید، کپور نقره‌ای و کفال طلایی پرداخته شد.

یافته‌ها: میزان PAHs با وزن مولکولی بالا به ترتیب در ماهی دودی کپور نقره‌ای، کفال طلایی و سفید عبارت بودند از ۰/۱۰۰، ۰/۰۳۹ و ۰/۰۳۳ میکروگرم بر کیلوگرم ($P < ۰/۰۵$). میزان Benzo(a)pyrene در ماهی کپور نقره‌ای و سفید ۰/۰۰۱ میکروگرم در کیلوگرم و در کفال طلایی ۰/۰۰۴ میکروگرم در کیلوگرم به دست آمد ($P < ۰/۰۵$). همین‌طور نتایج نشان‌دهنده فراوانی اسید چرب غیر اشباع در بافت این ماهیان دودی بود. مجموع ۳-۵ در ماهی کپور نقره‌ای، کفال طلایی و سفید به ترتیب ۱۵/۷۹ درصد، ۱۱/۱۸ درصد و ۸/۷۴ درصد بود. میزان شاخص EPA + DHA / C16 Polyene به ترتیب ۰/۳۰ درصد، ۰/۱۳ درصد و ۰/۱۴ درصد به دست آمد ($P < ۰/۰۵$). بین میزان چربی و PAHs رابطه همبستگی مثبتی مشاهده گردید ($r^2 = ۰/۵۶$). طبق نتایج به دست آمده میزان باکتری‌های بی‌هوازی در ماهی کپور نقره‌ای، کفال طلایی و سفید به ترتیب ۵/۲۶، ۵/۱۵ و ۵/۱۸ log CFU/g (لگاریتم تعداد کلنی تشکیل شده در هر گرم) و میزان TC (Total count) نیز به ترتیب ۵/۲۱، ۵/۲۳ و ۵/۲۰ log CFU/g به دست آمد ($P < ۰/۰۵$).

استنتاج: مقادیر PAHs، فاکتورهای کیفی و بار باکتریایی در محدوده مجاز بود و میزان اسیدهای چرب غیر اشباع (UFA) یا Unsaturated fatty acid) و شاخص غیر اشباعیت مناسب در ماهیان دودی مطالعه شده قابل توجه می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: اسید چرب، Benzo(a)pyrene، کیفیت، ماهی دودی، هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای

مقدمه

سود کردن، انجماد، بسته‌بندی، دودی کردن و روش‌های دیگر استفاده می‌شود. استفاده از دود حاصل از سوختن چوب دارای قدمت زیادی می‌باشد و به منظور حفظ و افزایش ماندگاری و ایجاد طعم‌های خاص و مطلوب می‌باشد. دود، ماده کربنی است که از سوخت عناصر آلی در چوب مانند فنل‌ها،

یکی از بزرگ‌ترین مشکلات مؤثر در صنعت شیلات جهان فساد ماهی است. به همین جهت لزوم به کارگیری روش‌های مختلف نگهداری و حفظ ماهی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در این زمینه از تکنیک‌های مختلفی مثل نمک

این مقاله حاصل پایان نامه به شماره ۲۳۹۵۰۴۰۳۹۰۲۰۴۸ مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات آیت الله آملی می‌باشد.

E-mail: persiafish@gmail.com

مؤلف مسئول: مسعود هدایتی فرد - قائم شهر: دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم شهر، دانشکده تحصیلات تکمیلی، گروه شیلات.

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات آیت الله آملی، آمل، ایران

۲. استادیار، گروه شیلات، دانشکده تحصیلات تکمیلی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم شهر، قائم شهر، ایران

۳. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات آیت الله آملی، آمل، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۵/۱۸ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۲/۶/۹ تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۷/۱۳

آلدییدها، اسیدها، هیدروکربن‌های فرار و غیره حاصل می‌شود (۱). از میان این ترکیبات، هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای (Polycyclic aromatic hydrocarbons) یا PAHs) به دلیل سمیت و ویژگی سرطان‌زایی، شاخص کیفی ماده غذایی دودی شده شناخته می‌شوند. اشکال مختلف ماهی عمل‌آوری شده (دودی، خشک شده، تخمیری) همچنان به عنوان روش سنتی مصرف و فروش ماهی در کشورهای در حال توسعه به شمار می‌رود، اما آمار منتشر شده میزان کاهش مصرف در سال ۲۰۱۰ را با ۸/۹ درصد نسبت به سال ۲۰۰۰ با ۱۰/۹ درصد نشان می‌دهد (۲).

به طور کلی، در یک هیدروکربن آروماتیک، پیوندهای دوگانه و یگانه‌ی جای‌گزینی با اتم‌های کربن برقرار است. جدا از مقادیر کم حاصل از منابع ژئوشیمیایی و طبیعی، ترکیبات PAHs به طور معمول از منابع انسانی حاصل می‌شوند (۳).

مصرف مواد غذایی دودی‌شده و حتی تنفس هوای آلوده به PAHs حاصل از دود چوب و سوختن محصولات کشاورزی یا خوردن گوشت‌های کباب‌شده و نیز مواد غذایی فرآوری‌شده با دود آلوده به این ترکیبات، باعث ورود آن‌ها به بدن انسان می‌شود. بریان کردن، دود دادن و یا کباب کردن غذا روی آتش، مقدار PAHs را در غذا افزایش می‌دهند. این ترکیبات در غلظت‌های بسیار بالا در گوشت‌های کباب‌شده توسط زغال دیده می‌شوند (۴، ۵).

پژوهش‌های انجام‌شده نشان داد که مولکول‌های PAHs به تنهایی سرطان‌زا نیستند، بلکه این مولکول‌ها باید در بدن به وسیله واکنش‌های متابولیزی تغییر یابند تا گونه سرطان‌زای واقعی تولید شود. نخستین تبدیل شیمیایی در بدن، تشکیل یک حلقه اپوکسید (Epoxide)، روی یک پیوند دوگانه کربن-کربن است (۶).

واکنش‌های سوخت و ساز، تشکیل اپوکسید و افزایش آب، بخشی از تلاش بدن برای وارد کردن گروه‌های OH در مولکول‌های آب‌گریزی مثل PAHs است تا به انحلال‌پذیری و حذف آن‌ها کمک کند. برای مولکول‌هایی مثل

Benzopyrene، یکی از محصولات حد واسط در این فرآیند می‌تواند به سمت تشکیل یک کاتیون بسیار پایدار که به مولکول‌هایی مانند DNA وصل شده است و به این طریق موجب سرطان می‌شود، کشیده شود (۵).

سرعت ورود PAHs به بدن تحت تأثیر حضور ترکیباتی است که شخص به طور هم‌زمان در معرض آن‌ها قرار می‌گیرد. جذب PAHs در اثر خوردن، اغلب کند است اما این ترکیبات می‌توانند در همه بافت‌های دارای چربی وارد شوند (۷). این ترکیبات تمایل زیادی به ذخیره شدن در کلیه و کبد دارند، ولی مقادیر کمی از آن‌ها در طحال و غده آدرنال نیز ذخیره می‌گردد (۸).

مطالعات انجام‌شده روی حیوانات بیانگر این امر است که PAHs تمایل به اقامت طولانی مدت در بافت‌های مختلف ندارند و بیشتر این ترکیبات پس از چند روز از بدن دفع می‌شوند؛ لیکن نوع و شدت تأثیراتی که PAHs بر سلامتی انسان دارند و به عوامل متعددی همچون میزان ورود این مواد به بدن، مدت تماس با این مواد، پاسخ بدن نسبت به ورود آن‌ها که با سن، جنس، وضع تغذیه و سلامت شخص متفاوت است و سرانجام به نوع منبع یا مسیر تماس با این گونه مواد وابسته است (۴). بنابراین، رژیم‌های غذایی حاوی PAHs‌ها به دلیل تماس طولانی با این ترکیبات، می‌توانند حساسیت به ترکیبات مشابه بعدی را افزایش دهند. از این رو، مقدار PAHs در بافت‌ها و مواد مختلف باید کنترل شود.

شدت اثر ترکیبات دود بستگی به غلظت دود و درجه حرارت دارد. نوع ماهی انتخابی برای دوددهی و نوع خاک اره، به طور معمول روی بافت، عطر (آروما) و سایر ویژگی‌های ارگانولپتیکی مثل مزه تأثیر می‌گذارد (۹). دمای پایین‌تر، اکسیژن کمتر، درجه حرارت معین، رطوبت مناسب و کنترل دقیق غلظت دود طعم بهتری به محصول می‌دهد و خاصیت نگهداری آن را نیز بیشتر می‌کند (۱۰). امروزه در دود ۳۶۰ نوع ترکیب شیمیایی شناخته شده است که مهم‌ترین آن‌ها ترکیبات فنولیک، اسیدی و کربنیل‌ها می‌باشند (۱۰). فنل‌ها دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند که رشد فساد را در

ماهی های چرب به تأخیر می اندازد (۴). بر اساس گزارش ها، BaP (Benzo(a)pyrene) می تواند به عنوان معیاری برای تأثیر PAHs های سرطان زا در مواد غذایی در نظر گرفته شود (۱۱). در سال ۲۰۰۸ اتحادیه مواد سالم اروپا ۸ نوع خاص از PAH (PAHs-8) را به عنوان PAH های سرطان زا معرفی کرد و موادی همانند Benzo(a)anthracene, Benzo(a)pyrene, Chrysene و Benzo(b)fluoranthene به عنوان سرگروه این دسته معرفی شدند (۱۲).

مواد و روش ها

در شهریور ماه ۱۳۹۱ از ۳ گونه ماهی استخوانی پر مصرف و اقتصادی دریای مازندران، سفید، کفال طلایی و کپور نقره ای ۳۶ نمونه دودی تازه از کارگاه دودی (مازندران، بابل) انتخاب شدند. هر گونه به دسته های ۳ تایی تقسیم شدند، سر و استخوان ها جدا شد و مابقی نمونه ها با هم میکس شدند. نمونه ها در بسته بندی های جداگانه طبق روش ارائه شده اتحادیه اروپا به آزمایشگاه برای آنالیزهای مربوطه منتقل شدند (۱۱).

ابتدا آزمون های بیوشیمیایی شامل تعیین و اندازه گیری پروتئین به روش کجگلدال، خاکستر و رطوبت با کوره الکتریکی (۱۷) و چربی به روش سرد (۱۸) انجام پذیرفت. شمارش کلی باکتری ها (Total count یا TC) و باکتری های بی هوازی (anaerobic bacteria یا ABs) به روش کشت پورپلیت (Iranian Standard) انجام شد و شناسایی پروفایل و ترکیب اسیدهای چرب به وسیله ی دستگاه کروماتوگرافی گازی (USP26-NF21 supplement- capillary gas chromatography) با دتکتور (FID) با لوله مویینه و ستون ۵۰ متر \times ۰/۲۵ میلی متر صورت گرفت (۲۰، ۱۹).

به طوری که پس از استخراج چربی، متیل استرها ی اسید چرب توسط استری شدن و آنالیز اسیدهای چرب نمونه ها توسط GC انجام شد، هلیوم به عنوان گاز حامل مورد استفاده قرار گرفت. طی یک برنامه حرارتی درجه حرارت تزریق ۲۵۰ درجه سانتی گراد، ردیاب ۲۶۰ درجه سانتی گراد، ستون ۱۵۵ درجه سانتی گراد و حجم تزریق ۱ میکرولیتر بود. دمای ستون ابتدا به مدت ۲ دقیقه در ۱۲۵ درجه سانتی گراد ثابت بود و سپس طی ۴ دقیقه دمای ستون به ۱۵۰ درجه سانتی گراد رسید.

اداره بهداشت و ایمنی حرفه ای (OSHA) یا Occupational safety and health administration در آمریکا حد متوسط مجاز PAH ها را در هوا ۰/۲ میلی گرم بر متر مکعب و در روغن ها ۵ میلی گرم بر متر مکعب در یک دوره زمانی ۸ ساعته اعلام کرده است. همچنین، در مورد آب، دوده، زغال و خاک آلوده به PAH ها، حد مجاز تماس با این ترکیبات ۳ میلی گرم در روز گزارش شده است. اما میزان حد مجاز تعیین شده توسط کمیسیون اروپا برای مجموع این ترکیبات در بافت ماهیان دودی ۳۰ میکروگرم در کیلوگرم و حد قابل قبول Benzo(a)pyrene که شاخص سرطان زایی دود می باشد در ماهیان دودی ۵ میکروگرم در کیلوگرم عنوان شده است (۱۳)، که در پژوهش های صنایع غذایی و فرآورده های دریایی مورد استناد قرار می گیرد.

ویژگی مخصوص ماهی که آن را بین سایر مواد غذایی حائز اهمیت خاص ساخته است، نوع چربی موجود در آن است (۱۴). اسیدهای چرب امگا-۳ موجود در چربی ماهی اثرات بسیار مهمی در سلامت انسان به عهده دارد و در پیش گیری از بسیاری بیماری ها و کنترل و کمک به بهبود اختلالات و عوارض مختلف نقش مهم و سازنده ای به عهده دارد (۱۵).

هدف از انجام مطالعه حاضر اندازه گیری میزان PAHs و مقایسه آن با مقادیر استاندارد و مجاز و نیز بررسی پروفایل و ترکیب اسیدهای چرب در بافت ماهی دودی به همراه ارزیابی بار باکتریایی و کیفیت در ماهیان دودی اقتصادی شامل ۳ گونه ماهی استخوانی پر مصرف شمال کشور، کفال طلایی

ماهی‌های کفال طلایی به ترتیب 924 ± 20 گرم و 38 ± 0.7 سانتی‌متر) و کپور نقره‌ای به ترتیب 1200 ± 100 گرم و 37 ± 4 سانتی‌متر بود.

ترکیبات بیوشیمیایی

مقادیر ارزش غذایی و ترکیبات بیوشیمیایی ماهیان دودی اقتصادی شمال کشور در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که بالاترین میزان پروتئین و چربی در ماهی دودی کفال طلایی به ترتیب با $46/96$ درصد و $7/84$ درصد برآورد گردید، در حالی که طبق بررسی‌های آماری فقط در میزان چربی کل اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($P < 0.05$).

جمعیت باکتریایی

میزان شمارش کلی TC برای ماهی کفال طلایی، سفید و کپور نقره‌ای به ترتیب برابر با $5/25$ ، $5/21$ و $4/89$ log ufc/g (لگاریتم تعداد کلنی تشکیل شده در هر گرم) بود. بالاترین میزان باکتری بی‌هوازی در ماهی کپور نقره‌ای با $5/26$ log ufc/g برآورد گردید. پس از آن ماهی سفید با تعداد $5/20$ و کفال طلایی با $5/17$ log ufc/g قرار داشتند ($P > 0.05$) (جدول شماره ۲).

ترکیب اسیدهای چرب

نتایج حاصل از ترکیب اسید چرب در بافت سه گونه ماهیان دودی مورد مطالعه که در جدول‌های ۳ و ۴ آورده شده است، نشان دهنده فراوانی اسید چرب غیر اشباع در بافت این محصولات است. در این بررسی میزان $\sum UFA$ (مجموع اسید چرب غیر اشباع) در ماهی سفید، کفال طلایی

این دما ۳ دقیقه ثابت ماند و طی ۳ دقیقه دما به 210 درجه سانتی‌گراد رسید و ۲۰ دقیقه نیز در این دما نگه داشته شد. سرعت گاز حامل 0.5 ، مقدار تزریق ۱ میکرومتر و نرخ شکافت (Split ratio) $1:10$ بود. متیل استرهای اسید چرب با استفاده از استانداردهای معرف (Sigma, Germany) تعیین شدند.

سپس سنجش و شناسایی مقادیر PAHs توسط دستگاه HPLC (Cecil Instruments)، ساخت انگلستان، مدل UV (Ce-4100) و آشکارساز توسط دو دکتور فلورسانس و (Ultaviolet) انجام شد (۱۵). نمونه‌ها در دستگاه فریز درایر خشک و به صورت پودر آماده شدند و پس از صابونی شدن، توسط آن-هگزان استخراج انجام شد و در نهایت با تزریق به دستگاه HPLC و تهیه ستون کروماتوگرافی مورد شناسایی کمی و کیفی قرار گرفتند (۲۱، ۶).

نتایج تمامی آزمون‌ها از میانگین سه تکرار به دست آمد. تجزیه و تحلیل آماری One way ANOVA با استفاده از برنامه نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۱/۵ (version 11.5, SPSS Inc., Chicago, IL) انجام شد و جهت تعیین اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها، از آزمون چند دامنه‌ای Tukey در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P < 0.05$) استفاده گردید. تست همگن بودن داده‌ها توسط Kolmogorov-smirnov انجام شد و نرمال بودن داده‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نمودارها با استفاده از برنامه نرم‌افزاری Excel نسخه ۲۰۰۳ ترسیم شد.

یافته‌ها

۳۶ نمونه ماهی دودی تازه بررسی شدند. میانگین وزن و طول ماهی‌های سفید به ترتیب 1100 ± 100 گرم و 45 ± 3 ،

جدول شماره ۱: میزان ارزش غذایی بافت ۳ گونه ماهی دودی اقتصادی (درصد)

نمونه ماهی دودی	چربی	خاکستر	رطوبت	پروتئین
انحراف معیار \pm میانگین	انحراف معیار \pm میانگین	انحراف معیار \pm میانگین	انحراف معیار \pm میانگین	انحراف معیار \pm میانگین
کپور نقره‌ای	$0.15 \pm 5/0.2$	$0.26 \pm 4/0.8$	$0.27 \pm 42/51$	$0.25 \pm 46/78$
کفال طلایی	$0.23 \pm 7/84^*$	$0.19 \pm 4/26$	$3.05 \pm 40/58$	$0.03 \pm 46/96$
سفید	$0.27 \pm 5/27$	$0.06 \pm 3/91$	$0.43 \pm 43/0.3$	$0.06 \pm 46/88$

میانگین حاصل از ۳ تکرار در محاسبه است.

* تنها این مورد با سایر ارقام اختلاف معنی‌دار آماری در تست جداساز Duncan داشت ($P < 0.05$)

جدول شماره ۲: نتایج میانگین کل بار میکروبی (log cfu/gr) بافت ۳ گونه

ماهی دودی اقتصادی		
شمارش بی هوازی	شمارش TC	نمونه ماهی دودی
انحراف معیار ± میانگین	انحراف معیار ± میانگین	
۰/۱۰ ± ۵/۲۵	۰/۱۱ ± ۵/۲۱	کپور نقره‌ای
۰/۰۴ ± ۵/۱۵	۰/۰۲ ± ۵/۲۳	کفال طلایی
۰/۰۴ ± ۵/۱۸	۰/۰۶ ± ۵/۲۰	سفید

میانگین حاصل از ۳ تکرار در محاسبه است.

در تست جداساز Duncan ارقام به دست آمده تفاوت آماری معنی داری نداشت.

با دو پیوند دو گانه بود.

بیشترین میزان $\omega-3$ برای ماهی کپور نقره‌ای با $15/79$ گرم در 100 گرم و بیشترین میزان $\omega-6$ برای ماهی سفید با $21/52$ گرم در 100 گرم به دست آمد ($P < 0/05$) (جداول شماره ۳ و ۴).

نسبت اسیدهای چرب $n-3$ در ماهی کپور نقره‌ای، سفید و کفال طلایی به ترتیب برابر $1/73$ ، $1/31$ و $0/40$ بود ($P < 0/05$). شاخص غیر اشباعیت (Polyen index یا PI) نسبت DHA + EPA (Eicosapentaenoic acid) به C16 (Docosahexaenoic acid) در کپور نقره‌ای $0/30$ و در کفال طلایی و سفید به ترتیب $0/13$ و $0/14$ به دست آمد ($P < 0/05$). در بررسی های آماری بین سه گروه نمونه، در بین اسیدهای چرب MUFA، SFA، $\omega-3$ و $\omega-6$ اختلاف معنی دار وجود داشت ($P < 0/05$).

شناسایی و سنجش PAHs

طبق جدول شماره ۵ و نمودار شماره ۱ میزان کلی PAHs با وزن مولکولی بالا (High molecular weight یا HMW) که به عنوان شاخص ترکیبات سرطانزا در دود محسوب می شوند، به ترتیب در ماهیان دودی کپور نقره‌ای، کفال

و کپور نقره‌ای به ترتیب برابر $57/51$ و $57/47$ و $56/57$ گرم در 100 گرم بود ($P > 0/05$). نسبت $\sum UFA$ (Unsaturated fatty acid) به $\sum SFA$ (Saturated fatty acid) در ماهی کفال طلایی، سفید و کپور نقره‌ای به ترتیب برابر با $2/73$ و $2/20$ و $1/64$ درصد بود ($P > 0/05$). در حالی که در نمونه‌های دودی کفال طلایی پالمیتوئیک اسید (C 16:1) با $18/49$ و کپور نقره‌ای اولئیک اسید (C 18:1) با $21/36$ گرم در 100 گرم و در زمره اسیدهای چرب تک غیر اشباع (MUFA یا Monounsaturated fatty acid) بود. در ماهی سفید بالاترین میزان اسید چرب مربوط به لینولئیک اسید (C18:2 n-6) با $16/21$ گرم در 100 گرم و از نوع امگا-۶ و

جدول شماره ۳: آنالیز پروفایل اسیدهای چرب نمونه‌های بافت ماهیان دودی اقتصادی (گرم در 100 گرم)

نام اسید چرب	تعداد کربن - پیوند	کفال طلایی	ماهی سفید	کپور نقره‌ای
		انحراف معیار ± میانگین	انحراف معیار ± میانگین	انحراف معیار ± میانگین
میرستیک	C14:0	۰/۱۱ ± ۶/۳۱ ^b	۰/۲۱ ± ۴/۵۱ ^a	۰/۳۵ ± ۴/۷۶ ^a
پالمیتیک	C16:0	۱/۳۵ ± ۱۶/۲۵ ^c	۰/۴۵ ± ۹/۳۶ ^b	۲/۲۵ ± ۲۳/۱۱ ^a
استئاریک	C18:0	۰/۲۶ ± ۳/۵۵ ^c	۱/۳۱ ± ۷/۱۴ ^a	۰/۶۵ ± ۶/۵۱ ^a
پالمیتوئیک	C16:1 n-7	۱/۰۵ ± ۱۸/۴۹ ^c	۰/۹۱ ± ۱۲/۰۵ ^b	۰/۰۵ ± ۹/۲۳ ^a
اولئیک	C18:1 n-9	۱/۳۳ ± ۱۸/۲۸ ^a	۱/۰۲ ± ۱۴/۲۲ ^b	۱/۵۰ ± ۲۱/۳۶ ^a
آراشیدیک	C20:1 n-9	۰/۰۵ ± ۱/۰۳ ^a	۰/۰۱ ± ۰/۹۸ ^a	۰/۱۲ ± ۱/۲۲ ^a
لینولئیک	C18:2 n-6	۰/۱۴ ± ۶/۱۷ ^a	۱/۲۱ ± ۱۶/۲۱ ^b	۰/۵۵ ± ۶/۳۲ ^a
آراشیدونیک	C20:4 n-6	۰/۴۵ ± ۲/۳۲ ^a	۰/۹۸ ± ۵/۳۱ ^b	۰/۰۹ ± ۲/۸۵ ^a
α -لینولئیک	C18:3 n-3	۰/۰۳ ± ۶/۴۷ ^a	۰/۰۶ ± ۵/۶۵ ^a	۰/۱۵ ± ۵/۷۸ ^a
EPA	C20:5 n-3	۰/۰۲ ± ۲/۰۷ ^c	۰/۱۰ ± ۱/۰۲ ^b	۰/۳۵ ± ۴/۵۵ ^a
DHA	C22:6 n-3	۰/۰۵ ± ۲/۶۳ ^b	۰/۱۱ ± ۲/۰۷ ^b	۰/۹۸ ± ۵/۴۶ ^a
مجموع شناسایی شده		۸۳/۵۸	۷۸/۵۲	۹۰/۹۵

میانگین حاصل از ۳ تکرار در محاسبه است.

اعدادی که حروف اندیس یکسان دارند (نظیر a) فاقد تفاوت آماری معنی دار ($P > 0/05$) و اعداد با حروف اندیس مختلف (نظیر a و b) دارای اختلاف معنی دار آماری ($P < 0/05$) در تست جداساز Duncan هستند.

جدول شماره ۴: ترکیب گروه‌های اسید چرب نمونه بافت ماهیان دودی اقتصادی (گرم در ۱۰۰ گرم)

گروه اسید چرب	نام	ماهی کفال طلایی انحراف معیار ± میانگین	ماهی سفید انحراف معیار ± میانگین	کپور نقره‌ای انحراف معیار ± میانگین
$\sum SFA$	مجموع اشباع	۲/۰۵ ± ۲۶/۱۱ ^c	۱/۳۱ ± ۲۱/۰۱ ^b	۱/۱۱ ± ۳۴/۳۸ ^a
$\sum UFA$	مجموع غیر اشباع	۳/۰۲ ± ۵۷/۴۷ ^a	۲/۴۱ ± ۵۷/۵۱ ^a	۳/۲۵ ± ۵۶/۶۸ ^a
MUFA	تک پیوند (مونون)	۱/۵۲ ± ۳۷/۸۰ ^c	۰/۹۸ ± ۲۷/۲۵ ^b	۱/۰۹ ± ۳۱/۸۱ ^a
PUFA	چند گانه (پلیتن)	۱/۲۱ ± ۱۳/۵۰ ^a	۰/۵۳ ± ۱۴/۰۵ ^a	۰/۱۲ ± ۱۸/۶۴ ^a
$\sum n-6$	مجموع امگا-۶	۰/۵۱ ± ۸/۴۹ ^a	۱/۰۳ ± ۲۱/۵۲ ^b	۱/۳۳ ± ۹/۰۸ ^a
$\sum n-3$	مجموع امگا-۳	۱/۰۵ ± ۱۱/۱۸ ^c	۰/۵۷ ± ۸/۷۴ ^b	۱/۱۴ ± ۱۵/۷۹ ^a
$\sum n-3 / \sum n-6$	نسبت امگا-۳ بر امگا-۶	۰/۰۱ ± ۰/۴۰ ^a	۰/۰۵ ± ۱/۳۱ ^b	۰/۱۱ ± ۱/۷۳ ^b
$\sum UFA / \sum SFA$		۰/۱۶ ± ۲/۷۳ ^a	۰/۱۴ ± ۲/۲۰ ^a	۰/۲۱ ± ۱/۶۴ ^a
EPA + DHA		۰/۶۴ ± ۴/۷۰ ^b	۰/۵۵ ± ۳/۰۹ ^b	۱/۳۵ ± ۱۰/۰۱ ^a
EPA + DHA / C16		۰/۰۲ ± ۰/۱۳ ^a	۰/۰۱ ± ۰/۱۴ ^a	۰/۰۲ ± ۰/۳۰ ^a
مجموع شناسایی شده		۸۳/۵۸	۷۸/۵۲	۹۰/۹۵

میانگین حاصل از ۳ تکرار در محاسبه است.

اعدادی که حروف اندیس یکسان دارند (نظیر **a**) فاقد تفاوت آماری معنی‌دار ($P > 0.05$) و اعداد با حروف اندیس مختلف (نظیر **a** و **b**) دارای اختلاف معنی‌دار آماری ($P < 0.05$) در تست جداساز Duncan هستند.

SFA: Saturated fatty acid, UFA: Unsaturated fatty acid, MUFA: Monounsaturated fatty acid, PUFA: Polyunsaturated fatty acid, EPA: Eicosapentaenoic acid, DHA: Docosahexaenoic acid

جدول شماره ۵: سنجش مجموع هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای آروماتیک در نمونه بافت ۳ گونه ماهیان دودی اقتصادی

نام فاکتورها	ماهی سفید میکروگرم در کیلوگرم	ماهی کفال طلایی میکروگرم در کیلوگرم	ماهی کپور نقره‌ای میکروگرم در کیلوگرم
Dibenzo(a,h) anthracene	۰/۰۱۵ ^a	۰/۰۱۲ ^a	۰/۰۱۱ ^a
Phenanthrene	۳/۴۶۸ ^a	۴/۶۲۵ ^b	۴/۱۰۸ ^b
Pyrene	۰/۰۸۲ ^a	۰/۰۶۵ ^b	۰/۰۶۰ ^b
chrysene	۰/۰۱۷ ^a	۰/۰۲۳ ^a	۰/۰۸۸ ^b
Benzo(a)pyrene "BaP"	۰/۰۰۱ ^a	۰/۰۰۴ ^b	۰/۰۰۱ ^a
Naphthalene	-	-	-
Acenaphthylene	-	-	-
Acenaphthene	-	-	-
Fluorene	-	-	-
Anthracene	-	-	-
Fluoranthene	-	-	-
Benzo (a) anthracene	-	-	-
Benzo (b)(k)fluoranthene	-	-	-
Indeno (1,2,3,-CD)pyrene	-	-	-
Benzo (g,h,i)perylene	-	-	-
مجموع PAHs های شناسایی شده	۳/۵۸۳ ^a	۴/۷۲۹ ^b	۴/۲۶۸ ^b

میانگین حاصل از ۳ تکرار در محاسبه است.

اعدادی که حروف اندیس یکسان دارند (نظیر **a**) فاقد تفاوت آماری معنی‌دار ($P > 0.05$) و اعداد با حروف اندیس مختلف (نظیر **a** و **b**) دارای اختلاف معنی‌دار آماری ($P < 0.05$) در تست جداساز Duncan هستند.

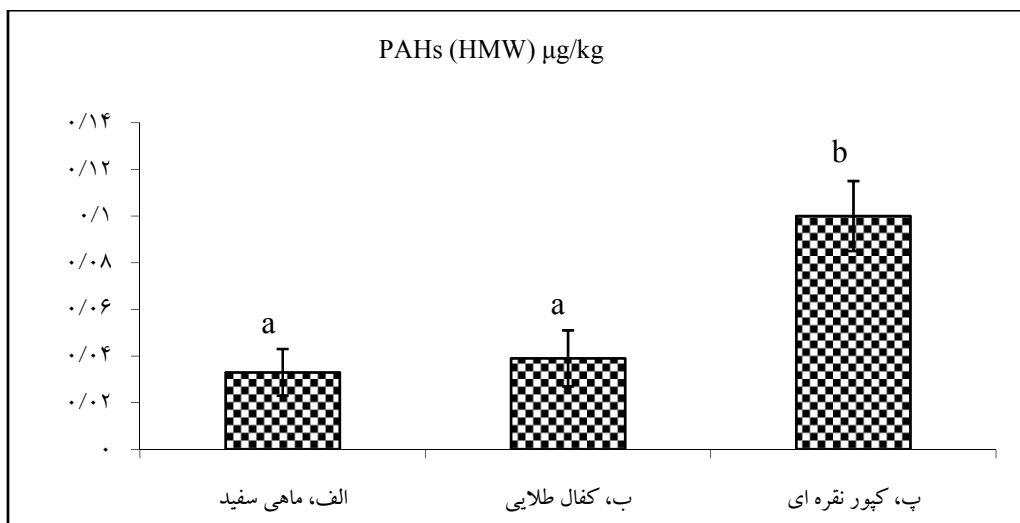
علامت (-) بیانگر عدم شناسایی یا عدم وجود هیدروکربن مورد نظر در نمونه بافت می‌باشد.

کپور نقره‌ای ۴/۲۶۸ و ماهی سفید ۳/۵۸۳ میکروگرم در کیلوگرم بود ($P < ۰/۰۵$).

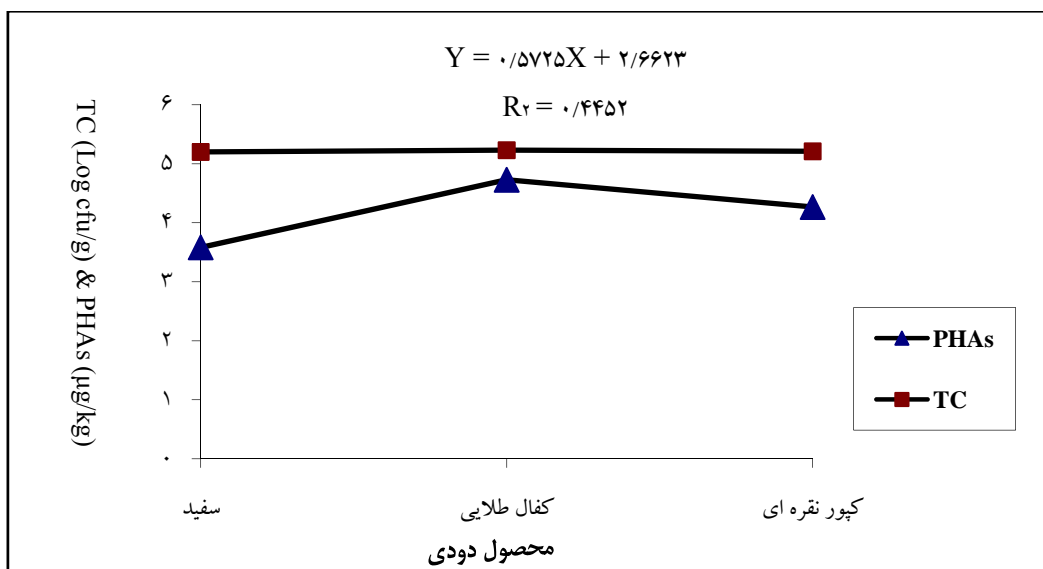
روابط همبستگی و فرمول‌های مربوطه میان مجموع PAHs و شاخص‌هایی همچون چربی، UFA، PUFA (Polyunsaturated fatty acid) و امگا-۶ در نمودارهای شماره ۲ تا ۵ مشخص شده‌اند.

طلایی و سفید عبارت بودند از ۰/۱۰۰، ۰/۰۳۹ و ۰/۰۳۳ میکروگرم در کیلوگرم.

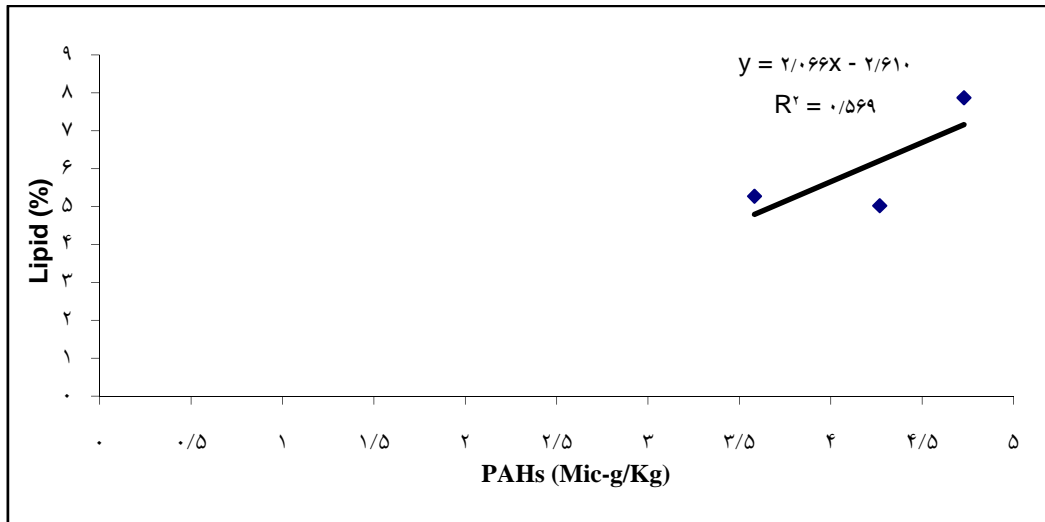
میزان Benzo(a)pyrene در ماهی سفید و کپور نقره‌ای ۰/۰۰۱ میکروگرم در کیلوگرم و در کفال طلایی ۰/۰۰۴ میکروگرم در کیلوگرم به دست آمد ($P < ۰/۰۵$). سطح کل PAHs در نمونه‌های دودی کفال طلایی ۴/۷۲۹،



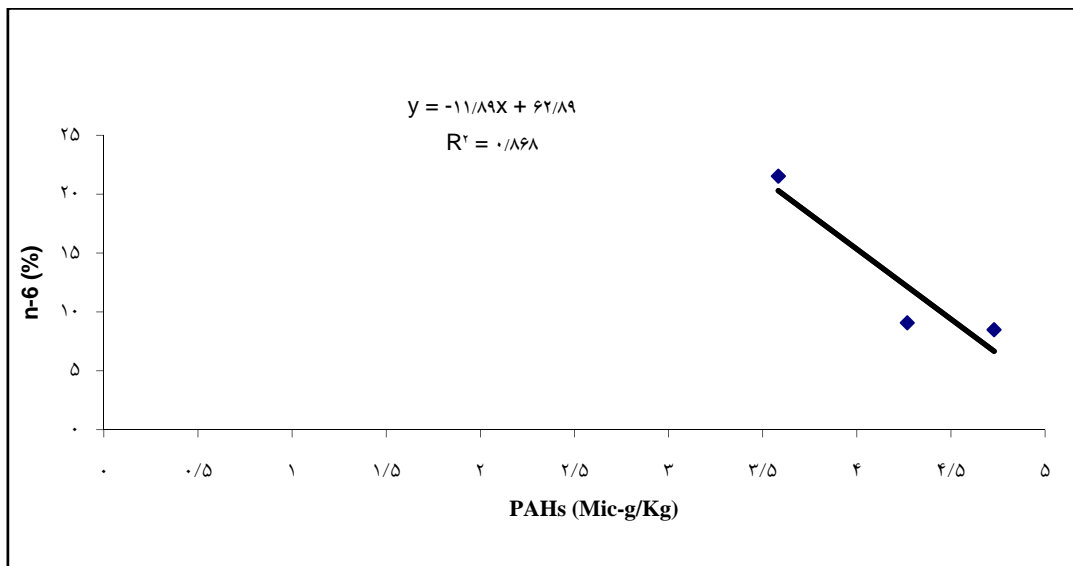
نمودار شماره ۱: مقادیر هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای آروماتیک با وزن مولکولی بالا در نمونه بافت سه گونه ماهی دودی (الف-سفید، ب- کفال طلایی، پ- کپور نقره‌ای)



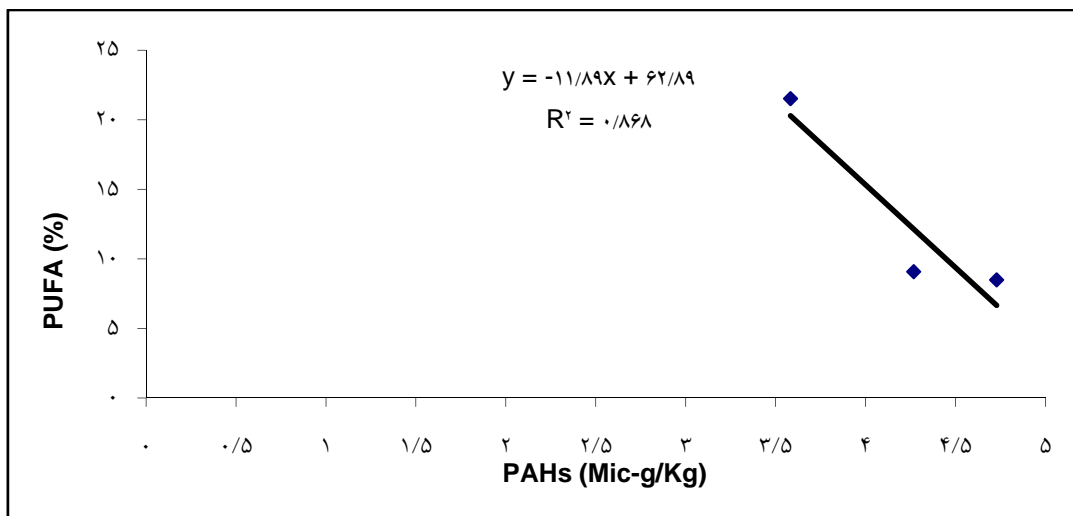
نمودار شماره ۲: تغییرات متقابل مقادیر هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای آروماتیک و جمعیت باکتریایی در نمونه بافت ماهیان دودی اقتصادی



نمودار شماره ۳: همبستگی میان چربی و PAHs در ماهیان دودی اقتصادی



نمودار شماره ۴: همبستگی میان n-6 و PAHs در ماهیان دودی اقتصادی



نمودار شماره ۵: همبستگی میان PUFA و PAHs در ماهیان دودی اقتصادی

بحث

ترکیبات بیوشیمیایی

نتایج نشان داد که میزان پروتئین در بافت سه گونه ماهی دودی دریای مازندران از ۴۶/۷۸ تا ۴۶/۹۶ درصد متغیر بوده است. یکی از فاکتورهای مهم در ماهیان دودی تأثیر دود بر میزان ارزش غذایی ماهیان است (۲۲). علت افزایش نسبی پروتئین، از دست دادن آب در طول نگهداری و مراحل دودی کردن و همچنین افزایش ترکیبات فرار بوده است (۲۳، ۲۴). در تحقیق مشابه دیگر در طی نمک سود کردن و خشک کردن برای ماهیان دودی سرد رطوبت به ۶۴ درصد و برای دودی گرم به ۶۰ درصد رسید (۲۵). درصد خاکستر به صورت قابل ملاحظه‌ای در طی فرایند دودی گرم و سرد تغییر نمی‌کند (۲۳) که ارقام نزدیک به نتایج به دست آمده در این پژوهش می‌باشد. درصد چربی برای هر دو روش دودی کردن افزایشی را در اثر فرآوری نشان می‌دهد. از طرفی سوابق نشان داده است که خشک سازی ماهی اثر مثبتی روی کیفیت آن دارد و موجب افزایش پارامترهای مغذی می‌شود (۲۲، ۲۶).

بار میکروبی

فرآیند دودی کردن رشد باکتری‌های عامل فساد را کاهش می‌دهد و باعث افزایش مدت زمان ماندگاری ماهی می‌شود. حد مجاز تعداد باکتری در ماهی دودی شده 10^6 واحد کلنی تشکیل شده در گرم می‌باشد (۵). در این پژوهش شمارش کلی باکتری‌ها بین $5/20$ تا $5/23$ LogCFU/g و برای باکتری‌های بی‌هوازی نیز از $5/15$ تا $5/25$ Log CFU/g متغیر بود که در محدوده مجاز و قابل مصرف قرار داشت (۲۵) و با نتایج تحقیقات مشابه هم‌خوانی داشت (۲۷). همچنین حاجی آقازاده رودسری (۲۸) و هاشمی کنتی و همکاران (۲۴) با ارزیابی ماهیان دودی کپور نقره ای دریافتند که با فرآیند شور و دودی کردن، مقدار کل باکتری‌ها کاهش می‌یابد و علت آن افزودن نمک و اعمال حرارتی است که طی دودی کردن، به ماهی داده می‌شود. اما نگهداری محصولاتی که به صورت سرد دودی شده‌اند

در شرایط محیطی می‌تواند جمعیت باکتریایی کل را پس از دو هفته به طور مجدد افزایش دهد و حتی به بالای محدوده مجاز مصرف برساند (۲۹، ۲۳).

اسیدهای چرب

در پژوهش کنونی میزان UFA با مقادیری بین ۲/۷۳ تا ۱/۶۴ گرم در ۱۰۰ گرم در سطح بالاتری نسبت به SFA قرار داشت و بیشترین میزان امگا-۳ در ماهی دودی کپور نقره‌ای با ۱۵/۷۹ درصد و بیشترین میزان امگا-۶ نیز در ماهی دودی سفید با ۲۱/۵۲ درصد دیده شد. مقادیر فوق با نتایج مطالعه Swastawati (۳۰) روی خامه ماهی و Stolyhwo و همکاران (۳۱) بر روی ماهی قباد مطابقت دارد.

همچنین Steiner و همکاران طی بررسی انجام شده در سه ماهی دودی شده ساردین (*Sardinella melanura*)، سیم ماهی (*Abramis brama orientalis*) و تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) دریافتند که دودی کردن، مقادیر اسیدهای چرب غیر اشباع ماهی را کاهش می‌دهد (۳۲). این کاهش بسته به نوع ماهی از لحاظ مقدار چربی متفاوت است (۱۵). در پژوهش کنونی نیز با وجود مقادیر بالای UFA شاهد حضور میزان قابل توجهی از SFA بودیم، به طوری که نسبت $\sum SFA / \sum UFA$ در نمونه‌های فوق بین ۱/۶۷ تا ۲/۷۳ متغیر بود. با این حال حضور قابل توجه اسیدهای چرب غیر اشباع با چند پیوند دوگانه (PUFA)، ارزش غذایی آن‌ها را افزایش خواهد داد (۳۳). از طرفی یکی از راه‌های تشخیص سلامت چربی اندازه‌گیری PI می‌باشد. این شاخص در مطالعه کنونی برای ماهیان دودی کفال طلایی، سفید و کپور نقره‌ای به ترتیب ۰/۱۳ و ۰/۱۴ و ۰/۳۰ به دست آمد که نشان‌دهنده کیفیت نه چندان بالای چربی بود. عنوان شده است که این مقادیر می‌تواند در شرایط مطلوب و ماهی تازه حتی به ۰/۸۰ نیز برسد (۳۴). البته در ماهیان دودی PI در همین محدوده اعلام شده است؛ به طوری که Swastawati (۳۰) این شاخص را ۰/۰۳ به دست آورد و اظهار نمود دودی کردن و بالا بودن حرارت دود باعث از بین رفتن یا کاهش مواد مغذی ماهی به

خصوص مقادیر DHA و امگا-۳ می‌شود. این نظر توسط Espe و همکاران (۳۵) و Silva و همکاران (۶) نیز تأیید شد. میزان UFA در ماهیان دودی یکی از عوامل افزایش میزان PAH در بافت ماهیان دودی می‌باشند (۶). از آن جایی که PAHs ترکیباتی چربی دوست (Lipophilic) می‌باشند، بنابراین افزایش میزان اسیدهای چرب در بافت ماهیان موجب جذب بیشتر این ترکیبات در حین دود دهی می‌شوند (۷).

هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای (PAHs)

با توجه به نمودارهای ۱ و ۲ و با عنایت به ضریب همبستگی نامطمئن بین مجموع PAHs و جمعیت باکتریایی ارتباط مستقیمی همراه با افزایش متقابل این پارامترها دیده نشد. به عبارت دیگر اگر چه هدف، بررسی محصولات تازه دودی شده بود، لیکن تأثیر کنترل PAH بر روی رشد جمعیت باکتری‌ها مشهود است. گزارش‌ها نیز از این حکایت دارند که ترکیباتی مثل هیدروژن، اسیدها، کربونیل و آلدئیدها و مشتقات آن‌ها در فرآیند تولید دود به وجود می‌آیند (۴، ۵) و به همین دلیل خاصیت قارچ‌کشی و میکروب‌کشی به ویژه در ترکیبات دود وجود دارد (۱۰، ۵). دود حاوی عناصر فنولیک نیز می‌باشد که مانع رشد میکروبی می‌شود (۲۲) و میزان فنولیک‌ها نیز یک فاکتور در کیفیت ماهی دودی به حساب می‌آید (۲۱، ۵).

مطابق نمودارهای ۳ تا ۵ و بر اساس روابط همبستگی، رابطه‌ای بین مقادیر PAHs و چربی موجود در بافت ماهی دودی وجود دارد. فرضیه این است که چربی ذوب شده از گوشت حرارت دیده روی سطح داغ دودخانه چکیده و مورد تجزیه حرارتی قرار می‌گیرد و به تولید PAHs می‌انجامد و با افزایش حجم دود، در نهایت روی سطح ماهی در حال دودی شدن ته‌نشین می‌شود. ترکیبات غذا مثل چربی، موجب می‌شوند که PAHs از طریق تجزیه گرمایی یا پلیمریزاسیون به وجود آیند و این مراحل مختلف حرارتی روی تولید PAHs اثر می‌گذرانند؛ بنابراین هر چه مقدار چربی بالاتر باشد مقدار PAHs بیشتر خواهد بود (۳۶).

در سوابق نیز عنوان شده است که هر چه حجم چربی غشای بیولوژیکی بافت بالاتر باشد سرعت جذب آلوده‌کننده‌ها بالاتر می‌شود (۷). بالاترین هیدروکربن‌های PAHs در محصول دودی بلافاصله بعد از دوددهی به دست می‌آید و اگر چه غلظت PAHs به تدریج به دلیل تجزیه شدن و واکنش با دیگر عناصر موجود در محیط کاهش می‌یابد (۲۱)، اما به هر حال بخشی از PAHs وارد بافت ماهی می‌شوند و در مقابل نور و اکسیژن محافظت می‌شوند. بنابراین پس از مدتی میزان PAHs در ماهی در میزان ثابت خاصی تثبیت می‌شود (۲۱). استفاده از چوب نیز برای تولید دود، باعث ایجاد مقدار قابل توجهی از PAH می‌شود.

در این مطالعه میزان PAH4 (گروهی چهار گانه از PAH با وزن مولکولی بالا شامل Benzo(a)pyrene، Benzo(a)anthracene، Benzo(b)fluoranthene و Chrysene) برای ماهیان سفید، کفال طلایی و کپور نقره‌ای به ترتیب برابر با ۰/۰۳۳، ۰/۰۳۹ و ۰/۱۰۰ میکروگرم در کیلوگرم بود، که از حد مجاز تعیین شده توسط اتحادیه اروپا برای مجموع این ترکیبات در بافت ماهی دودی (۳۰ میکروگرم در کیلوگرم) بسیار کمتر بود (۱۳).

اکثر PAHs سرطان‌زا، در گروه وزن مولکولی بالا قرار می‌گیرند (۳۷). در پژوهش حاضر بالاترین غلظت HMW در ماهی کپور نقره‌ای به دست آمد. غلظت کلی HMW به طور معمول بالاتر از دیگر وزن‌های مولکولی است (۳۸). نوع روش دودی کردن نیز روی تغلیظ PAHs مؤثر است، به طوری که نمونه‌های دودی شده با ذغال با حرارت ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد دارای کمترین میزان PAHs نسبت به روش هیزم و پوشال است (۶).

طبق اعلام اتحادیه اروپا در سال ۲۰۱۱ حد مجاز و قابل قبول Benzo(a)pyrene که شاخص سرطان‌زایی دود می‌باشد در ماهیان دودی ۵ میکروگرم در کیلوگرم تعیین شد. با مقایسه مطالعه کنونی میزان ماده فوق در هر سه گونه ماهی کمتر از حد مجاز بود. ماده Benzo(a)pyrene در سایر تحقیقات پیرامون ماهیان دودی نیز کمتر دیده شده است؛ به

و زمان تحویل آن به بازار برای خریدار و مصرف کننده مشخص نمی‌باشد.

بر اساس نتایج به دست آمده، فاکتورهای کیفی مناسب، بار میکروبی در محدوده مجاز، میزان مناسب UFA و شاخص PI مناسب در ماهیان دودی تهیه شده به روش سنتی در شمال ایران نشان دهنده ارزش تغذیه‌ای بالای این محصولات می‌باشد. همین طور از نظر حضور PAHs نیز در محدوده مجاز قرار داشتند و شاخص PAHs سرطان‌زا یعنی Benzo(a)pyrene نیز در محدوده مجاز اعلام شده، قرار داشت. دیگر یافته مهم پژوهش کنونی این است که چربی غیر اشباع موجود در بافت ماهیان حرارت دیده، هنگام دودی کردن مورد تجزیه حرارتی قرار می‌گیرد و به مقادیر PAHs می‌افزاید و در نهایت روی سطح ماهی در حال دودی شدن ته نشین می‌شود. در جمع بندی کلی، ماهیان دودی تهیه شده به روش دودی سرد در شمال ایران سالم است و خطری در ارتباط با مصرف این فرآورده شیلانی دیده نمی‌شود.

طوری که Charles Ikenna و Asuoha از چهار نمونه ماهی دودی تنها در دو نمونه مقادیر ۰/۰۲۲ و ۰/۰۳۲ میکروگرم در کیلوگرم از این ماده را استخراج نمودند (۸). در حالی که Mihalca و همکاران از پانزده نمونه ماهی دودی مورد مطالعه، میزان BaP را در ۶ نمونه که همگی توسط دود داغ ناشی از آتش مستقیم دودی شده بودند، بیشتر از میزان مجاز برآورد نمودند (۱۲).

از دیگر سو، میزان اسید چرب ماهی و دمای دوددهی روی میزان PAHs مؤثر است (۶) و محاسبات انجام شده در تحقیق حاضر نیز نزدیک به این نظریه بوده است؛ بدین ترتیب که بین میزان چربی کل و BaP رابطه همبستگی بالایی دیده شد. همبستگی بالایی نیز بین بار اسیدهای امگا-۶ و PAHs مشاهده شد که نشان دهنده تأثیر چربی و اسیدهای چرب تحت فرآیند دودی کردن بوده است.

یکی از محدودیت‌های قابل توجه در مطالعه کیفیت ماهیان دودی در بازارهای ایران، عدم اطلاع از کیفیت ماده خام و ماهیان قبل از انجام فرآیند است. همچنین تاریخ تولید محصول

References

- Iranian Standard Organization. Smoked Fish, Properties and Examinations, No. 5558 [Online]. [cited 2007]; Available from: URL: <http://www.isiri.org/portal/files/std/5558.pdf> (Persian).
- FAO. The state of world fisheries and aquaculture. Rome, Italy: Publishing Policy and Support Branch Office of Knowledge Exchange, Research and Extension; 2012.
- Nasrollahzadeh Saravi H, Pourgholam R, Unesipour H, Makhloogh A. Polyaromatic hydrocarbons (16PAHs) at the sediments and edible tissue of liza saliens and rutilus frisii kutum in Caspian Sea. J Mazandaran Univ Med Sci 2012; 22(94): 79-90. (Persian).
- Miler KM, Sikorski ZE. Smoking. In: Sikorski ZE, Editor. Seafood: resources, nutritional composition, and preservation. New York, NY: Taylor & Francis; 1990. p. 163-80.
- Doe PE. Fish Drying and Smoking: Production and Quality. New York, NY: Taylor & Francis; 1998.
- Silva B, Adetunde O, Oluseyi T, Olayinka K, Alo B. Effects of the methods of smoking on the levels of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in some locally consumed fishes in Nigeria. African Journal of Food Science 2011; 5(7): 384-91.
- Ershad Langroudi H. Evaluation and comparison of shelf-life of pahs compounds and their relation whit lipid content in Caspian Sea smoked fish: silver carp, kutum and stone fish [PhD Thesis]. Tehran, Iran: Islamic Azad University, Sciences Research Branch; 2004. p. 127. (Persian).
- Charles Ikenna O, Asuoha AN. Identification and quantitative analysis of carcinogenic pah components in four different species of traditionally smoked fish purchased in port-harcourt metropolis, rivers state, Nigeria. Journal of Applied Sciences in Environmental Sanitation 2012; 7(3): 215-9.
- Bolaji BO. Performance evaluation of a simple dryer for food preservation. Proceedings of the 6th Annual Engineering Conference Federal University of Technology; 2005 Jun 15-17; Minna, Nigeria; 2005.
- Hedayatifard M. Fish and shrimp processing technology. 1st ed. Tehran, Iran: Persia Fisheries Industries Co; 2002. p. 120. (Persian).
- Ial Journal of the European. Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs [Online]. [cited 2006

- Nov 20]; Available from: URL: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:364:0005:0024:EN:PDF/>.
12. Mihalca GL, Tita O, Tita M, Mihalca A. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in smoked fish from three smoke-houses in Brasov County. *J Agroal Pro and Technol* 2011; 17(4): 392-7.
 13. Official Journal of the European Union. Commission Regulation (EU) No 835/2011 of 19 August 2011 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs [Online]. [cited 2011 Aug 20]; Available from: URL: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:215:0004:0008:EN:PDF/>
 14. Ahmed EO, Ali ME, Kalid RA, Taha HN, Mahammed AA. Investigating the quality changes of raw and hot smoked oreochromis niloticus and clarias lazera. *Pakistan Journal of Nutrition* 2010; 9(5): 481-4.
 15. Ackman RG. Composition and nutritive value of fish and shellfish lipids. In: Ruiter A, Editor. *Fish and fishery products: composition, nutritive properties and stability*. Oxfordshire, UK: CAB International; 1995. p. 117-59.
 16. Iranian Fisheries Organization. *Manual Iranian Fisheries Statistics*. Tehran, Iran: Iranian Fisheries Organization; 2009. (Persian).
 17. Horwitz W. *Official Methods of Analysis of the AOAC International*. Gaithersburg MD: Association of Official Analytical Chemists; 2005.
 18. Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 1959; 37(8): 911-7.
 19. Hunt AO, Tekelioglu N. effect of dietary lipid sources on the growth and body fatty acid composition of sea bass *dicentrarchus labrax* L. 1758. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 2008; 7(8): 915-23.
 20. Hedayatifard M, Moeini S. Loss of omega-3 fatty acids of sturgeon *Acipenser stellatus* during cold storage. *International Journal of Agriculture and Biology* 2007; 9(4): 598-601.
 21. Simko P, Knezo J. Influence of cooking on benzo(a)pyrene content in frankfurters (short communication). *Nahrung* 1992; 36(2): 208-9.
 22. Olayemi Folorunsho F, Adedayo MR, Bamishaiye EI, Awagu EF. Proximate composition of catfish (*Clarias gariepinus*) smoked in Nigerian stored products research institute (NSPRI): Developed kiln. *International Journal of Fisheries and Aquaculture* 2011; 3(5): 96-8.
 23. Besharati N. Study on preparation of hot cold smoked trout in Iceland with emphasis on chemical and microbial changes during processing and Shelf life. *Pajouhesh & Sazandegi* 2008; (78): 183-92.
 24. Hashemi-Keneti F, Ershad Lagroudi H, Hedayatifard M, Safari R. Effects of cold smoking on the quality and shelf-time of silver carp (*Hypophthalmichthys Molitrix*) during four month storing at 4 & 22 °C, *Proceedings of the 1st National Conference Fish Aqua Science*; 2008 May 6-7; Lahijan, Iran; 2008.
 25. Burt JR. *Fish smoking and drying*. Philadelphia, PA: Elsevier Applied Science; 1988.
 26. Kumolu-Johnson CA, Aladetohun NF, Ndimele PE. The effects of smoking on the nutritional qualities and shelf-life of *Clarias gariepinus* (BURCHELL 1822). *African Journal of Biotechnology* 2010; 9(1): 73-6.
 27. Nyarko HD, Obodai EA, Coomson LK, Coomson SS, Aniwe Y. Microbial profile of smoked sardine (*Sardilella aurita*) AT smoking sites and market centres of Tema, Ghana-1. *Archives of Applied Science Research* 2011; 3(3): 443-53.
 28. Hajiaghazadeh Roudsari M. *Production of slice smoked from silver carp under vacuum packaging and chemical, microbial and organoleptic evaluations during storage [MSc Thesis]* Tehran, Iran: Islamic Azad University, North Tehran Branch; 2000. p.189.
 29. Lyhs U, Hatakka M, Maki Petays N., Hyytia E, Korkeala H. Microbiological quality of Finnish vacuum-packaged fishery products at retail level. *Archiv fur Lebensmittelhygiene* 1998; 49(6): 146-50.
 30. Swastawati F. The effect of smoking duration on the quality and dha composition of milkfish (*Chanos chanos F*) of milkfish (*Chanos chanos F*). *Journal of Coastal Development* 2004; 7(3): 137-42.
 31. Stolyhwo A, Kolodziejska I, Sikorski ZE. Long chain polyunsaturated fatty acids in smoked Atlantic mackerel and Baltic sprats. *Food Chemistry* 2006; 94(4): 589-95.
 32. Steiner-Asiedu M, Julshamn K, Lie Q. Effect of local processing methods (cooking, frying and smoking) on three fish species from Ghana: Part I. Proximate composition, fatty acids, minerals, trace elements and vitamins. *Food Chemistry* 1991; 40(3): 309-21.
 33. Hedayatifard M, Moeini S, Keyvan A, Yousefian M. Quantitative and qualitative identification of fatty acids in muscle of golden mullet (*Liza Aurata*). *Journal of Marine Sciences and Technology* 2002; 1(2): 73-8. (Persian).
 34. Hedayatifard M. Comparative study of fatty acid composition of golden mullet fillet and roe oil (*Liza aurata* Risso, 1810). *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances* 2009; 4(4): 209-13.
 35. Espe M, Nortvedt R, Lie Q, Hafsteinsson H. Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) as raw material for the smoking industry. I: effect of different salting methods on the oxidation of lipids. *Food Chemistry* 2001; 75(4): 411-6.

36. Chen J, Chen S. Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons by low density polyethylene from liquid model and roasted meat. Food Chemistry 2005; 90(3): 461-9.
37. European Food Safety Authority. Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain on a request from the European commission on polycyclic aromatic hydrocarbons in food. The EFSA Journal 2008; (724): 1-114.
38. Palm LM, Carboo D, Yeboah PO, Quasie WJ, Gorleku MA, Darko A. Characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons (Pahs) present in smoked fish from Ghana. Advance Journal of Food Science & Technology 2011; 3(5): 332.