

## BRIEF REPORT

# **Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (16PAHs) Residue and Potency Equivalency Factor in Edible tissue of Cyprinus Carpio from Caspian Sea**

Hasan Nasrollahzadeh Saravi<sup>1</sup>,  
Horieh Unesipour<sup>1</sup>,  
Nima Pourang<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Assistant Professor, Department of Environment, Caspian Sea Ecology Research Center (CSERC) Sari, Iran

<sup>2</sup> Institute of Fisheries Research Organization, Tehran, Iran

(Received September 8 , 2013 ; Accepted May 11, 2014)

### **Abstract**

**Background and purpose:** Hydrocarbons such as Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) are considered as priority organic compounds pollutants of the Caspian Sea due to their high toxicity nature. Increasing the concentration of hydrocarbons in the environment has adverse effect on aquatic life and human health. This study was conducted to determine the 16 Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (16PAHs) concentrations in the edible tissue of *Cyprinus Carpio* in the Caspian Sea..

**Material and Methods:** A total of 28 samples of fish were collected during winter and spring. All samples were prepared by Soxhlet and extracting processes and then determined using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) instrument.

**Results:** Results showed that pattern of 16PAH compounds were obtained in 82% of samples (23 samples out of 28) for 3, 4 and 5 rings. The mean concentration and standard error ( $\pm$ SE) of edible tissue of *Cyprinus Carpio* mussels were observed 2.21 ( $\pm$ 0.42)  $\mu$ g/g.dw.

**Conclusion:** We observed Pyrene (75%), Fluorathene (61%), Benzo (a) pyrene (43%) and Chrycene (36%) in edible tissue of *Cyprinus Carpio*. Hence, consumption of this fish could endanger human health.

**Keywords:** Oil pollution, *Cyprinus Carpio*, Caspian Sea, Iran

J Mazandaran Univ Med Sci 2014; 24(113): 209-214 (Persian).

## تعیین فاکتور معادل سمعیت و باقی مانده ترکیبات هیدروکربن‌های پلی آروماتیک در بافت خوراکی ماهی کپور دریای خزر

حسن نصرالله زاده ساروی<sup>۱</sup>

حوریه یونسی پور<sup>۱</sup>

نیما پورنگ<sup>۲</sup>

### چکیده

**سابقه و هدف:** هیدروکربورهای نفتی از جمله ترکیبات آروماتیک چند حلقه‌ای است که به دلیل به سمتی بالا یکی از منابع آلوده کننده دریای خزر محسوب می‌شود. افزایش غلظت این هیدروکربن‌ها در محیط زیست، علاوه بر اثرات منفی بر زندگی آبزیان، بر سلامتی انسان نیز اثرات سوء دارد. این مطالعه به بررسی غلظت ترکیبات نفتی polycyclic Aromatic Hydrocarbon ۱ در بافت خوراکی ماهی کپور دریای خزر در سال ۱۳۸۹ می‌پردازد.

**مواد و روش‌ها:** ۲۸ نمونه ماهی کپور در پرهای صیادی و به وسیله تراول طی فصول زمستان و بهار تهیه شد. نمونه‌ها پس از آماده سازی به روش استاندارد و بواسیله دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا اندازه گیری گردید. **یافته‌ها:** در ۸۲ درصد نمونه از ماهیان (۲۳ نمونه) ترکیبات ۳، ۴ و ۵ حلقه‌ای ۱۶PAHs شناسایی شد. نتایج نشان داد که میانگین و خطای معیار غلظت ۱۶ PAHs در بافت خوراکی ماهی کپور دریای خزر برابر با  $2/21 \pm 0/42$  میکروگرم بر گرم وزن خشک بوده است.

**استنتاج:** فراوانی ترکیباتی همچون Pyrene و Chrysene Benzo(a)pyrene، Fluoranthene و Benzo(a)pyrene در بافت خوراکی ماهی کپور دریای خزر به ترتیب ۷۵، ۶۱، ۴۳ و ۳۶ درصد بود و همچنین ترکیب Benzo(a)pyrene دارای بالاترین شاخص معادل سمتی در میان هشت ترکیب سرطان‌زا بوده است. بنابراین مصرف این گونه ماهی‌ها توسط انسان می‌تواند با ریسک همراه باشد.

### واژه‌های کلیدی: آلانده نفتی، ماهی کپور، فاکتور معادل سمعیت

### مقدمه

که منشاء آن حمل و نقل دریایی، صایعات پالایشگاه‌های نفت و گاز و حوادث غیر متوجه است.<sup>(۲)</sup> افزایش غلظت هیدروکربن‌ها در محیط زیست بر زندگی آبزیان و سلامتی انسان اثرات منفی می‌گذارد.<sup>(۳)</sup>

در سال‌های اخیر، آلودگی دریاها و اقیانوس‌ها، به دلیل اهمیت آن برای آبزیان و در نهایت انسان به مسئله‌ای جدی و قابل بحث در سطح جهان تبدیل شده است.<sup>(۱)</sup> یکی از مهم‌ترین آلانده‌های اقیانوس‌ها و دریاها و نیز دریای خزر، هیدروکربن‌های نفتی است

E-mail: hnsaravi@yahoo.com

مؤلف مسئول: حسن نصرالله زاده-ساری، فرج آباد، پژوهشکده اکولوژی دریایی خزر، ص.پ. ۹۶۱

۱. پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری، ایران

۲. موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، پیکان شهر، تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۶/۱۷ تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۱۰/۸ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۳/۲/۲۱

مناطق ذکر شده تهیه گردید. هر کدام از نمونه های ماهی کپور دریای خزر، در فویل آلومنیومی جداگانه قرار داده شد و تا رسیدن به آزمایشگاه در داخل یخچال و یا در کنار یخ نگهداری گردید. غلظت ترکیبات نفتی در نمونه ها پس از انجام فرآیندهای سوکسیله (Soxhlet)،<sup>۱</sup> صابونی کردن (Saponification)،<sup>۲</sup> extractor جداسازی و پاک سازی (Clean up) و بوسیله دستگاه HPLC، CECIL، CE4900 با شناساگر ماورای بنسن (nm ۲۵۴) و فلورسانس (nm ۲۷۴-۳۹۰) و با استفاده از استاندارد مرجع (Restek ۳۱۴۵۵) اندازه گیری شد.<sup>۱۱</sup> در ضمن مرجع (LOQ) به ترتیب در محدوده ۰/۰۰ تا ۱۰ و ۰/۸۳ تا ۳۰ میکرو گرم بر گرم برای ترکیبات مختلف بوده است. تغییرات پارامتر های زیستی طول چنگالی، وزن و سن ماهی کپور به ترتیب برابر با  $23/93 \pm 1/09$ ،  $50/37$  و  $10/80$  سانتی متر،  $110-865$  (۱۱۰-۸۶۵) گرم و ۲ تا ۵ سال بوده است.

تحلیل داده در نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۱/۵ انجام شد. برای تجزیه و تحلیل آماری از آزمون های پارامتریک برای داده های نرمال (با انتقال داده با رتبه بندی و تأیید آزمون شاپیرو- ولیک) در استفاده گردید.<sup>۱۲</sup> جهت طبقه بندی داده ها از آزمون مؤلفه PCA= Principal Component Analysis که اصلی روش ریاضی برای تقلیل داده ها است استفاده شده است.<sup>۱۳</sup> آزمون شایستگی داده ها (کفایت نمونه برداری) تحت آزمون کیزرمایر (KMO= Kaiser-Meyer-Olkin Test) انجام شد<sup>۱۴</sup> (۰/۱۵). سنجش PEFs=Potency Equivalency (Factor Smiit) یکی از روش های معمول برای شناسایی سمیت ترکیبات PAHs در اکوسیستم است. میزان انفرادی PEFs برای اجزای ترکیبات PAHs توسط محققین مختلف در مقالات زیادی گزارش شده است در تحقیق حاضر از منبع USEPA در سال ۱۳۹۵ استفاده شده است.<sup>۱۵</sup> تعیین غلظت معادل سمیت

هیدروکربورهای نفتی دارای مشتقات مختلفی می باشند که ترکیبات آروماتیک چند حلقوی (PAHs= Polyaromatic Hydrocarbons) جمله اند. در مجموع بیش از یکصد نوع ترکیبات PAHs دارای دو و تعداد بیش تر حلقه بتزنی یا آروماتیک شناسایی شده است.<sup>۱۶</sup> آژانس حفاظت محیط زیست (USEPA= United States Environmental Protection Agency) آلانده های آروماتیک شاخص لیست کرده است که شامل موارد زیر است: Naphthalene (Nap) Anthracene (Ant) Acenaphthylene (Acy) Acenaphthene Fluorene (Flr) Phenanthrene (Phe) Chrysene (Chry) Benz(a)anthracene (BaA) (Ace) Benzo(b) Pyrene (Pyr) Fluoranthene (Fla) Dibenz (a,h) anthracene (DibA) fluoranthene (BbF) Benzo(a)pyrene (BaP) Benzo(k)fluoranthene (BkF) Benzo(ghi) perylene Indo(1,2,3-cd) pyrene (InP) (BghiP)<sup>۱۷</sup>. در سال های اخیر، مطالعاتی جهت اندازه گیری ترکیبات نفتی در ماهیان دریای خزر صورت گرفته است، که از میان آن ها می توان به تحقیقات نصراله زاده ساروی و همکاران در سال ۱۳۸۳<sup>۱۸</sup>، نصراله زاده ساروی و همکاران در سال ۱۳۹۱<sup>۱۹</sup>، عین اللهی و همکاران در سال ۲۰۱۲<sup>۲۰</sup> اشاره نمود. با توجه به این که ماهی کپور (Cyprinus Carpio) یکی از ماهیان اقتصادی دریای خزر محسوب می شود<sup>۲۱</sup> لذا اندازه گیری ترکیبات نفتی به منظور تعیین غلظت معادل سمیت در بافت خوراکی ماهی کپور و همچنین مقایسه آن با مطالعات اخیر حائز اهمیت است.

## مواد و روش ها

۲۸ نمونه ماهی کپور دریایی در پره های صیادی (لاریم، نوزد آباد، جهان نما و بهشتی) و به وسیله تورترال (کشتی تحقیقاتی پژوهشکده) طی فضول و در

این ترکیبات را دارند. همچنین نتایج نشان داد که ترکیبات با وزن مولکولی کم (دارای بیشترین فراوانی حضور و غلظت در آب و رسوبات) بیشترین فراوانی را در این گونه از ماهی دارند. این نکته بیانگر آن است که ترکیبات ۳ حلقه‌ای هم از طریق آب (توسط برانش) و هم از طریق تغذیه از موجودات کفزی وارد بدن ماهی می‌شود و در بافت خوراکی آن‌ها تجمع می‌یابد. همان طوری که Neff در سال ۱۹۸۵ (۱۸) نیز در تحقیقات خود عنوان نمود این ترکیبات به راحتی توسط ماهیان و ارگانیزم‌هایی که در معرض آب، رسوبات و غذا قرار دارند جذب شده و حتی غلظتشان چند برابر بیشتر نیز می‌شود. همچنین Neff در سال ۱۹۷۹ (۱۹)، Potrykus و همکاران در سال ۲۰۰۳ (۲۰) تجمع ترکیبات ۳ و ۴ حلقه‌ای آروماتیک در ماهی را ناشی از منبع پتروژئنیک در منطقه مورد نظر بیان نمودند. نتایج مطالعه نصراله زاده ساروی و همکاران که در سال ۱۳۸۹ (مشابه زمانی تحقیق حاضر) انجام پذیرفت. نشان داد که تجمع ترکیبات آروماتیک با وزن پایین و متوسط بیش از ۹۵ درصد بوده است که بیانگر آلوده بودن این ماهی به منابع پتروژئنیک در نواحی مختلف حوزه جنوبی دریای خزر می‌باشد اگرچه این منبع حداقل ۱۵ درصد از منشاء آلودگی را در آب شامل گردید.

چربی نقش مهمی در تجمع این ترکیبات در بافت آبزیان دارد. ساده‌تری پور و شریعتی در سال ۱۳۸۰ (۲۱) گزارش کردند که ماهیان پر چرب نظیر ماهی آزاد خیلی راحت‌تر از ماهیان کم چرب بدطعم می‌شوند زیرا تجمع ترکیبات نفتی در آن بیشتر می‌باشد. نصراله زاده ساروی و همکاران در سال ۱۳۸۳ (۲۲، ۷) گزارش کردند از ۲۰ ماهی آزاد آنالیز شده ۱۲ نمونه (۶۰ درصد) دارای ترکیبات ۳، ۲ و ۴ حلقه‌ای ۱۶PAHs بوده اند در حالی که این ترکیبات در ۴ نمونه (۲۰ درصد) از و ماهی‌های سوف آنالیز شده دیده شد. بالاتر بودن چربی در ماهی آزاد و نیز تجمع بیشتر ترکیبات ۱۶PAHs در بافت چرب سبب شده است تا ترکیبات فوق در تعداد

(TEQs= Toxic Equivalency Quotients) مجموع مقادیر به دست آمده از PEF و غلظت ترکیبات PAH<sub>carcino</sub> با معادله ذیل محاسبه شد:

$$\text{TEQ} = \sum(C_i * \text{PEF}_i)$$

به طوری که TEQ غلظت معادل سمیت، PEF<sub>i</sub> فاکتور معادل سمیت و C<sub>i</sub> غلظت هر یک از ترکیبات PAH<sub>i</sub> می‌باشد.

## یافته‌ها و بحث

غلظت ترکیبات ۱۶PAHs در بافت ماهیان مختلف متفاوت است و این تفاوت به عوامل متعددی از جمله زمان در معرض گذاری، درصد چربی، نوع تغذیه و متابولیسم این ترکیبات در ماهیان وابسته است (۱۷). نصراله زاده ساروی و همکاران در سال ۱۳۹۲ (۸) گزارش کردند که غلظت ترکیبات PAHs در آب و رسوبات نواحی غربی و شرقی حوزه جنوبی دریای خزر قابل ملاحظه بوده است و غلظت آن‌ها در آب بیش از حد مجاز بوده است. بنابراین این گونه در محیطی (ناحیه شرقی که زیستگاه اصلی این گونه می‌باشد) قرار دارد که غلظت این ترکیبات قابل ملاحظه باشد. در نتایج تحقیق حاضر نیز بیانگر آن است که در بیش از ۸۰ درصد ماهیان کپور مورد آزمایش، ترکیبات پلی آروماتیک وجود دارد که همسو با مطالعه است. در مطالعه حاضر ترکیبات Phenanthrene، Benzo(a)anthracene، Pyrene، Fluoranthene، Benzo(b)(k)fluoranthene، Chrysene، Dibenzo(a,h)anthracene و Benzo(a)pyrene در بافت خوراکی ماهی کپور دریای خزر مشاهده گردیده است. همچنین با فراوانی ترکیبات Phenanthrene، Chrysene، Pyrene، Fluoranthene در بافت خوراکی ماهی کپور دریای خزر به ترتیب برابر ۶۱، ۳۲، ۷۵، ۳۶ و ۴۳ درصد بود. با توجه به غلظت بالای ترکیبات ۱۶PAHs در رسوبات، ماهیانی که از کف تغذیه می‌کنند درصد بیشتری از

جدول شماره ۱: روابط بین پارامترهای زیستی و غلظت اجزای ترکیبات نفتی در بافت عضله ماهی کپور دریای خزر در ماتریکس مولفه ها در آنالیز چند متغیره PCA

مولفه ها		چهارم جهاد (۹/۲ درصد)	سوم جهاد (۱۲/۴ درصد)	دوم جهاد (۲۴/۳ درصد)	اول جهاد (۳۱/۶ درصد)
۰/۷۰۵	-۰/۹۵۱	-۰/۹۷۹	Phen		
	-۰/۹۵۱	۰/۹۰۷	Fla		
	-۰/۹۵۱	۰/۵۶۰	Pyr		
	-۰/۹۵۱	۰/۵۸۰	BaA		
	-۰/۹۵۱	۰/۵۷۹	Chry		
	-۰/۹۵۱	-۰/۵۷۹	BbF		
	-۰/۹۵۱	۰/۵۵۲	BaP		
	-۰/۹۵۱	۰/۹۴۱	16PAHs		
	-۰/۹۵۱	-۰/۵۰۷	FL		
	-۰/۹۵۱	-۰/۴۹۲	Weight		
	-۰/۹۵۱	-۰/۴۸۱	Age		

Anyakora و همکاران در سال ۲۰۰۵ (۲۶)

گزارش کردند که ترکیب BaP به دلیل خاصیت سرطان‌زاویی بسیار شدید به عنوان شاخص آلودگی ترکیبات پلی آروماتیک در محیط زیست مطرح می‌باشد و از لحاظ سرطان‌زاویی در گروه IIA طبقه‌بندی قرار می‌گیرد و همچنین Lu و همکاران در سال ۱۹۷۷ (۲۷) و Varanasi و همکاران در سال ۱۹۸۹ (۲۳) گزارش کردند که ترکیب BaP با تجمع در ماهیان و کفزیان توانایی ایجاد سمیت در آن‌ها را نیز دارد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان ترکیب BaP در ۴۳ درصد از بافت خوراکی ماهی کپور بالاتر از حد مجاز بوده است و شاخص معادل سمیت این ترکیب با ۵۲ درصد از میان هشت ترکیب سرطانزا بالاترین سهم را داشته است (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲: فاکتور معادل سمیت هشت ترکیب هیدروکربورهای پلی آروماتیک با خاصیت سرطان‌زاویی (USEPA, ۱۹۹۵)

Ci * PEFi	Mean of PAHs (Ci) µg/g,dw	PEFi	ترکیبات	ردیف
۰/۰۰۶	۰/۰۰۶	۰/۱	BaA	۱
۰/۰۰۱۷	۰/۰۱۷	۰/۰۱	Chry	۲
۰/۰۰۴	۰/۰۰۴	۰/۱	BbF	۳
-	ND	۰/۱	BkF	۴
۰/۰۵۲	۰/۰۵۲	۱	BaP	۵
-	ND	۰/۱	InP	۶
۰/۰۳۱	۰/۰۳۱	۱	DahA	۷
-	ND	۰/۰۱	BghiP	۸
۰/۰۸۴			TEQPAHs	

بیشتری از ماهی آزاد دریای خزر مشاهده شود. در سال ۱۳۸۷ از ۱۷ ماهی سفید آنالیز شده ۴۲ درصد (۷ نمونه) دارای ترکیبات ۴ و ۵ حلقه‌ای ۱۶PAHs بوده است و از ۱۰ ماهی کفال آنالیز شده ۳۰ درصد (۳ نمونه) دارای این ترکیبات بود (۲۲). در تحقیق حاضر از ۲۸ ماهی کپور دریایی با درصد چربی قابل ملاحظه (۳۰/۱۰±۵/۳۶)، ۸۲ درصد (۲۳ نمونه) دارای ترکیبات ۳۶، ۴ و ۵ حلقه‌ای ۱۶PAHs بوده است Chry در ۷۵ درصد Bap در ۴۳ درصد Fla در ۶۱ درصد Pry در ۷۵ درصد از نمونه‌ها دیده شد که با نتایج مطالعات مشابه هم خواهی دارد.

نتایج آزمون مؤلفه اصلی نشان داد که در مؤلفه اول دو متغیر زیستی (طول چنگالی و وزن ماهی) و پنج متغیر اجزای ترکیبات نفتی با فراوانی حضور بالا (Phen, Fla, Pyr, Chry, BaP, 16PAHs) با واریانس ۳۱/۶ درصد همبستگی معکوس داشته است (جدول شماره ۱). این همبستگی معکوس را می‌توان به فرآیند متابولیسم (بیوتانسفورماسیون) در این گونه ربط داد. Varanasi و همکاران در سال ۱۹۸۹ (۲۳) و Wessel و همکاران در سال ۲۰۱۰ (۲۴) بیان نمودند که ماهیان در معرض گذاری با ترکیبات پلی آروماتیک توانایی بالای در انجام فرآیند بیوتانسفورماسیون داشتند به‌طوری که محصولات متابولیت شده (با حلالیت بیشتر در آب) در این ماهیان درصد بالای دارند. همچنین Liang و همکاران در سال ۲۰۰۷ (۲۵) گزارش کردند که پایین بودن فاکتور تجمع زیستی در ماهی تیلاپیا (کمتر از ۱/۷) احتمالاً به دلیل فرآیند بیوتانسفورماسیون به‌وسیله آنزیم و جذب کم ترکیبات نفتی در این گونه بوده است. در تحقیق نصراله زاده و همکاران (۱۳۹۲) (۸) نیز حداکثر فاکتور تجمع زیستی برابر ۰/۳۳ بوده که می‌توان گفت که جذب این ترکیبات در ماهی کپور کم بوده یا فرآیند بیوتانسفورماسیون نسبت به ماهی تیلاپ بهتر صورت پذیرفته است.

بخش تحقیقاتی که پشتیبانی علمی خوب و شایسته‌ای را داشتند سپاسگزاری می‌نمایم. هم‌چنین از پرسنل پشتیبانی و همکارانی که در کشتی گیلان زحمت کشیده‌اند، تشکر و قدرانی می‌گردد.

## سپاسگزاری

کمال تشکر از ریاست محترم مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی ایران به دلیل حمایت مالی این پژوهه به عمل می‌آید. از مشاورین و همکاران محترم پژوهه در

## References

1. Singh KP, Mohan D, Singh VK, Malik A. Studies on distribution and fractionation of heavy metals in Gomti River sediments, a tributary of the Ganges. India J Hydrol 2005; 312(1): 14-27.
2. Gua W, He M, Yang Z, Li C, Quan X. Aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons in the Xile River, an urban river in Chinas Sheyang City: distribution and risk assessment. J Hazard Mater 2011; 186(2-3): 1193-1199.
3. Aldarwish HA, Abd El-Gawad, EA. Assessment of organic pollution in offshore sediments of Dubai. United Arab Emirates Environ Geol 2005; 48(4-5): 531-542.
4. Meyer J, Moore J, Pawlisz A, Smorong E, Breton RL. Investigation/ Feasibility study (RI/FS): Baseline Ecological Risk Assessment, British: Mac-Donald Environmental sciences LTd; 2001.
5. Deb SC, Araki T, Fukushima T. Polycyclic aromatic hydrocarbons in fish organs. Mar Pollut Bull 2000; 40(10): 882-885.
6. Nasrollahzadeh Saravi H, Rezvani S, Unesipour H. Study on PAHs concentration of edible tissue of Caspian Perch. Second Congress of Applied Biology, Mashhad; 2004b.
7. Nasrollahzadeh Saravi H, Rezvani S, Unesipour H. Study on PAHs concentration of edible tissue of *Salmotruttacaspis* Salmon. First Congress of Aquatic in Iran, Tehran; 2004a.
8. Nasrollahzadeh Saravi H, Najafpour Sh, Pourgholam R, Gholamipour S, Ulomi Y, Nasrollahtabar A. Determination of heavy metals pollutant (Water, sediment and fish) in the southern part of Caspian Sea. Sari: Caspian Sea Ecology Research Center Publisher; 2013.
9. Einollahi E, Hamidi P, Einollahi G, Rahimi Bashar MR. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Study in Lipophilic and Liver Tissue of *Rutilus frisii Kutum* of Nowshahr Oil Jetty, Caspian Sea. Ecol Environ Conserv 2012; 18(04): 1035-1039.
10. Abdolmaleki Sh, Ghaninezhad D. Fingerling release of *Rutilus frisii kutum* and rule of its releasing at stock in enhancement in the Iranian coastal of Caspian Sea. Abzian J 2007; 8(86): 9.
11. MOOPAM. Manual of oceanographic observations and pollutant analyses methods, Kuwait; ROMEE Publisher; 1999.
12. Siapatis A, Giannoulaki M, Valavanis VD, Palialexis A, Schismenou E, Machias A, Somarakis S. Modelling potential habitat of the invasive ctenophore *Mnemiopsis leidyi* in Aegean Sea. Hydrobiologia 2008; 612: 281-295.
13. Simeonov V, Sarbu C, Massart DL, Tsakovski S. Danube River Water Data Modelling by Multivariate Data Analysis. Acta 2001; 137: 243-248.

- 
14. Hair JF, Anderson RE, Tatham, RL. Multivariate Data Analysis, USA; New Jersy; Prentice Hall, Upper Saddle River. 1998.
  15. Stevenson JR, Irz XT, Alcalde RG, Petit J, Morissens P. Coastal aquaculture systems in the Philippines: A Typology of brackish water pond aquaculture systems in the Philippines. Philippine: Philippine the university of Reading publisher; 2003.
  16. USEPA. Toxicological profile for polycyclic aromatic hydrocarbons. USA: US department of health and human services Publisher; 1995.
  17. Rose A, Ken D, Kehinde O, Babajide A. Bioaccumulation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Fish and Invertebrates of Lagos Lagoon, Nigeria. *J Emerg Trends Engineer Appl Sci JETEAS* 2012; 3(2): 287-296.
  18. Neff JM. Polycyclic aromatic hydrocarbons, In: Rand GM, Petrocelly SR (eds). Fandamental Aquatic Toxicology. London: Taylor and Francis; 1985.
  19. Neff JM. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment.Sources, fates and biological effects. London: Applied Science Publishers; 1979.
  20. Potrykus J, Albalat A, Pempkowiak J, Porte C. Content and pattern of organic pollutants (PAHs, PCBs and DDT) in blue mussels (*Mytilus trossulus*) from the southern Baltic Sea. *Oceanologia* 2003; 45: 337-355.
  21. Zahed MA, Mohammadi Dashtaki Z. Marine Pollution: Translate of Clark, A.B., Nashgh and Nashr Publisher; 2001.
  22. Nasrollahzadeh Saravi H, Pourgholam R, Unesipour H, Makhloogh A. Study of Polyaromatic Hydrocarbons (16PAHs) at the Sediments and Edible Tissue of *Liza saliens* and *Rutilus frisii kutum* of the Caspian Sea. *J Mazand Univ Med Sci* 2012; 22(94): 79-90 (Persian).
  23. Varanasi U, Stein JE, Nishimoto M. Biotransformation and disposition of polycyclicaromatic hydrocarbons (PAHs) in fish. In U.Varanasi, ed., Metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment, USA; Flurida; CRCPress, Boca Raton. 1989.
  24. Wessel N, Santosa R, Menarda D, Le Menachc K, Buchet V, Lebayonb N. Relationship between PAH biotransformation as measured by biliary metabolites and EROD activity, and genotoxicity in juveniles of sole (*Solea solea*). *Mar Environ Res* 2010; 69(Supplement 1): 71-73.
  25. Liang Y, Tse MF, Young L, Wong MH. Distribution patterns of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the sediments and fish at Mai Po Marshes Nature Reserve, Hong Kong. *Water Res* 2007; 41(6): 1303-1311.
  26. Anyakora C, Ogbeche A, Palmmer P, Coker H. Determination of polynuclear aromatic hydrocarbons inmarine samples of Siokolo Fishing Settlement. *J Chromatogr A* 2005; 1073: 323–330.
  27. Lu PY, Metcalf RL, Plummer N, Mandelm P. The environmental fate of three carcinogens: benzo (a) pyrene, benzidine, vinyl chloride evaluated in laboratory modele cosystem. *Arch Environ Con Tox* 1977; 6(2-3): 129-142.