



اثر فرآیند دودی سرد بر روی تولید هیدروکربن‌های چندحلقه‌ای آروماتیک (PAHs)، شاخص‌های کیفی، میکروبی و تغییرات اسیدهای چرب امگا-۳ ماهی کپور *Cyprinus carpio*

مسعود هدایتی‌فرد^{۱*}، پیمان آریانی^۲، احسان حسینی مقدم^۳

۱- دانشیار گروه شیلات و فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد قائم شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، ص.ب: ۱۶۳

۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و صنایع غذایی، واحد آیه اله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی

۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و صنایع غذایی، واحد آیه اله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی

دریافت: ۹۴/۰۸/۱۰ پذیرش: ۹۵/۰۸/۰۱

* نویسنده مسئول: Hedayati.m@qaemiau.ac.ir

چکیده

ماهی کپور تازه به روش سرد دودی گردید و به مدت ۳۰ روز در 4°C نگهداری شد. سپس ویژگی‌های بیوشیمیایی ماهی تازه و دودی شده (پروتئین، رطوبت، چربی و خاکستر)، شاخص‌های pH و TVB-N، جمعیت میکروبی (شامل میکروبی کل و شمارش کپک و مخمر)، و همچنین تولید هیدروکربن‌های PAHs به‌ویژه ترکیبات سرطانزا PAH₄ به‌همراه تغییرات پروفایل اسیدهای چرب به‌منظور بررسی تاثیر فرآیند دودی کردن و نگهداری محصول مقایسه گردیدند. نتایج نشان داد طی دودی کردن جمعیت باکتریایی کنترل شد و میزان رطوبت کاهش در نتیجه میزان پروتئین و چربی براساس وزن تر افزایش یافت ($P < 0.05$). میزان خاکستر و pH طی فرآیند و نیز دوره نگهداری تغییر نکرد ($P > 0.05$). میزان TVB-N از ۱۰/۸۷ در ماهی تازه، به ۱۴/۰۱ و ۱۸/۱۰ mg/100g در ماهی دودی و بعد از ۳۰ روز نگهداری رسید. مقادیر PAHs با وزن مولکولی بالا نیز به ترتیب برابر با ۰/۲، ۱/۷ و ۱/۳ $\mu\text{g/kg}$ بود. مقادیری از بنزوپیرن 'BaP' به‌عنوان هیدروکربن سرطانزا در ماهی تازه مشاهده نشدولی در فرآورده دودی شده این ماده به ۰/۴ $\mu\text{g/kg}$ و بعد از ۳۰ روزه به ۰/۳ $\mu\text{g/kg}$ رسید ($P < 0.05$) که بیانگر تولید بنزوپیرن طی فرآیند دودی کردن بود که در محدوده مجاز قرار داشت. مجموع اسیدهای چرب امگا-۳ در ماهی تازه و ماهی دودی ۵/۳۸ و ۵/۵۳ g/100g بود که بعد از ۳۰ روز به ۵/۴۷ g/100g رسید ($P > 0.05$). نتایج نشان داد فرآیند دودی سرد و نگهداری ۳۰ روزه محصول تاثیری بر میزان و ترکیب اسیدهای چرب ماهی نمی‌گذارد و اسیدهای چرب مفید ماهی شامل امگا-۳، امگا-۶، EPA و DHA به‌خوبی حفظ شدند.

کلید واژگان: اسید چرب، دودی کردن سرد، کپور، بنزوپیرن، PAHs

مقدمه

دودی کردن فرایندی است که به منظور پختن، بهبود طعم و نگهداری طولانی مدت از مواد غذایی صورت می‌گیرد. برحسب درجه حرارت، فرایند دودی کردن به روش‌های دودی گرم^۱ و دودی سرد^۲ انجام می‌شود. ترکیبات موجود در دود می‌تواند ویژگی آنتی‌اکسیدانی و ضد باکتریایی داشته باشند (Fahim-Dezhban, 2008). درجه حرارت دود هنگام تولید محصول، با افزایش رطوبت چوب کاهش می‌یابد (Sikorski et al., 1998). دود ایجاد شده در دمای بالا مملو از ترکیباتی است که ویژگی‌های مطلوب حسی را ایجاد می‌کند. فرایند دود دادن برای طیف وسیعی از محصولات غذایی از جمله محصولات گوشتی و دریایی به‌کار می‌رود.

هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای (PAHs) گروه بزرگی از ترکیبات آلی با دو یا تعداد بیشتری از حلقه‌های جوش خورده آروماتیک و معطر می‌باشند. این ترکیبات به دو دسته سبک (دو یا سه حلقه‌ای) و سنگین (چهار حلقه‌ای و بیشتر) تقسیم می‌شوند (Yean et al., 1998). این ترکیبات از حلالیت کمی در آب برخوردارند و خاصیت چربی دوستی زیادی دارند (Doe et al., 1998). هیدروکربن‌های چندحلقه‌ای آروماتیک در اثر سوختن ناقص مواد آلی به وجود می‌آیند. دمای مطلوب تولید هیدروکربن‌های چندحلقه‌ای آروماتیک، ۵۰۰ تا ۷۰۰ درجه سانتی‌گراد است و تولید آنها در اثر کاهش فشار اکسیژن شدت می‌یابد، اما در دماهای پایین‌تر نیز امکان تولید یا تبدیل دارند. مشخص شده که دوددهی گرم و مستقیم بیشتر از دوددهی سرد باعث افزایش هیدروکربن‌های چندحلقه‌ای آروماتیک می‌شود (Stolyhwo and Sikorski,

2005). تعدادی از هیدروکربن‌های چندحلقه‌ای آروماتیک به‌عنوان مواد سرطان‌زا شناخته شده‌اند. برحسب مراجع مختلف، از نظر سرطان‌زایی و جهش‌زایی، این ترکیبات در گروه‌های متفاوت قرار گرفته‌اند. در بین هیدروکربن‌های چندحلقه‌ای آروماتیک، بنزوپیرن به‌عنوان شاخص معرفی شده است (Lin et al., 2008, Samanta et al., 2003). هیدروکربن‌های چندحلقه‌ای آروماتیک از راه‌های مختلف همانند غذا و محیط می‌توانند جذب بدن انسان شوند که معمولاً با وزن مولکولی پایین هستند. در بررسی‌های به‌عمل آمده مشخص شد که مواد غذایی گوشتی دارای چربی که دودی شده‌اند، اغلب حاوی هیدروکربن‌های حلقوی با وزن مولکولی بالا می‌باشند (Roszko et al., 2011). هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای یا PAHs^۳ به دلیل سمیت‌شان و ویژگی سرطان‌زایی، شاخص کیفی ماده غذایی دودی شناخته می‌شوند.

شدت اثر ترکیبات دود بستگی به غلظت آن و درجه حرارت دارد. نوع ماهی انتخابی برای دوددهی و نوع «چوب خاک‌اره» معمولاً روی بافت، عطر (آروما) و سایر ویژگی‌های ارگانولپتیکی مثل مزه تأثیر می‌گذارد (Bolaji, 2005). دمای پایین‌تر، اکسیژن کمتر، تثبیت درجه حرارت، رطوبت مناسب و کنترل دقیق غلظت دود طعم بهتری به محصول داده و خاصیت نگهداری آن را نیز بیشتر می‌کند (Hedayatifard, 2003). امروزه در دود ۳۶۰ نوع ترکیب شیمیایی شناخته شده است که مهم‌ترین آنها ترکیبات فنولیک، اسیدی و کربنیل‌ها می‌باشد. فنل‌ها دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند که روند فساد را در ماهیان چرب به تأخیر می‌اندازد (Miler and Sikorski, 1990). براساس گزارش‌ها، «بنزو a پیرن» یا BaP می‌تواند به‌عنوان معیاری برای تأثیر PAH‌های سرطان‌زا در مواد غذایی در نظر گرفته

³ Poly-cyclic Aromatic Hydrocarbons

¹ Hot Smoking

² Cold Smoking

ماهیان وجود دارد که مهم‌ترین آن گونه کپور معمولی است که بومی این دریاچه می‌باشد. این ماهی مهم‌ترین و فراوان‌ترین ماهی پرورشی جهان است و در تولید پروتئین دریایی نقش مهمی دارد (FAO, 2014). اسیدهای چرب امگا-۳ به عنوان بخش مهمی از رژیم غذایی برای سلامت و پیشگیری از انواع بیماری‌ها به ویژه قلبی عروقی به کار گرفته می‌شود (Ackman, 1995, Hedayatifard and Jamali, 2008). این اسیدهای چرب به صورت طبیعی در تمام ماهیان و یا مکمل‌های روغن ماهی به وفور وجود دارند (Hedayatifard and Yousefian, 2007). امروزه مصرف انواع ماهیان علاوه بر پروتئین گوشت سفید ارزشمند، به دلیل بهره‌مندی از اسیدهای چرب غیراشباع چند زنجیره‌ای آن (PUFA^۹) صورت می‌گیرد. انجمن قلب آمریکا توصیه می‌کند که افراد بدون بیماری قلبی نیز هر هفته ۲ وعده ماهی (دست‌کم ۳۰۰ میلی‌گرم اسیدهای چرب امگا-۳ در روز) و بیماران مبتلا به بیماری قلبی روزانه ۱۰۰۰ میلی‌گرم مصرف کنند. اشکال مختلف ماهی عمل‌آوری شده (دودی، خشک شده، تخمیری)، همچنان به عنوان روش سنتی مصرف و فروش ماهی در کشورهای در حال توسعه به‌شمار می‌رود. آمار منتشر شده میزان متوسط جهانی مصرف سرانه در سال ۲۰۱۲ آذربایجان را با ۱۹ کیلوگرم و سهم پروتئین دریایی را با ۱۷ درصد از منابع حیوانی و تولید جهانی آذربایجان را با ۱۶۰ میلیون تن، سریع‌ترین رشد بخش کشاورزی را نشان می‌دهد (FAO, 2014).

مطالعه بر روی محصولات دریایی دودی سابقه چندانی ندارد، اما پژوهش‌های موجود حاکی از اختلاف در سلامت محصولات دودی و سطوح حضور PAHs است. با این‌که Rezaei و همکارانش (2014) نسبت به شناسایی و

شود (IJECR, 2006)، اما در سال ۲۰۰۸ اتحادیه مواد سالم اروپا اعلام کرد ۸ نوع ویژه از PAH به نام (PAH₈)، به عنوان PAHهای سرطان‌زا معرفی می‌شوند و موادی همانند بنزو a پیرن، بنزو a آنتراسن، بنزو b فلورانتن و کرایسن به عنوان سرگروه این دسته معرفی شدند (Mihalca et al., 2011). که PAH₄ نامیده می‌شوند.

اداره بهداشت و ایمنی حرفه‌ای (OSHA^۱) در آمریکا حد متوسط مجاز PAHها را در هوا ۰/۲ میلی‌گرم بر متر مکعب و در روغن‌ها ۵ میلی‌گرم بر مترمکعب در یک دوره زمانی ۸ ساعته اعلام کرده است. همچنین، درباره آب، دوده، زغال و خاک آلوده به PAHها، حد مجاز تماس با این ترکیبات ۳ میلی‌گرم در روز گزارش شده است؛ اما میزان حد مجاز تعیین شده از سوی کمیسیون اروپا (EC) برای مجموع این ترکیبات دریافت ماهیان دودی ۳۰۰ µg/Kg و حد پذیرفته شده «بنزو a پیرن» که شاخص سرطان‌زایی دود می‌باشد، در ماهیان دودی ۵ µg/Kg عنوان شده است (OJEU, 2011) که در پژوهش‌های صنایع غذایی و فراورده‌های دریایی مورد استناد قرار می‌گیرد.

ماهی دارای ارزش تغذیه‌ای بسیار بالایی است و اکثر مواد مغذی مفید و ضروری برای انسان را به‌تعمیر دارد، ولی ویژگی خاص ماهی که آن را بین سایر مواد غذایی حائز اهمیت ساخته است، نوع چربی موجود در آن است. خانواده کپور ماهیان از رده ماهیان استخوانی^۳، بزرگ‌ترین خانواده ماهیان آب شیرین هستند و در ناحیه مصبی و آب‌های لب شور نیز دیده می‌شوند. از لحاظ پراکنش طبیعی، این تیره تقریباً به حد وفور در همه جای جهان منتشر شده‌اند و دارای ۲۰۰ جنس و ۱۶۰۰ گونه می‌باشند، به‌طوری‌که تنها در دریای مازندران ۲۰ گونه از خانواده کپور

1. Occupational Safety and Health Administration
2. Cyprinidae
3. Osteichthyes

4. *Cyprinus carpio*
5. Polyunsaturated Fatty Acid

ترکیبات PAHs دارد، گزارش‌هایی نیز پیرامون اثرهای متفاوت آن روی ترکیبات شیمیایی و میکروبی در دسترس است؛ به‌طوریکه تغییرات اسیدهای چرب، ترکیب شیمیایی و شاخص‌های شیمیایی کیفیت در ماهیان اقتصادی دریای مازندران (Rezaei et al., 2014)، آمور (Khoddami, 2013)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (Besharati, 2004) و سوزن‌ماهی دریایی (Koral et al., 2009) گزارش شده است. مطابق این سوابق، بیان شده‌است که فرایند حرارتی دودی کردن موجب کاهش رطوبت و فعالیت آبی گوشت ماهی و برعکس افزایش ماده خشک محصول می‌شود (Olayemi, et al., 2011; Koral et al., 2009; Khodami, Burt, 1998, 2013؛ همچنین دودی کردن شاخص‌های فساد کیفی همانند مجموع ازت‌های فرار (TVB-N) را افزایش می‌دهد (Besharati, 2004; Koral et al., 2009)، اما تغییر مشخصی روی مقادیر pH محصول دودی به‌وجود نمی‌آورد (Hassan, 1998). همچنین اثر بازدارندگی ترکیبات موجود در دود روی جمعیت‌های میکروبی ماهی ساردین (Nyarko et al., 2011)، گربه ماهی (Olayemi et al., 2011) و انواع ماهیان استخوانی (Sikorski et al., 2011) بررسی شده است. از سوی دیگر، فرایند حرارتی دودی کردن می‌تواند موجب تولید ترکیبات PAHs شود (Sikorski et al., 1998, Silva et al., 2011) که معمولاً با کنترل شرایط فرایند، قابل‌تعديل و تاحدی قابل کنترل خواهند بود (Burt, 1998; Sikorski et al, 1998).

هدف از انجام تحقیق کنونی بررسی تولید انواع ترکیبات هیدروکربنی چند حلقه‌ای آروماتیک طی فرایند دودی کردن سرد در فیله ماهی کپور است. همچنین در پژوهش حاضر اثرهای جانبی این فرایند روی شاخص‌های کیفی، جمعیت میکروارگانیسم‌ها و پروفایل اسیدهای چرب

استخراج هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای آروماتیک از بافت ماهیان دودی سفید، کفال طلایی و کپور نقره‌ایو اثرهای آن بر روی شاخص‌های کیفی، میکروبی و ترکیب اسیدهای چرب بافت ماهیان دودی اقدام کردند و ماهیان دودی شمال ایران را در محدوده مجاز مصرف تشخیص دادند و Khoddami (2013)، نیز از اثرهای مثبت دودی کردن و تولید محصول با ارزش و مطلوب از ماهی آمور سخن به میان آورد، اما Palm و همکارانش (2011) به بررسی و توصیف ترکیبات هیدروکربنی چند حلقه‌ای آروماتیک موجود در ماهی دودی پرداختند و بنزوپیرن را به‌عنوان یکی از هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای آروماتیک با وزن مولکولی بالا و مشکوک به سرطان‌زایی معرفی کردند. (Besharati, 2004)، سازوکار دودی کردن ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را به روش گرم و سرد مقایسه و شاخص‌های کیفی آن را بررسی کرد. از طرفی Steiner-Asiedu و همکاران (1991) اثر دود دانه‌راری سه‌گونه از ماهیان غنابرسی‌کرده‌اند و (Hassan, 1998) شرایط مختلف فرایند دودی کردن ماهی کپور را برای رسیدن به محصولی با بهترین ویژگی‌های شیمیایی، فیزیکی و حسی بررسی کرد و در نهایت Silva و همکارانش (2011) تفاوت اثرهای روش‌های مختلف دوددهی را روی تولید هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای در ماهیان اقتصادی نیجریه ارزیابی کردند.

به‌طور کلی دودی کردن سرد فرایندی است که طی آن ماهی پس از شستشو و آب‌نمک‌گذاری^۱ و نیز خروج آب اضافی، در سالن دودخانه^۲ در معرض جریان دود با درجه حرارت ۲۵ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گیرد تا فرآورده‌ای نیمه‌آماده و با طعم مطلوب تولید شود (Doe et al., 1998). علاوه بر تأثیری که دودی کردن روی تولید

1. Brining
2. Smokehouse

این گونه مطالعه شده و در نهایت محصول دودپز شده به روش سرد و همچنین نگهداری شده به مدت ۳۰ روز در دمای $5 \pm 0/5$ درجه سانتی‌گراد از لحاظ کیفی در مقایسه با ماهی خام و محدوده استاندارد شاخص‌های کیفی و میکروبی ارزیابی شده است.

مواد و روش‌ها

تعداد ۲۴ قطعه ماهی کپور تازه از مرکز پرورش ماهی (منطقه بابلسر در استان مازندران) در شهریور ماه ۱۳۹۲ با طول متوسط ۳۸ سانتی‌متر و وزن متوسط $1/30$ کیلوگرم تهیه گردید. ثلث ماهیان تازه برای انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی و میکروبی جدا و سپس مابقی ماهیان به جعبه‌های یونیلیت حاوی یخ، منتقل و برای دود دادن به کابین تولید دود در کارگاه دودی سرد (مازندران؛ بابل) انتقال داده شدند. این نمونه‌ها نیز پس از دودی کردن به دو دسته تقسیم شدند تا به‌عنوان ماهیان تازه دودپز شده و نمونه‌های دودی نگهداری شده ارزیابی شوند. برای دود دادن ماهی از منبع حرارتی غیرمستقیم با درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد استفاده گردید. به‌همین منظور ابتدا شکم ماهیان خالی شده و پس از شستشو در آب نمک اشباع شور شدند و پس از خروج آب اضافی و فرایند آب‌چکان، به سالن دودخانه منتقل شدند و در مرحله اول به مدت ۳ ساعت در معرض هوای گرم بدون دود با درجه حرارت ۳۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند (Butr, 1998) تا نیم‌پز و برای دریافت دود آماده شوند؛ در مرحله بعدی نمونه‌ها در معرض دود با درجه حرارت ۲۵ سانتی‌گراد قرار گرفتند (Doe et al., 1998). برای حفظ درجه حرارت و اطمینان از خشک شدن یک‌نواخت محصول و رنگ مطلوب، دود دادن کامل در کمتر از ۲۴ ساعت متوقف شد. محصولات دودی به مدت ۳۰ روز در درجه حرارت یخچال برابر با

$5 \pm 0/5$ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. ابتدا آزمون‌های بیوشیمیایی شامل تعیین و اندازه‌گیری پروتئین به روش کج‌دال، خاکستر و رطوبت به روش با کوره الکتریکی (AOAC, 2005) و چربی به روش سرد (Bligh and Dyer, 1959) انجام پذیرفت. شمارش کپک و مخمر با محیط کشت پوتیتو دکستروز آگار^۱ با انکوباسیون ۴ روزه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و شمارش کلی میکروب‌ها (TC^۲) با محیط کشت نوترینت آگار^۳ و کشت $0/1$ میلی‌لیتر نمونه به مدت ۴۸ ساعت انکوباسیون در درجه حرارت ۳۵ درجه سانتی‌گراد طبق دستورالعمل ارائه شده از سوی Jay (1990) انجام شد. مقادیر pH با قرار دادن الکتروود «پی‌اچ متر» در نمونه بافت ماهی، پس از رقیق شدن با آب مقطر (نسبت ۱ به ۲) صورت پذیرفت (ISO 2917, 1999) و مجموع ازت‌های تام فرار (TVB-N^۴) نیز به‌عنوان شاخص تخریب حرارتی پروتئین محصول، به روش Hasegawa (1978) اندازه‌گیری شد.

شناسایی پروفایل و ترکیب اسیدهای چرب به‌وسیله دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC; USP 26-NF21, Agilent, USA) با دکتور یونش شعله‌ای (FID) با لوله موئینه و ستون ۵۰ متر $0/25 \times$ میلی‌متر انجام شد (Hunt et al., 2008). به‌طوری‌که پس از استخراج چربی، متیل استرهای اسیدچرب با استری شدن و آنالیز اسیدهای چرب نمونه‌ها توسط GC انجام شده، هلیوم به‌عنوان گاز حامل استفاده شد. طی یک برنامه حرارتی درجه حرارت تزریق 250°C ، ردیاب 260°C ، ستون 155°C ، حجم تزریق ۱ میکرولیتر، دمای ستون ابتدا به مدت ۲ دقیقه در ۱۲۵ درجه سانتی‌گراد ثابت بود و سپس طی ۴ دقیقه دمای ستون به ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد رسید، ۳ دقیقه در این دما ثابت ماند

1. Potatodextrose agar
2. Total Count
3. Nutrient agar
4. Total Volatile Bases-Nitrogen (TVB-N)

۹۵ درصد ($p < 0/05$) استفاده گردید. آزمون همگن بودن داده‌ها توسط کولموگراف - اسمیرنوف انجام شد و طبیعی بودن داده‌ها بررسی گردید. با استفاده از رابطه رگرسیون خطی، همستگی تولید PAHs با ترکیبات چربی بافت محصول محاسبه و نمودارها با استفاده از برنامه نرم افزار Excel (نسخه ۲۰۱۰) ترسیم شد.

نتایج

ترکیب بیوشیمیایی

اثرهای فرایند دودی کردن بر ارزش غذایی و ترکیبات بیوشیمیایی بافت ماهی کپورد در جدول نشان داده شده است که مطابق آن، براساس وزن تر، پروتئین و چربی نمونه تازه تحت فرایند دودی کردن افزایش یافت، به طوریکه پروتئین از ۲۰/۰۲ درصد به ۴۳/۸۹ و ۴۳/۱۴ درصد رسید ($p < 0/05$). محتوای چربی بافت ماهی تازه نیز از ۲/۶۳ به ترتیب به ۴/۱۸ و ۴/۱۴ درصد در نمونه‌های دودی و یکماه پس از دودی کردن رسید ($p < 0/05$). با وجود این که میزان خاکستر محصولات در اثر فرایند بدون تغییر ماند ($p > 0/05$)، اما رطوبت روند کاهشی نشان داد و از ۷۴/۲۰ درصد در ماهی تازه به ۴۸/۸۰ و ۴۹/۴۹ درصد در نمونه‌های دودی شده رسید ($p < 0/05$).

و طی ۳ دقیقه دما به ۲۱۰ درجه سانتی‌گراد رسید و ۲۰ دقیقه نیز در این دما نگهداشته شد. سرعت گاز حامل ۰/۵، مقدار تزریق ۱ میکرومتر و نرخ شکافت (Split ratio) ۱:۱۰ بود. متیل استرهای اسید چرب با استفاده از استانداردهای معرف (Sigma, Germany) تعیین شدند.

سپس سنجش و شناسایی مقادیر هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای آروماتیک (PAHs) به وسیله دستگاه HPLC مدل (Ce-4100, Cecil Instruments, UK) مجهز به ستون کاپیلاری (MACHERY-NAGEL, Germany) با مشخصات (250 x 4.6mm, Nucleodur 100-5, C18ec, 5µm) آشکارساز توسط دو دتکتور فلورسانس و UV انجام شد؛ به طوری که نمونه‌ها در دستگاه فریزدرایر خشک و به صورت پودر درآمده و پس از صابونی شدن، توسط آن-هگزان استخراج صورت پذیرفت و در نهایت با تزریق به دستگاه HPLC و تهیه ستون کروماتوگرافی به لحاظ کمی و کیفی شناسایی شدند (Simko and Kenzo, 1992, Silva et al., 2011).

نتایج تمامی آزمون‌ها از میانگین سه تکرار به دست آمد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با آنالیز واریانس یک طرفه و با استفاده از برنامه نرم افزار SPSS for Windows, 11.05 انجام و برای تعیین اختلاف معنادار بین داده‌ها، از آزمون جداساز توکیدر سطح اطمینان

جدول ۱ تغییرات ترکیب شیمیایی ماهی کپور طی دودی کردن و نگهداری (درصد)

نمونه کپور	پروتئین	چربی	رطوبت	خاکستر
نمونه تازه	۲۰/۰۲ ^b ± ۰/۱۵	۲/۶۳ ^b ± ۰/۰۵	۷۴/۲ ^a ± ۰/۵۵	۲/۱۵ ^a ± ۰/۰۳
دودی سرد	۴۳/۸۹ ^a ± ۰/۰۵	۴/۱۸ ^a ± ۰/۰۵	۴۸/۸۰ ^b ± ۰/۱۱	۲/۳۱ ^a ± ۰/۰۶
دودی سرد ۳۰ روزه	۴۳/۱۴ ^a ± ۰/۲۷	۴/۱۴ ^a ± ۰/۰۵	۴۹/۴۹ ^b ± ۰/۳۸	۲/۲۶ ^a ± ۰/۰۸

تفاوت حروف در هر ستون نشانگر اختلاف معنادار در میانگین‌هاست ($p < 0/05$).

تغییرات جمعیت میکروبی

مطابق جدول ۲، میزان شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها

کردن و نگهداری کوتاه مدت ماهی دودی شده بر میزان pH ماهی بود.

همچنین دودی کردن ماهی باعث افزایش شاخص TVB-N گردید (شکل ۲)؛ به صورتی که ماهی تازه با ۱۰/۸۷ mg/100g نسبت به ماهی دودی تازه (با ۱۴/۰۱ mg/100g) و ۳۰ روز پس از دودی شدن (با ۱۸/۱۰ mg/100g)، کمترین میزان را دارا بود ($p < 0/05$).

در ماهی تازه و دودی و نمونه ۳۰ روز نگهداری شده به ترتیب برابر با $2/8 \times 10^3$ ، $6/6 \times 10^3$ و $6/8 \times 10^5$ Log cfu/g بوده است ($p < 0/05$). نتایج نشان داد به محض دودی کردن، تعداد باکتری‌های ماهی کاهش و با نگهداری آن طی ۳۰ روز میزان آن مجدد افزایش پیدا کرد. از لحاظ شمارش کپک و مخمرها، ماهی تازه با $2/2 \times 10^2$ Log cfu/g کمترین میزان کپک را در بین تیمارها داشته‌است. ماهی دودی شده و دودی نگهداری شده به ترتیب دارای $4/3 \times 10^2$ و $4/4 \times 10^4$ Log cfu/g بوده‌اند. طی فرایند دودی کردن سرد نه تنها میزان کپک‌ها کمتر نشده، بلکه تعداد کپک‌ها افزایش یافته است ($p < 0/05$).

جدول ۲ تغییرات بار میکروبی ماهی کپور طی دودی کردن و نگهداری (Log cfu/g)

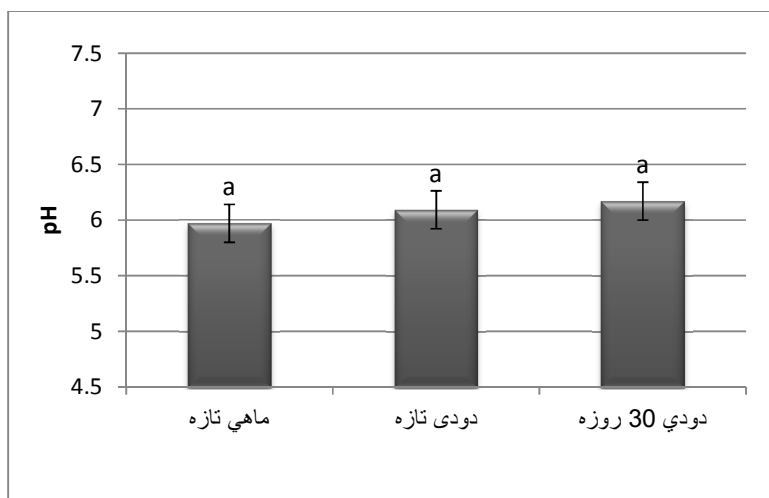
نمونه کپور	شمارش TC	شمارش کپک
نمونه تازه	$4/6 \times 10^3 \pm 0/25^b$	$2/2 \times 10^2 \pm 0/10^c$
دودی تازه	$2/8 \times 10^3 \pm 0/22^c$	$4/3 \times 10^2 \pm 0/12^b$
دودی ۳۰ روزه	$6/8 \times 10^5 \pm 1/23^a$	$4/4 \times 10^4 \pm 0/26^a$

تفاوت حروف در هر ستون نشانگر اختلاف معنادار در میانگین‌هاست ($p < 0/05$).

تغییرات شاخص‌های کیفی

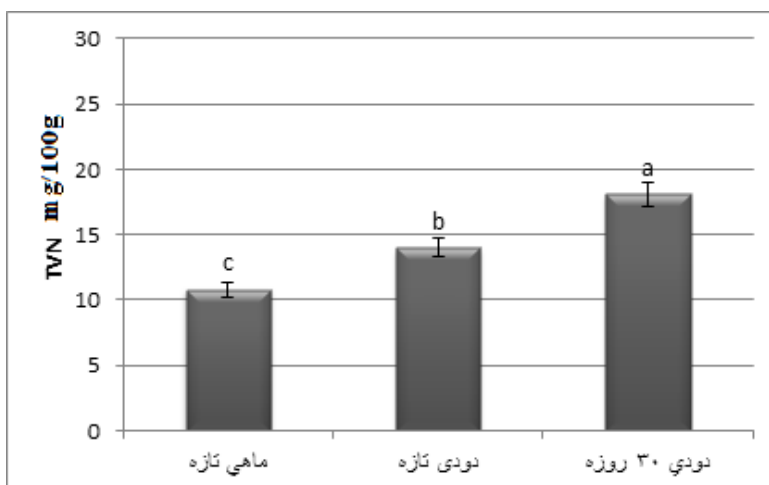
مطابق شکل ۱، مقادیر pH ماهی تازه و دودی شده و نگهداری شده به ترتیب ۶/۰۲، ۶/۰۹ و ۶/۱۷ تعیین شده است که با وجود افزایش محسوس، تغییر معناداری نشان نداد ($p > 0/05$) که بیانگر بی‌تأثیر بودن فرایند دودی

۱. لگاریتم تعداد کلونی در هر گرم



شکل ۱ تغییرات میزان pH ماهی کپور طی دودی کردن و نگهداری

اختلاف معناداری بین میانگین‌ها در ستون‌ها مشاهده نشد ($p > 0.05$).



شکل ۲ تغییرات درصد TVB-N ماهی کپور طی دودی کردن و نگهداری

تفاوت حروف بین ستون‌ها نشانگر اختلاف معنادار در میانگین‌هاست ($p < 0.05$).

ترکیب و پروفایل اسیدهای چرب

آنالیز پروفایل اسیدهای چرب ماهی تازه، ماهی دودی شده و نگهداری شده طی ۳۰ روز، در جدول ۳ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود در تمام

نمونه‌ها اسید اولئیک (C18:1) به ترتیب با مقادیر ۳۸/۳، ۳۸/۶ و ۳۸/۵ g/100g، اسید چرب غالب بوده و پس از آن اسید پالمیتیک (C16:0) به ترتیب ۱۷/۱۳، ۱۷/۱۹ و ۱۷/۱۵ g/100g در رتبه دوم قرار دارد. بین اسیدهای چرب

شناخته شده تمامی محصولات بررسی شده هیچ‌گونه اختلاف معناداری مشاهده نشد ($p > 0/05$). همچنین مطابق جدول ۴، ترکیب سری‌های اسیدهای چرب محصولات تازه و دودی شده ماهی کیور حاکی از آن است که تغییرات معناداری تحت تأثیر فرایند دودی کردن سرد و نگهداری کوتاه مدت آن رخ نمی‌دهد ($p > 0/05$)، بلکه موجب حفظ اسیدهای چرب با ارزش فرآورده به‌ویژه سری امگا-۳ (۳-3) و امگا-۶ (۶-6) می‌شود. مجموع اسیدهای چرب امگا-۳ ماهیان تازه، ماهی دودی و دودی نگهداری شده طی ۳۰ روز به ترتیباً مقادیر ۵/۳۸، ۵/۵۳ و ۵/۴۷ گرم در صد گرم بودند. از سوی دیگر، میزان دو اسید چرب غیراشباع چندگانه (EPA^۱ و DHA^۲) نیز طی فرایند دودی کردن و نگهداری تغییر مشخصی نکرده است؛ بدین صورت که میزان EPA در ماهی تازه برابر با ۲/۲۱ g/100g و در ماهی دودی و نگهداری شده ۲/۲۸ و ۲/۲۶ g/100g بوده است. همچنین میزان DHA ماهی تازه، ماهی دودی شده و نگهداری شده طی ۳۰ روز به ترتیب ۲/۴۵، ۲/۴۸ و ۲/۴۶ g/100g بوده است. شاخص چندغیراشباعی یا پلی ن^۳ (DHA+EPA/C16) در تمام نمونه‌ها برابر ۰/۲۷ باقی ماند و اسیدهای چرب غیراشباع نیز حدود ۱/۹ تا ۲ برابر اسیدهای چرب اشباع محاسبه شد.

۱. یکوزاپتانوئیک اسید

۲. دوکوزاپتانوئیک اسید

جدول ۳ آنالیز پروفایل اسیدهای چرب ماهی تازه، دودی شده و دودی ۳۰ روز نگهداری شده (g/100g)

نام اسید چرب	نوع اسید چرب	نمونه تازه	دودی تازه	دودی ۳۰ روزه
میرستیک	C14:0	۲/۵۵±۰/۰۳	۲/۵۹±۰/۰۲	۲/۵۷±۰/۰۱
پالمیتیک	C16:0	۱۷/۱۳±۰/۱۹	۱۷/۱۹±۰/۲۱	۱۷/۱۵±۰/۱۲
استئاریک	C18:0	۶/۰۴±۰/۰۵	۶/۰۹±۰/۱۲	۶/۰۷±۰/۱۰
اولئیک	C18:1	۳۸/۳۰±۱/۰۵	۳۸/۶۰±۲/۲۵	۳۸/۵۱±۰/۴۵
لینولئیک	C18:2 ω-6	۳/۲۲±۰/۲۴	۳/۲۷±۰/۱۵	۳/۲۴±۰/۱۲
آلفا لینولئیک	C18:3 ω-3	۰/۷۲±۰/۰۲	۰/۷۷±۰/۰۴	۰/۷۵±۰/۰۳
آراشیدیک	C20:0	۰/۱۱±۰/۰۲	۰/۱۷±۰/۰۳	۰/۱۴±۰/۰۶
گادولئیک	C20:1	۱/۶۵±۰/۰۱	۱/۶۴±۰/۰۲	۱/۶۲±۰/۰۱
ایکوزا دی انوئیک	C20:2	۰/۳۱±۰/۰۵	۰/۳۵±۰/۰۹	۰/۳۳±۰/۱۱
ایکوزا تری انوئیک	C20:3	۰/۸۱±۰/۰۵	۰/۸۷±۰/۰۴	۰/۸۵±۰/۱۲
ایکوز پنتانوئیک	C20:5 ω-3	۲/۲۱±۰/۰۶	۲/۲۸±۰/۱۴	۲/۲۶±۰/۵۵
ستولئیک	C22:1	۱/۴۹±۰/۵۰	۱/۵۴±۰/۰۵	۱/۵۲±۰/۳۱
دیکوزا پنتانوئیک	C22:5	۰/۵۷±۰/۰۲	۰/۵۹±۰/۱۱	۰/۵۴±۰/۱۵
دوکوزا هگزانوئیک	C22:6 ω-3	۲/۴۵±۰/۱۶	۲/۴۸±۰/۸۵	۲/۴۶±۰/۳۳

اختلاف معناداری بین میانگین‌ها در ردیف‌ها مشاهده نشد ($p > 0.05$).

جدول ۴ درصد ترکیب گروه‌های اسید چرب ماهی تازه، دودی شده و دودی شده ۳۰ روز نگهداری شده

اسید چرب	تیمار		
	ماهی تازه	تازه دودی شده	دودی شده ۳۰ روز نگهداری شده
مجموع اشباع (SFA)	۲۵/۸۳	۲۷/۵۱	۲۵/۹۳
مجموع تک غیر اشباع (MUFA)	۴۱/۴۴	۴۱/۷۸	۴۱/۶۴
مجموع غیر اشباع (UFA)	۵۱/۷۳	۵۲/۳۹	۵۲/۰۷
مجموع چند غیر اشباع (PUFA)	۱۰/۲۹	۱۰/۶۱	۱۰/۴۳
نسبت چند غیر اشباع به اشباع (PUFA/SFA)	۰/۳۹	۰/۳۸	۰/۴۰
نسبت غیر اشباع به اشباع (UFA/SFA)	۲/۰۰	۱/۹۰	۲/۰۰
مجموع امگا-۳ (ω-3)	۵/۳۸	۵/۵۳	۵/۴۷
مجموع امگا-۶ (ω-6)	۳/۲۲	۳/۲۷	۳/۲۴
مجموع EPA+DHA	۴/۶۶	۴/۷۶	۴/۷۲
نسبت امگا-۳ به امگا-۶ (ω-3/ω-6)	۱/۶۷	۱/۶۹	۱/۶۸
شاخص پلی ان: C16 / EPA+DHA	۰/۲۷	۰/۲۷	۰/۲۷

*اختلاف معناداری بین میانگین‌ها در ردیف‌ها مشاهده نشد ($p > 0.05$).

۱. شامل گروه دی‌ان‌ها (دو پیوند دوگانه) نیز است.

تولید هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای آروماتیک

میزان هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای آروماتیک ماهی تازه کپور، تازه دودی شده و دودی نگهداری شده طی ۳۰ روز، در جدول ۵ آورده شده است. مجموع ترکیبات PAHs در محصولات فوق به ترتیب برابر با حداکثر ۰/۲۰؛ ۲/۱۰ و ۳/۲۰ میکروگرم در کیلوگرم است ($p < 0/05$). میزانی از هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای آروماتیک بنزوپیرن^۱ در ماهی تازه مشاهده نشده است، ولی این میزان در ماهی دودی شده ۰/۴۰ میکروگرم در کیلوگرم و در ماهی دودی ۳۰ روزه به ۰/۳ میکروگرم در کیلوگرم رسید ($p < 0/05$) که تولید بنزوپیرن طی فرآیند دودی کردن ماهی را نشان می‌دهد. تولید هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای آروماتیک سیکلوپنتاپیرن^۲ نیز نتایج دقیقاً مشابه با بنزوپیرن بوده است و مقادیر آن در ماهیان تازه، دودی شده و نگهداری شده طی ۳۰ روزه ترتیب صفر، ۰/۴۰ و ۰/۳۰ میکروگرم در کیلوگرم می‌باشد ($p < 0/05$). در ماهی تازه میزان هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای آروماتیک کرایزن^۳، ۰/۱۰ تعیین شده است که طی فرآیند دودی کردن سرد و نگهداری ماهی دودی شده طی ۳۰ روز، این میزان به ۰/۴۰ میکروگرم در کیلوگرم رسیده است ($p < 0/05$). اما بنزوانتراسن^۴ هیدروکربن مهم دیگری است که طی فرآیند دودی کردن از حداکثر ۰/۱۰ به ۰/۵۰ میکروگرم در کیلوگرم افزایش یافته، اما پس از ۳۰ روز نگهداری محصول میزان آن به حداکثر ۰/۳ میکروگرم در کیلوگرم کاهش پیدا کرده است ($p < 0/05$).

در این مطالعه میزان PAH₄ (گروهی چهارگانه با وزن مولکولی بالا یا HMW^۵ شامل بنزوپیرن، بنزوانتراسن،

کرایسن و بنزوفلورانتن^۶) برای ماهی تازه، ماهی دودی شده و نگهداری شده طی ۳۰ روز به ترتیب برابر با ۰/۲۰، ۱/۷۰ و ۱/۳۰ میکروگرم در کیلوگرم برآورد شده است (شکل ۳).

همچنین رابطه همبستگی بالای $R^2=0.94$ برای رابطه خطی ($Y=0.2.28 X - 117.78$) بین اسیدهای چرب غیراشباع (UFA) و هیدروکربن‌های PAHs (شکل ۴) و رابطه همبستگی بالایی با $R^2=0.97$ برای رابطه خطی ($Y=10.17X - 54.49$) بین اسیدهای چرب امگا-۳ ($\omega-3$) و هیدروکربن‌های PAHs مشاهده شد (شکل ۵).

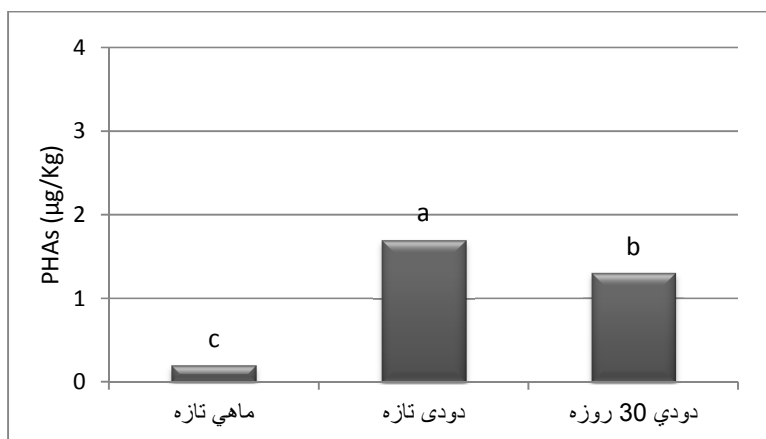
1. Benzo[a]pyrene
2. Cyclopentapyrene
3. Chrysene
4. Benzo[a]anthracene
5. High Molecular Weight

6. Benzo(b)fluoranthene

جدول ۵ سنجش میزان هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای آروماتیک در ماهی تازه، ماهی دودی و ۳۰ روز نگهداری شده (برحسب میکروگرم بر کیلوگرم)

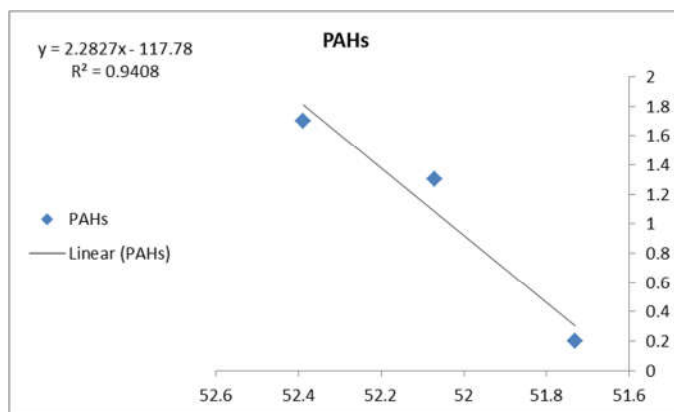
هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای آروماتیک کپور	مخفف	نمونه تازه	دودی تازه	دودی بعد از ۳۰ روز
Benzo[a]pyrene	bap	Nd	<۰/۴ ^a	<۰/۳ ^b
Cyclopentapyrene	cpp	Nd	<۰/۴ ^a	<۰/۳ ^b
chrysene	chr	<۰/۱ ^b	<۰/۴ ^a	<۰/۴ ^a
5-methylchrysene	5mc	Nd	nd	nd
Benzo[b]fluoranthene	bbf	Nd	<۰/۴ ^a	<۰/۳ ^b
Benzo[k]fluroanthene	bkf	Nd	nd	nd
Benzo[g]fluroanthene	bgf	Nd	nd	nd
Ideno[cd]pyrene	icp	Nd	nd	nd
Dibenzo[ah]anthracene	dha	Nd	nd	nd
Dibenzo[ghi]pyrene	bgp	Nd	nd	nd
Dibenzo[ae]pyrene	dep	Nd	nd	nd
Dibenzo[ai]pyrene	Dip	Nd	nd	nd
Dibenzo[ah]pyrene	dhp	Nd	nd	nd
Benzo[a]anthracene	baa	<۰/۱ ^c	<۰/۵ ^a	<۰/۳ ^b

nd بیانگر عدم شناسایی یا عدم حضور و تفاوت حروف نشانگر اختلاف معنادار در هر ردیف است ($p < 0.05$).

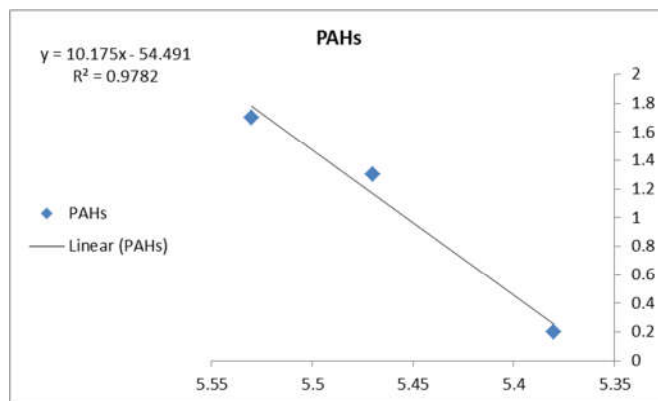


شکل ۳ تغییرات میزان PHAs با وزن مولکولی بالا HMW ماهی کپور طی دودی کردن و نگهداری

تفاوت حروف بین ستون‌ها نشانگر اختلاف معنادار در میانگین‌ها است ($p < 0.05$).



شکل ۴ رابطه همبستگی بین اسیدهای چرب غیراشباع (UFA) و PAHs در ماهیان دودی کپور



شکل ۵ رابطه همبستگی بین اسیدهای چرب امگا-۳ (3-omega) و PAHs در ماهیان دودی کپور

بحث

تغییرات ترکیب بیوشیمیایی

نتایج نشان داد پروتئین و چربی ماهی تازه طی فرآیند دودی کردن سرد افزایش و برعکس رطوبت آن کاهش می‌یابد. دودی کردن فرآیندی حرارتی است و طی آن و نیز طی نگهداری، محصول رطوبت خود را از دست داده و تا حدودی خشک می‌شود و موجب افزایش ماده خشک محصول می‌گردد. چنانچه Rezaei و همکاران (2014) پیرامون ماهیان دودی سفید، کفال طلایی و کپور نقره‌ای، Khoddami (2013) درباره دودی کردن ماهی آمور و نیز

Burt (1998) در خصوص خشک کردن حرارتی انواع ماهیان و همچنین Besharati (2004) هنگام دودی کردن قزل‌آلای رنگین‌کمان به این امر اشاره کردند. همچنین گزارش شده که در نوعی سوزن‌ماهی دریایی فرآیند خشک کردن در ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ دقیقه که از لحاظ حرارتی نوعی روش بینابین است، موجب کاهش ۱۱ درصدی رطوبت و افزایش ۴/۵ درصدی پروتئین و ۲ درصدی چربی و البته افزایش ۱/۵ درصدی خاکستر نیز شده بود (Koral et al., 2009). پژوهش حاضر نشان داد که فرآیند حرارتی دودی

کردن سرد با ۲۵ درجه سانتی گراد و به مدت ۲۴ ساعت، مقادیر پروتئین و چربی را به ترتیب تا ۲۳ و ۲ درصد افزایش می دهد و موجب کاهش تا ۳۵ درصدی رطوبت می گردد. در سایر روش های حرارت دهی به ماهی همانند پخت با آون و حتی بخارپز کردن نیز کاهش ۲۰ تا ۲۵ درصدی رطوبت گزارش شد (Ghauomi Jooyani et al., 2011). در عین حال محتوای خاکستر محصول در این تحولات تغییری نکرد و بیانگر تثبیت آن حین عمل آوری بود.

همانند پژوهش حاضر سایر سوابق نیز نشان داده است که خشک سازی ماهی اثرهای مثبتی بر روی کیفیت آن دارد و موجب افزایش پارامترهای مغذی می شود (Kumolu Johnson et al., 2012, Olayemi, et al., 2011).

تغییرات جمعیت میکروبی

نتایج این پژوهش مشخص کرد با دودی کردن ماهی، جمعیت باکتری ها کاهش می یابد اما در دوره نگهداری در شرایط یخچال میزان آن مجدد افزایش پیدا می کند. بنابراین در ابتدا فرایند دودی کردن رشد باکتری های عامل فساد را کاهش می دهد و باعث افزایش ماندگاری ماهی می شود. از سوی دیگر، شمارش کپک و مخمر حاکی از افزایش تعداد در زمان دودی سرد و نیز دوران نگهداری است. این موضوع بیانگر عدم توقف رشد قارچ ها طی فرایند دودی کردن سرد است.

حد مجاز تعداد باکتری در ماهی دودی شده 10^6 واحد کلنی تشکیل شده در گرم و یا 6 Log cfu/g است (Hedayatifard, 2003) و نتایج بیانگر حفظ کیفیت محصول حین فرایند و نیز نگهداری آن بوده است، اما با توجه به رشد پیوسته کپک و مخمر به نظر، پیشنهاد استفاده از بسته بندی و یا کاهش دمای نگهداری پس از دودی کردن منطقی به نظر می رسد. نتایج نشان داد افزودن

نمک هنگام تولید محصول و اعمال فرایند حرارتی موجب کنترل رشد میکروارگانیسم ها می شود. در این پژوهش بالاترین شمارش کلی باکتری ها $10^8 \times \text{LogCFU/g}$ و بالاترین رشد کپک و مخمر 4×10^4 واحد در گرم بود و دوره نگهداری قابل قبول ارزیابی گردید که با تحقیقات روی ماهی ساردین دودی از سوی Nyarko و همکاران (2011) مطابقت دارد. همچنین از یکسو گزارش ها از این حکایت دارند که ترکیباتی مثل هیدروژن، اسیدها، کربونیل و آلدهیدها و مشتقات آنها در فرایند تولید دود به وجود می آیند که موجب میکرو بکشی دود می شوند (Sikorski et al., 1998, Silva et al., 2011) و از سوی دیگر، عناصر فنولیک موجود در دود می توانند مانع رشد میکروارگانیسم ها شوند (Olayemi et al., 2011). در پژوهش حاضر استفاده از فرایند دودی سرد در دو مرحله بدون دود با هوای گرم ۳۵ درجه سانتی گراد و مرحله عبور دود با درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی گراد در زمان به نسبت کوتاه انجام شد. شرایط حرارتی مذکور دمای معتدلی در مباحث میکروبی می باشد و ممانعت چندانی از رشد میکروارگانیسم ها به ویژه مجموع کپک و مخمر نمی کند. از سوی دیگر مدت زمان دودی کردن نیز در این روش کوتاه است و اثر بازدارندگی نیز درباره نفوذ ترکیبات موجود در دود به بافت ماهی می باشد. بنابراین نتایج، کپک و مخمر نسبت به باکتری های موجود در ماهی از مقاومت بیشتری در برابر فرایند دودی کردن سرد برخوردارند.

تغییر شاخص های شیمیایی کیفیت

میزان pH، طی فرایند دودی کردن به میزان کم و غیرمعدناداری افزایش یافت و از ۵/۹۶ در نمونه تازه به ۶/۱۳ در نمونه دودی و طی نگهداری ماهی دودی شده نیز به ۶/۲۱ رسید ($p > 0.05$). با وجود این که افزایش جزئی pH به دلیل فعالیت میکروارگانیسم ها و هیدرولیز اسیدهای

چرب ماهیگزارش شده است (Hassan, 1998). ولی همان گونه که مشاهده شد نوسان pH در مطالعه کنونی کاملاً کنترل شد، بنابراین به عنوان یک عامل مطلق برای اندازه گیری فساد پیشنهاد نمی شود، زیرا این فاکتور تحت تأثیر سایر عوامل شیمیایی، میکروبی و حسی قرار دارد (Ersoy et al., 2008).

میزان ازت های تام فرار طی فرایند دودی کردن و نیز دوره نگهداری محصول دودی شده افزایش یافته است و از ۱۰/۷۸ به ۱۴/۰۱ در ماهی دودی و ۱۸/۱۰ mg/100g در روز سیام رسید که با توجه به تعیین محدوده مصرف مناسب ۳۰ تا ۳۵ mg/100g برای مصرف نهایی محصولات عمل آوری شده (Hedayatifard, 2003, Ludroff and Meyer, 1973) در محدوده قابل مصرف قرار داشت. این در حالی است که (Besharati (2004) اعلان کرد ماهیان قزل آلا که به روش سرد دودی شدند، دو هفته پس از تولید دارای TVB-N بالاتر از حد مجاز و به مرز ۴۵/۳۶ mg/100g رسیدند. Koral و همکارانش (2009) زمان مصرف سوزن ماهی دودی شده به روش گرم را فقط یک هفته اعلان کردند؛ با این توضیح که ماهی مذکور در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴۰ دقیقه دودی و در دمای محیطی ۱۷ درجه سانتی گراد نگهداری می شد، ولی نمونه هایی که در یخچال و ۴ درجه سانتی گراد نگهداری می شدند تا روز ۲۵ از لحاظ TVB-N پذیرفتنی بودند. ماهیان عمل آوری شده با روش دودی سرد به دلیل دمای پایین تر در تولید از ماندگاری کمتری نسبت به محصولات دودی گرم برخوردار می باشند، زیرا مواد نگهدارنده کمتری در بافت آنها تشکیل و تجمع می یابد.

تغییر ترکیب و پروفایل اسیدهای چرب

همان گونه که گفته شد، فرایند دودی کردن سرد و نگهداری ۳۰ روزه ماهیان دودی شده علاوه بر این که بر میزان اسید

چرب ماهی تأثیری ندارد، بلکه موجب حفظ ترکیب اسیدهای چرب مفید ماهی از قبیل امگا-۳ و امگا-۶ می شود. از جمله دو اسید چرب غیر اشباع چندگانه مفید ماهی EPA و DHA به خوبی محفوظ مانده، همچنین مجموع اسیدهای چرب غیر اشباع (UFA)، مجموع غیر اشباع با چند پیوند دوگانه (PUFA)، نسبت غیر اشباعیت و شاخص پلی ثن نیز طی فرایند دودی کردن و نگهداری، تغییر مشخصی نکرده اند. دلیل عدم تغییر ترکیب اسیدهای چرب می تواند ناشی از زمان کوتاه و درجه حرارت پایین در فرایند دودی کردن سرد باشد. تشکیل لایه ضخیم جلدی در محصولات دودی شده و حضور ترکیبات ضد اکسایش در آن، از نفوذ اکسیژن و تخریب اسیدهای چرب جلوگیری می کند. اگرچه اسیدهای چرب بافت محصولات دریایی دودی اندازه گیری (Rezaei et al., 2014; Khoddami, 2013) و یا شاخص های فساد چربی آن بررسی شده است (Olayemi et al., 2011; Koral et al., 2009; Hassan, 1998)، اما گزارشی از تأثیر این فرایند بر روی ترکیب و سری اسیدهای چرب محصول دودی ارائه نشده است.

با این حال میزان اسیدهای چرب امگا-۳ در ماهی کپور دودی شده ۵/۵۳ g/100g برآورد گردید که در محدوده ماهیان آمو با ۷/۱۸ (Khoddami, 2013) و سفید با ۸/۷۴ (Rezaei و همکاران، 2014) و کمتر از امگا-۳ ماهیان کفال طلایی با ۱۱/۱۸ و کپور نقره ای با ۱۵/۷۹ g/100g (Rezaei و همکاران، 2014) بوده است که همگی در شرایط تازه دودی شده قرار داشتند و همچنین اولئیک اسید نیز همانند گونه های مذکور اسید چرب غالب بود. نوع فرایند دودی کردن و تفاوت در درجه حرارت هنگام عمل آوری محصول در دودخانه و همچنین تفاوت در بافت چربی ماهیان مطالعه شده می تواند بر روی اسیدهای

شده طی ۳۰ روز به ترتیب برابر با ۰/۲۰، ۱/۷۰ و ۱/۳۰ میکروگرم در کیلوگرم بود که از حد مجاز تعیین شده از سوی اتحادیه اروپا برای مجموعاین ترکیبات در بافت ماهی دودی (۳۰ میکروگرم در کیلوگرم) بسیار کمتر بود (OJEU, 2011).

بیشتر PAHs سرطانزا، در گروه وزن مولکولی بالا قرار می گیرند. در پژوهش حاضر بالاترین غلظت HMW در ماهی کپور تازه دودی شده به دست آمد و با یک تغییر معنادار ($p < 0/05$) میزان آن، اگرچه اندک، ولی در طول دوره نگهداری کاهش یافت. نوع روش دودی کردن نیز روی تغلیظ PAHs مؤثر است، به طوری که گزارش شد، نمونه های دودی شده با ذغال با حرارت ۲۵۰ درجه سانتی گراد، دارای کمترین میزان PAHs نسبت به روش هیزم و پوشال بوده است (Silva et al., 2011).

طبق اعلام اتحادیه اروپا در سال ۲۰۱۱، حد مجاز و قابل قبول بنزوپیرن "BaP" در ماهیان دودی که شاخص سرطانزایی دود می باشد را ۵ میکروگرم در کیلوگرم تعیین کرد (OJEU, 2011). با مقایسه مطالعه کنونی میزان ماده فوق در ماهی دودی و نگهداری شده کپور کمتر از حد مجاز و به ترتیب حداکثر ۰/۴۰ و ۰/۳۰ میکروگرم در کیلوگرم بود. این ماده در سایر تحقیقات پیرامون ماهیان دودی نیز کمتر دیده شده است، به طوری که Rezaei و همکاران (2014) در ماهیان مورد مطالعه بین ۰/۰۰۱ تا ۰/۰۰۴ و Khoddami (2013) در ماهی آمور ۰/۰۰۲ میکروگرم در کیلوگرم برآورد کردند. برخلاف این نتایج Mihalca و همکاران (2012) از بین پانزده نمونه ماهی دودی مورد مطالعه، میزان BaP را در شش نمونه که همگی توسط دود داغ ناشی از آتش مستقیم دودی شده بودند، بیشتر از میزان مجاز برآورد کردند؛ این در حالی است که Ilkenna and Asuha (2012) چهار نمونه ماهی دودی تنها

چرب ماهیان مؤثر باشد. مطالعه کنونی همچنین موافق نتایج ارائه شده در گزارش Steiner-Asiedu و همکاران (1991) است که اعلان کردند در سه ماهی دودی شده ساردین، سیم و تیلایپا، مقادیر اسیدهای چرب غیراشباع هنگام فرایند دودی کردن و پختن بدون تغییر می ماند؛ البته همین محققان فرایند حرارتی سرخ کردن را کاملاً مؤثر دانسته اند.

تغییرات هیدروکربن های چندحلقه ای آروماتیک

میزان مجموع اسیدهای چرب غیراشباع (UFA) در ماهیان دودی یکی از عوامل افزایش میزان PAHs در بافت ماهیان دودی می باشد (Silva et al., 2011). از آن جایی که PAHs ترکیباتی چربی دوست^۱ می باشد (Ershad-Langroudi, 2004)، بنابراین افزایش میزان اسیدهای چرب در بافت ماهیان موجب جذب بیشتر این ترکیبات در حین دوددهی می شوند.

Rezaei و همکاران (2014) این فرضیه را ثابت کرده اند که بین تولید هیدروکربن های چند حلقه ای آروماتیک یا PAHs و چکیدن چربی ذوب شده از گوشت حرارت دیده بر روی سطح داغ دودخانه رابطه ای وجود دارد که مورد تجزیه حرارتی قرار گرفته و به تولید PAHs می انجامد. آنان همچنین اعلان نمودند با افزایش حجم دود، در نهایت ترکیبات چرب روی سطح ماهی در حال دودی شدن ته نشین می شود و موجب به وجود آمدن PAHs، از طریق تجزیه گرمایی یا پلیمریزاسیون می گردد. بنابراین هرچه مقدار چربی بالاتر باشد مقدار PAHs نیز بیشتر خواهد بود؛ مطلبی که پیش از این از سوی Chen and Chen (2005) گزارش شده بود. در این مطالعه میزان گروه چهارتایی پلی هیدروکربن های سنگین یا PAH₄ و با وزن مولکولی بالا (HMW) برای ماهی تازه، ماهی دودی شده و نگهداری

1. Lipophilic

در دو نمونه مقادیر ۰/۰۲۲ و ۰/۰۳۲ میکروگرم در کیلوگرم از این ماده را استخراج نمودند.

همان‌گونه که اشاره شد، افزایش میزان اسیدهای چرب غیراشباع (UFA) در بافت ماهیان موجب جذب بیشتر این ترکیبات در حین دوددهی می‌شود. مطابق شکل‌های ۴ و ۵، روابط همبستگی و ضریب بالای R^2 با مقادیر ۰/۹۴ و ۰/۹۷ نشان می‌دهد که بین اسیدهای چرب UFA و نیز امگا-۳ با تولید هیدروکربن‌های PAHs رابطه مستقیم وجود دارد. این مسئله در تحقیقات Rezaei و همکاران (2014) و نیز Khoddami (2013) نیز دیده شده است با این توضیح که در گزارش این محققان، ارتباط معنادار و مستقیمی بین تولید این مواد و میزان چربی خام ماهیان به دست نیامده بود. همچنین احتمال تغییر در PAHs بر اثر روش پخت خانگی و یا مواد افزودنی نیز وجود دارد (Badry, 2010).

بنابر نتایج به دست آمده، مقادیر ترکیبات هیدروکربنه چندحلقه‌ای آروماتیک در ماهیانی که به روش سرد دودی شده‌اند در محدوده مجاز مصرف قرار دارند و این کیفیت در طول دوره نگهداری ۳۰ روزه در سردخانه نیز پایدار می‌ماند. از سوی دیگر، با افزایش چربی، به‌ویژه چربی‌های غیراشباع در بافت ماهیان، تولید هیدروکربن‌های چندحلقه‌ای آروماتیک طی فرایند دودی سرد افزایش می‌یابد. این درحالی است که ترکیب و پروفایل اسیدهای چرب بافت ماهی نیز در طول فرایند دودی سرد تغییری نمی‌کند.

مطالعه بلند مدت ماهیان دودی در حین نگهداری در درجه حرارت محیط در فصول مختلف و همچنین در شرایط سردخانه‌ای، همانند آنچه در بازار عرضه این محصولات در ایران جریان دارد، می‌تواند دورنمای بهتری از اثرهای تولید، تغییرات و احتمالاً تجمع مواد PAHs در بافت فراورده‌های دودی را نشان دهد.

جمع‌بندی و نتیجه‌گیری

در طول فرایند دودی کردن سرد میزان رطوبت کاهش و در نتیجه مقادیر پروتئین و چربی افزایش می‌یابد. با وجود تثبیت نوسان مواد معدنی و pH، میزان TVB-N روندی افزایشی نشان می‌دهد. جمعیت باکتریایی حین فرایند دودی شدن کاهش یافته و در دوره نگهداری همراه با مجموع کپک و مخمر افزایش می‌یابد. با این حال، مجمع کپک و مخمر نسبت به باکتری‌ها از مقاومت بیشتری در برابر فرایند دودی سرد نشان دادند. بالا بودن اسیدهای چرب غیراشباع و سری امگا-۳، موجب افزایش ترکیبات PAHs در ماهی دودی می‌شود و هیدروکربن‌های آروماتیک HMW ابتدا افزایش و سپس در طی نگهداری یک‌ماهه کاهش می‌یابد. این ترکیبات برای ماهی کپور تازه، ماهی کپور دودی شده و نگهداری شده طی ۳۰ روز به ترتیب برابر با ۰/۲۰، ۱/۷۰ و ۱/۳۰ میکروگرم در کیلوگرم است که بسیار پایین‌تر از حد مجاز تعیین شده از سوی اتحادیه اروپا است. میزان مشخصی از بنزوپیرن "BaP" در ماهی تازه مشاهده نشده است، ولی در ماهی دودی شده این میزان ۰/۴ و پس از یک‌ماه به ۰/۳ میکروگرم در کیلوگرم رسید. مجموع اسیدهای چرب UFA و امگا-۳ در حین دودی کردن سرد تغییر نمی‌کنند. همچنین بین اسیدهای چرب UFA و امگا-۳ با تولید ترکیبات PAHs همبستگی بالایی وجود دارد. در جمع‌بندی کلی، فرایند دودی کردن سرد ماهی کپور، تأثیر مخربی بر سلامت و ارزش غذایی ماهی نمی‌گذارد و خطری درباره مصرف این فراورده شیلاتی دیده نمی‌شود.

منابع

Ackman, R.G., 1995. Composition and nutritive value of fish and shellfish lipids. P117-159, In: Ruiter A, Editor. *Fish and fishery products*:

- FAO, 2014. The state of world fisheries and aquaculture: Food and Agriculture Organization, Rome, Italy, 243p.
- Ghauomi Jooyani, E., Khoshkhou, Zh., Motallebi, A.A., and Moradi, Y., 2011.** The Effect of different Cooking methods on Fatty acid Composition of Tilapia *Oreochromis niloticus* fillet, *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 20(2): 108-121. (Abstract in English)
- Hasegawa, H., 1987.** Laboratory manual on analytical methods and procedures for fish and fish products, Marine Fisheries Research Department, Southeast Asian Fisheries Development Center in collaboration with Japan International Cooperation Agency, 226p.
- Hassan, I.M., 1998.** Processing of smoked common carp fish and its relation to some chemical, physical and organoleptic properties, *Food Chemistry*, 27(2): 95-106.
- Hedayatifard, M., 2003.** Fish and Shrimp Processing Technology, Persia Fishing Industries Company, Tehran. 120 pp. (Abstract in English)
- Hedayatifard M., and Yousefian, M., 2007.** Investigation of the changes of lipid and fatty acid composition of Sturgeon *Acipenser stellatus* under cold storing condition. *Fishery Technology*, 44(2): 193-198.
- Hedayatifard, M., and Jamali, Z., 2008.** Evaluation of omega-3 fatty acids composition in Caspian Sea pike perch (*Sander lucioperca*). *International Journal of Agriculture and Biology*, 10(2): 235-237.
- Hunt, A.O., and Tekelioglu, N., 2008.** Effect of dietary lipid sources on the growth and body fatty acid composition of Seabass (*Dicentrarchus labrax* L. 1758), *Journal of Animal and Veterinary Advances*; 7(8): 915-23.
- Ikenna, C.O., and Asuoha, A.N., 2012.** Identification and quantitative analysis of carcinogenic pah components in four different species of traditionally smoked fish purchased in portharcourt metropolis, rivers state, Nigeria. *Journal of Applied Sciences in Environmental Sanitation* 2012; 7(3): 215-9.
- ISO, 1999. Meat and meat products, Measurement of pH, Reference method No: ISO 2917.
- Jay, J.M., 1990.** Modern Food Microbiology, 4th Ed., Van Nostrand Reinhold Co., New York, 642p.
- composition, nutritive properties and stability.* Oxfordshire, UK: CAB International; 400p.
- AOAC, 2005.** Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th Edition, Current through Revision, AOAC International Suite 500481, Maryland USA, 20877-2417.
- Badry, N., 2010.** Effect of Household Cooking Methods and Some Food Additives on Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) Formation in Chicken Meat, *World Applied Science Journal*. 9: 963-974.
- Besharati, N., 2004.** Preliminary Observations on Nutritional and Microbiological Changes of Hot and Cold Smoked Trout (*Oncorhynchus mykiss*), Final Project Report, UNU Fisheries Training Program United Nation University, Reykjavik, Iceland, 51 p.
- Bligh, E.G., and Dyer, W.J., 1959.** A rapid method of total lipid extraction and purification, *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*; 37(8): 911-917.
- Bolaji, B.O., 2005.** 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.
- Burt, J.R., 1988.** Fish smoking and drying, Philadelphia, PA: Elsevier Applied Science, xii, 166 p.
- Chen, J., and Chen, S., 2005.** Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons by low density polyethylene from liquid model and roasted meat, *Food Chemistry*, 90(3): 461-469.
- Doe, P.E., Sikorski, Z., Haard, N., Olley, J., and San Pan, B., 1998.** Basic Principles, P: 13-45, In: Doe, P.E., (Ed.): *Fish Drying and Smoking: Production and Quality*. CRC Press, Technomic Publishing, 250p.
- Ershad-Langroudi, H., 2004.** Evaluation and comparison of shelf-life of PAHs compounds and their relation with lipid content in Caspian Sea smoked fish: silver carp, kutum and stone fish, PhD Thesis, Tehran, Iran: Islamic Azad University, Sciences Research Branch; 127p. (Abstract in English)
- Fahim-Dezhban, Y., 2008.** Processing of Fisheries Products, 1st Ed., Published by Mehrnabi, 291p.

- Olayemi, F.F., Adedayo, M.R., Bamishaiye, E.I., and Awagu, E.F., 2011.** Proximate composition of catfish (*Clarias gariepinus*) smoked in Nigerian stored products research institute (NSPRI): *Developed kiln. International Journal of Fisheries and Aquaculture*; 3(5): 96-8.
- Palm, L.M., Carboo, D., Yeboah, P.O., Quasie, W.J., Gorleku, M.A., and Darko, A., 2011.** Characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) present in smoked fish from Ghana, *Advance Journal of Food Science & Technology*, 3(5): 332-338.
- Rezaei, K., Hedayatifard, M., and Fattahi, E., 2014.** Identification and extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from smoked fish and their Effects on the quality, microbial, and fatty acid indexes, *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*; 23(108): 109-21 (Abstract in English)
- Roszek, M., Szytko, A., Szymczyk, K., and Waszkiewicz-Robak, B., 2012.** PAHs, PCBs, PBDEs and Pesticides in Cold-Pressed Vegetable Oils, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89(3):389- 400.
- Samanta, S.K., Singh, O.V., and Jain, R.K., 2002.** Polycyclic aromatic hydrocarbons: environmental pollution and bioremediation. *Trends in Biotechnology*, 20(6):243-8.
- Steiner-Asiedu, M., Julshamn, K., and Lie, Q., 1991.** 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*, 40(3): 309-321.
- Sikorski, Z.E., Haard, N., Motohiro, T., and Sun Pan, B., 1998.** Quality, P89-115, In: Doe, P.E., (Ed.), *Fish Drying and Smoking: Production and Quality*, CRC Press, Technomic Pub, 250p.
- Silva, B., Adetunde, O., Oluseyi, T., Olayinka, K., and Alo, B., 2011.** 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*; 5(7): 384-391.
- Simko, P., and Knezo, J., 1992.** Influence of cooking on benzo(a)pyrene content in frankfurters (short communication). *Nahrung*, 36(2): 208-209.
- Khoddami, S., 2013.** Comparison Study of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons of Caspian Sea Golden Mullet (*Liza aurata*), Caspian Kutum (*Rutilus frisii kutum*) and Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*), MSc Thesis in Fisheries, Advanced Education Center, Qaemshahr branch, Islamic Azad University, 126p, (Abstract in English)
- Koral, S., Köse, S., and Tufan, B., 2009.** Investigating the Quality Changes of Raw and Hot Smoked Garfish (*Belone belone euxini*, Günther, 1866) at Ambient and Refrigerated Temperatures, *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 9: 53-58.
- Kumolu-Johnson, C.A., Aladetohun, N.F., and Ndimele, P.E., 2010.** The effects of smoking on the nutritional qualities and shelf-life of *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822), *African Journal of Biotechnology*, 9(1): 73-76.
- Lin, H., Jiang, J., and Li, D., 2008.** Potential hazards in smoke flavored fish. *Journal of Ocean University of China* (English Edition), 7(3):294-8.
- Ludroff, W., and Meyer, V., 1973.** Fische Und Fischerzeugnisse, Paul Parey Verlag, Hamburg-Berlin, 294p.
- Mihalca, G.L., Tita, O., Tita, M., and Mihalca, A., 2011.** Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in smoked fish from three smoke-houses in Brasov County, *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 17(4): 392-397.
- Miler, K.B.M., and Sikorski, Z.E., 1990.** Smoking. P163-180, In: Sikorski, Z.E., (Ed), *Seafood: resources, nutritional composition, and preservation*. NY: CRC Press, 256p.
- Nyarko, H.D., Obodai, E.A., Coomson, L.K., Coomson, S.S., and Aniwe, Y., 2011.** Microbial profile of smoked sardine (*Sardillella aurita*) AT smoking sites and market centres of Tema, Ghana-1, *Archives of Applied Science Research*; 3(3): 443-53.
- OJEU, 2011.** *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: europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.Do?uri=OJ:L:2011:215:0004:0008:EN:PDF/

and Smoked Fish Products, P47-69, In: *Fish Drying and Smoking: Production and Quality*, Doe, P.E., (Ed), CRC Press, Technomic Publishing, 250p

Stolyhwo, A., and Sikorski, Z.E., 2005. Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked fish—a critical review, *Food Chemistry*, 91(2):303-311.

Yean, Y.S., Pruthiarenun, R., Doe,P.E., Motohiro, T., and Gopakumar, K., 1998. Dried



Effect of Cold-Smoking on The Production of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs), Quality Indexes, Microbial Community and Omega-3 Fatty acid Profile of Common Carp *Cyprinus carpio*

Masoud Hedayatifard^{1*}, Peyman Ariaei², and Ehsan Hassani-Moghadam³

1 Associate Professor, Department of Fisheries, College of Agriculture and Natural Resources, Qaemshahr branch, Islamic Azad University, PO Box: 163, Qaemshahr, Iran.

2 Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture and Food Sciences, Ayatollah Amoli branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.

3 MSc Graduate, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture and Food Sciences, Ayatollah Amoli branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.

Received: 2015.11.01 Accepted: 2016.10.22

*Corresponding author: Hedayati.m@qaemiau.ac.ir

Abstract

The effect of cold-smoking was studied on the production of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), quality indexes, microbial community and omega-3 fatty acid profile of common carp. Thus, the fresh fish was smoked and stored for 30 days at 4°C. The nutritional values of both fresh and smoked products (protein, lipid, moisture and ash), pH and TVB-N indexes, microbial count including TC, molds and yeasts, were determined and polycyclic aromatic hydrocarbons PAHs, carcinogenic PAH₄ compounds and also fatty acids composition were determined using HPLC and GC, respectively. The results showed that microbial community was well controlled and moisture content decreased during smoking, thus protein and lipid content were increased ($P < 0.05$). TVB-N index for fresh fish was 10.87 and increased to 14.01 and 18.10 mg/100 in smoked and 30th days of production, respectively ($P < 0.05$). High molecular weight of PAH₄ were evaluated at 0.20, 1.70 and 1.30 µg/kg, respectively ($P < 0.05$). No benzo[a]pyrene as a carcinogenic hydrocarbon in fresh fish was found, while it was found during smoking process (0.40 µg/kg) and after 30 days of storing (0.30 µg/kg) ($P < 0.05$). The ω-3 fatty acids were determined in a range of 5.38 and raised to 5.53 g/100g in smoked fish and 5.47 g/100g after 30 days, which was insignificant ($P > 0.05$). The results also showed that cold-smoking and one month storing at 4°C didn't change the composition of carp fatty acid, and useful series such as ω-3, ω-6, EPA and DHA were well preserved.

Keywords: Benzo[a]Pyrene, Carp, Cold-Smoking, Fatty acid, PAHs