



## بررسی تاثیر جوشاندن و سرخ کردن عمیق به عنوان دو روش پخت و پز بر میزان نیتروزآمین‌های فرار و هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای (PAHs) کوکتل دودی

مهدی میرزآزاده<sup>۱</sup>، احسان صادقی<sup>۲\*</sup>، فرانک بیگ محمدی<sup>۳</sup>

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران.

۲- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، مرکز تحقیقات عوامل محیطی موثر بر سلامت (RCEDH)،

دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.

۳- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران.

### چکیده

### اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۷/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۸/۱۷

کلمات کلیدی:

کوکتل دودی،

نیتروزآمین،

هیدروکربن‌های پلی آروماتیک چند

حلقه‌ای،

جوشاندن،

سرخ کردن عمیق

DOI: 10.52547/fsct.18.121.10

DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.121.8.2

\* مسئول مکاتبات:

ehsan.sadeghi59@yahoo.com

گوشت و فرآورده‌های گوشتی به عنوان جزء اصلی رژیم غذایی و تأمین کننده بخش وسیعی از نیازهای پروتئینی، ویتامینی و املاح مورد نیاز بدن انسان محسوب می‌شوند. با این وجود، پختن موجب ایجاد ترکیبات مضر و نامطلوب در آن‌ها می‌شود. در این میان، نیتروزآمین‌ها فرار (VNAs)<sup>۱</sup> و هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای (PAHs)<sup>۲</sup> به دلیل پتانسیل سرطان‌زایی بالا بیشتر مورد توجه قرار گرفته اند. در این مطالعه، نمونه‌های کوکتل دودی گوشت گاو (۵۵٪) از مراکز عرضه فرآورده‌های پروتئینی سطح شهر کرمانشاه به طور تصادفی، از سه شرکت معتبر (۲۰ نمونه از هر یک از برندها) تهیه شدند. سپس، باقیمانده سه نوع نیتروز آمین N-نیتروزودی متیل آمین (NDMA)<sup>۳</sup>، N-نیتروزوپیرولیدین (NPYR)<sup>۴</sup> و N-نیتروزوپیریدین (NPIP)<sup>۵</sup> پس استخراج با روش میکرو استخراج مایع-مایع (DLLME)<sup>۶</sup> و دو PAHs شامل بنزوآپیرن (Bap)<sup>۷</sup> و بنزو-آ-آنتراسن (Ban)<sup>۸</sup> پس از جداسازی با روش استخراج فاز جامد (SPE)<sup>۹</sup> در نمونه‌های پخته شده با دو روش جوشاندن (Boiling) و سرخ کردن عمیق (Deep frying) توسط کروماتوگرافی گازی مجهز به با دتکتور یونیزاسیون شعله (GC-FID)<sup>۱۰</sup>، اندازه گیری شد. بر اساس نتایج حاصل، سرخ کردن عمیق منجر به افزایش معنی‌دار مقدار نیتروز آمین‌ها و PAHs شد. با این وجود، میزان این ترکیبات در نمونه‌های فرآوری شده به روش جوشاندن از نظر آماری با نمونه کنترل تفاوتی نداشت ( $p > 0.05$ ). برندهای مختلف نیز حاوی مقادیر متفاوتی از نیتروز آمین‌ها و PAHs بودند. بنابراین، روش جوشاندن می‌تواند به عنوان یک روش مناسب و ایمن برای پخت گوشت و فرآورده‌های گوشتی مد نظر قرار گیرد.

1. Volatile N-nitrosamines
2. Polycyclic aromatic hydrocarbons
3. N-nitrosodimethylamine (NDMA)
4. N-nitrosopyrrolidine (NPYR)
5. N-nitrosopiperidine (NPIP)
6. Dispersive liquid-liquid micro-extraction
7. Benzo[a] pyrene
8. Benzo[a] anthracene
9. Solid phase extraction
10. Gas chromatography equipped with flame ionization detector

## ۱- مقدمه

گوشت نقش حیاتی در رشد و سیر تکاملی انسان دارد و به دلیل ارزش تغذیه ای بالا، ترکیب مهمی در یک رژیم سالم و متعادل به شمار می‌رود. از نظر تغذیه‌ای، اهمیت گوشت مربوط به محتوای بالای پروتئین و داشتن همه اسیدهای آمینه ضروری، مواد معدنی، ویتامین‌ها و ریز مغذی‌هایی مثل آهن، سلنیوم، روی و ویتامین B12 می‌باشد. فرآوری گوشت به شکل محصولات مختلف از جمله انواع سوسیس و کالباس با افزایش طول عمر نگهداری و تنوع در طعم و مزه نسبت به گوشت همراه است و قیمت کمتری در مقایسه با آن دارد که موجب افزایش توجه به این فرآورده‌ها شده است. با این وجود، ترکیبات نامطلوبی مثل نیتروزآمین‌ها، هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای (PAHs)، آمین‌های هتروسیلیک، آمین‌های بیوزنیک و فرآورده‌های حاصل از اکسایش لیپید می‌توانند روی مصرف گوشت و فرآورده‌های آن تاثیرگذار باشند. در این میان به نیتروزآمین‌ها، به دلیل استفاده از نیتريت در فرآورده‌های گوشتی و PAHs بعلت خاصیت سرطان‌زایی بالا، توجه ویژه‌ای شده است [۱ و ۲].

نیتريت به طور گسترده‌ای برای جلوگیری از رشد میکروارگانيسم‌های بیماری‌زای غذایی به ویژه کلستریدیوم بوتولینوم در فرآورده‌های گوشتی استفاده می‌شود. نیتريت همچنین نقش مهمی در ایجاد رنگ قرمز، طعم و بافت این فرآورده‌ها ایفا می‌کند. به علاوه، این ماده با تاخیر در وقوع فرآیندهای اکسایش، از نرسیدگی اکسایشی و ایجاد طعم و بوهای نامطلوب طی دوره نگهداری جلوگیری می‌کند. بنابراین، استفاده از نیتريت به عنوان یک ماده عمل‌آوری ضروری جهت حفظ ایمنی و کیفیت فرآورده‌های گوشتی پذیرفته شده است. با این وجود، نیتريت نقش زیادی در تشکیل ترکیبات سرطان‌زای نیتروزآمین دارد [۳ و ۴]. آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان (IARC)، N-Nیتروزودی متیل آمین (NDMA) و N-نیتروزودی اتیل آمین (NDEA) را از جمله ترکیبات سرطان‌زا برای انسان معرفی کرده است. دیگر نیتروزآمین‌های متداول یافت شده در فرآورده‌های گوشتی مثل N-نیتروزودی بوتیل آمین (NDBA)، N-نیتروزوپیرولیدین (NPYR) و نیتروزوپیریدین (NPIP) نیز برای انسان سرطان‌زا عنوان شده اند [۵]. N-نیتروزآمین‌ها از واکنش بین عوامل نیتروزکننده

(نیتريت‌ها، نیتريت‌ها و اکسیدهای نیتروزن) استفاده شده به عنوان نگهدارنده و مواد حاوی یک گروه آمین مانند آمین‌ها و آمیدهای نوع اول، دوم و سوم، پروتئین‌ها، پپتیدها و اسیدهای آمینه تشکیل می‌شوند. این ترکیبات در اثر یک واکنش شیمیایی یا میکروبی نیز تولید می‌شوند. تشکیل این ترکیبات در فرآورده‌های گوشتی به پارامترهای مختلف شامل دما، زمان و روش پخت، غلظت نیتريت اضافه شده یا باقیمانده، میزان pH، غلظت پیش‌سازهای نیتروزآمین، حضور تسريع‌کننده‌ها یا بازدارنده‌های نیتروزاسیون و میکروبیوتا (Microbiota) [۶] بستگی دارد. تیمارهای قبل از فرآوری و دیگر شرایط فرآوری مثل دودی کردن و شرایط نگهداری نیز در تشکیل این ترکیبات موثرند. از طرفی، آمین‌های بیوزنیک هم توانایی واکنش با نیتريت‌ها و تولید نیتروزآمین‌های سرطان‌زا را دارند. به عنوان مثال عنوان شده است NPYR می‌تواند از اسپرمیدین و اسپرمین، NPIP از کاداورین یا پپیریدین و NDMA از اسپرمیدین و پوترسین به وجود آیند.

پخت گوشت برای دستیابی به یک محصول خوش طعم و ایمن ضروری است. همچنین، این فرآیند، قابلیت هضم و دسترسی زیستی ریزمغذی‌ها را افزایش می‌دهد و موجب بهبود ویژگی‌های حسی گوشت، کاهش بار میکروبی و افزایش ایمنی آن می‌شود. با این وجود، پختن می‌تواند موجب تشکیل ترکیبات مضر و نامطلوب شود. پخت گوشت در دوران مدرن می‌تواند به روش‌های مختلفی انجام شود، از جمله جوشاندن، بخارپز کردن، برشته کردن، کباب کردن، سرخ کردن، میکروویو، گریل کردن و دود دادن. عمل‌آوری با نیتريت و عملیات حرارتی (جوشاندن و سرخ کردن) از روش‌های معمول فرآوری گوشت جهت تولید سوسیس‌های امولسیون شده، ژامبون پخته شده و محصولات سستی مانند سوسیس عمل‌آوری شده با نیتريت هستند [۸-۶]. دما، زمان و روش‌های پخت از جمله گریل کردن، برشته کردن و سرخ کردن اثر قابل توجهی روی تشکیل نیتروزآمین‌ها دارند و به طور کلی محتوای این ترکیبات با افزایش دما و زمان پخت افزایش می‌یابد [۷]. Sallan و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که افزایش زمان و دمای پخت، میزان نیتروزآمین‌های N-نیتروزودی متیل آمین (NDMA)، N-نیتروزوپیرولیدین (NPYR) و N-نیتروزوپیریدین (NPIP) سوسیس تخمیری را افزایش داد [۹].

14. میکروبیوتا (Microbiota) یا (Microbiome) به کل میکروارگانيسم‌ها، ژن‌ها و متابولیت‌های آنها گفته می‌شود.

11. International Agency for Research On Cancer

12. N-Nitrosodiethylamine

13. N-Nitrosodi-n-butylamine

(FAO)<sup>۱۶</sup>، IARC و کمیته علمی غذا اروپا (SCF)<sup>۱۷</sup> سازمان ایمنی مواد غذایی اروپا (EFSA)<sup>۱۸</sup> و آژانس حفاظت از محیط زیست ایالات متحده (EPA)<sup>۱۹</sup> گزارش شده است [۱ و ۲]. در سال ۲۰۰۵، کمیته تخصصی افزودنی‌های غذایی FAO / WHO چهارده PAHs را به عنوان ترکیبات ژنوتوکسیک و سرطان‌زا تعیین کردند. چند سال بعد، سازمان ایمنی غذایی اروپا (EFSA)، بر اساس داده‌های مربوط به وقوع و سمیت، هشت PAHs را به عنوان مناسب‌ترین شاخص PAHs سرطان‌زا در مواد غذایی انتخاب کرد. این PAHs عبارتند از بنزو-آپیرن (Bap)، کریزن (Chr)<sup>۲۰</sup>، بنزو-آنتراسن (Ban)، بنزو-ب-فلورانتن (BbF)<sup>۲۱</sup>، بنزو-ک-فلورانتن (BkF)<sup>۲۲</sup>، دی بنزو-ا-آنتراسن (DBahA)<sup>۲۳</sup>، بنزو- g، h، ای پیریلن (BghiP)<sup>۲۴</sup> و ایندول-۱،۲،۳-c، d-پیرن (IP)<sup>۲۵</sup>. با این حال، برخی از مطالعات فقط با استفاده از چهار نوع PAH : بنزو-آ-پیرن (Bap)، کریزن (Ch)، بنزو-آ-آنتراسن (Ban) و بنزو-ب-فلورانتن (BbF) به عنوان شاخص‌های سرطان‌زایی انجام شده است [۱۵ و ۱۶].

تعیین میزان نیتروزامین‌ها و PAHs در فرآورده‌های گوشتی به سبب اثرات قابل توجه سمیت و سرطان‌زایی این ترکیبات و همچنین با توجه به مصرف بالا و روزافزون سوسیس و کالباس دودی در کشور از اهمیت بالایی برخوردار است. همچنین، اندازه‌گیری غلظت این ترکیبات می‌تواند به عنوان معیاری جهت ارزیابی کیفیت تغذیه‌ای و نیز تعیین کیفیت فرآیندهای فرآوری و حرارتی مختلف مورد توجه قرار گیرد. از جمله روش‌های پخت فرآورده‌های گوشتی، جوشاندن می‌باشد که به دلیل انطباق با استانداردهای کیفی و بهداشتی می‌تواند به عنوان یک روش مطلوب در پخت و پز این فرآورده‌ها تلقی گردد. از طرفی با توجه به افزایش مصرف فست فودها، استفاده گسترده‌ای از روش سرخ کردن عمیق صورت می‌گیرد. پژوهش جامعی نیز در زمینه ارزیابی و مقایسه میزان نیتروزامین‌ها و PAHs پس از سرخ کردن و جوشاندن نمونه‌های کوکتل دودی وجود ندارد. در نتیجه، انجام این پژوهش ضروری به نظر می‌رسد. در

پلی آروماتیک هیدروکربن‌ها (PAHs) گروهی از ترکیبات چربی دوست پایدار از لحاظ شیمیایی هستند که دارای دو یا بیشتر حلقه بنزن ساخته شده از اتم‌های هیدروژن و کربن می‌باشند و به دو نوع PAHs سبک حاوی حداکثر ۴ حلقه بنزن ذوب شده و PAHs سنگین، حاوی بیش از ۴ حلقه بنزن تقسیم می‌شوند. PAHs سنگین، سمی‌تر و انواع سبک، پایدارتر هستند [۱۰]. این ترکیبات همچنین به عنوان آلاینده‌های محیطی تشکیل شده ناشی از سوختن ناقص یا پیرولیز زغال سنگ، نفت، سوخت و سایر مواد آلی و نیز فرآوری نفت خام و گازهای طبیعی تعریف می‌شوند. این ترکیبات به طور گسترده‌ای در هوا پخش می‌شوند و به دلیل ویژگی‌های لیپوفیلی خود تمایل به تجمع در زنجیره غذایی دارند. غذاها می‌توانند از طریق آلودگی محیط زیست، مواد بسته‌بندی یا برخی از روش‌های فرآوری مواد غذایی مانند خشک کردن، پختن، کباب کردن، برشته شدن و دودی کردن به PAHs آلوده شوند. تقریباً تمام روش‌های پخت و پز باعث تشکیل PAHs روی گوشت و فرآورده‌های گوشتی در سطوح مختلف می‌شوند. عنوان شده است که دود دادن، کباب کردن و برشته کردن باعث تشکیل PAHs در سطوح بالا می‌شود، در حالی که شرایط ملایم پخت و پز مانند بخارپز کردن میزان تشکیل PAHs را کاهش می‌دهد [۱۱ و ۱۲]. مقدار PAHs تشکیل شده در محصولات غذایی، به ویژگی‌های غذا (به ویژه نوع و محتوای چربی)، فرآیند پختن (به عنوان مثال، بو دادن، کباب کردن، جوشاندن، دودی کردن)، نوع منبع گرما (به عنوان مثال، زغال سنگ، گاز، چوب، برق) و تماس و مجاورت با منبع گرما بستگی دارد. اگرچه به طور قطعی اثبات نشده است، اما تصور می‌شود که PAHs در نتیجه سه نوع سازوکار در مواد غذایی ایجاد می‌شود. یک مکانیسم بر اساس تشکیل PAHs توسط تجزیه حرارتی مواد آلی، مانند پروتئین، کربوهیدرات و به ویژه چربی در دماهای بالا (۵۰۰-۹۰۰ °C) است. مکانیسم دیگر بر اساس عملکرد ناشی از تماس مستقیم لیبیدها است که با حرارت شدید مستقیماً روی شعله می‌چکد و می‌تواند PAHs فرار تولید کند که به نوبه خود، با بالا رفتن دود، به سطح غذا می‌چسبند. سازوکار سوم بر اساس احتراق ناقص زغال سنگ است که PAHs را تشکیل می‌دهد و در سطح مواد غذایی رسوب می‌کند [۱۳ و ۱۴]. اثرات جهش‌زایی و سرطان‌زایی PAHs توسط سازمان بهداشت جهانی (WHO)<sup>۱۵</sup> و سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد

15. World Health Organization

16. Food and Agriculture Organization
17. Scientific Committee on Food
18. European Food Safety Authority
19. Environmental Protection Agency
20. Chrysanthemum
21. Benzo(b)fluoranthene
22. Benzo(k)fluoranthene
23. Dibenz (a, h) anthracene
24. Benzo (g, h, i) perylene
25. Indeno(1,2,3-cd) pyrene

آشامیدنی). دمای پخت و پز به طور مداوم توسط ترموکوپل کنترل شد.

## ۲-۴- مراحل استخراج و اندازه گیری نیتروزامین‌ها

برای جداسازی نیتروزامین‌ها، از تکنیک میکرواستخراج مایع-مابغ پخشی<sup>۲۶</sup> استفاده گردید. بر این اساس برای جداسازی نیتروزامین از کوکتل‌ها، نمونه‌های شاهد و تیمار شده جداگانه آسیاب و از هر یک از نمونه‌های کوکتل دودی ۱ گرم توزین شدند. نمونه‌های توزین شده با ۱۰ میلی‌لیتر سود ۱ نرمال مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه تحت اتوکلاو قرار گرفتند. پس از سرد شدن، با کمک قیف جدا کننده (دکانتور)، دی کلرومتان (حلال استخراجی) و اتانول (حلال پخشی) استخراج نیتروزامین انجام گردید و روی سولفات سدیم بدون آب و به کمک تغلیظ کننده کودرنا-دانش<sup>۲۷</sup> و جریان گاز نیتروژن به حجم نیم میلی‌لیتر رسانده شد. کنسانتره حاصله روی ستون سیلیکاژل متعادل شده با دی کلرومتان، بارگذاری و در ادامه با ۱۰ میلی‌لیتر دی کلرومتان شسته شد. پس از اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر از اکتان (به منظور جلوگیری از خشک شدن حلال) محلول حاصل از شستشو با کمک تغلیظ کننده کودرنا-دانش و جریان گاز نیتروژن تا حجم ۱ میلی‌لیتر تغلیظ شد و در نهایت ۱ میکرولیتر از آن جهت آنالیز به دستگاه تزریق گردید. همچنین، مجموعه‌ای از محلول‌های استاندارد کار از محلول‌های استاندارد اولیه نیتروزامین‌ها با رقیق نمودن توسط متانول تهیه و قبل از استفاده در دمای  $20^{\circ}\text{C}$  - ذخیره شدند. غلظت‌های ۴، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر لیتر (پی‌پی‌بی) از استاندارد نیتروزامین‌های مذکور جهت رسم نمودار کالیبراسیون، تعیین زمان بازداری (Rt)<sup>۲۸</sup>، محدوده خطی، حد کمی (LOQ)<sup>۲۹</sup> و حد تشخیص (LOD)<sup>۳۰</sup> و اعتبارسنجی روش، به دستگاه GC تزریق شد. LOD و LOQ درصد بازیافت نیتروزامین‌ها به ترتیب برابر با ۰,۳۰-۰,۱۴ میکروگرم/لیتر، ۰,۴۲ - ۰,۹۰ میکروگرم/لیتر و ۱۰۳-۸۹ درصد بود.

GC / FID مورد استفاده در این پژوهش (Thermo Finigan Italia S.p.A - مدل AS 2000) مجهز به یک آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای (FID) و تزریق کننده

مطالعه حاضر، اثر دو روش پخت جوشاندن و سرخ کردن عمیق روی میزان نیتروزامین‌های NDMA، NPIP و NPYR و دو نوع PAHs شامل Bap و Ban کوکتل‌های دودی با درصد گوشت یکسان (۵۵ درصد) ارزیابی شد.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد شیمیایی

سود یک نرمال، اسید آسکوربیک، اتانول، اکتان، دی کلرومتان، سولفات سدیم خشک، کلرید سدیم، هیدروکسید پتاسیم، n-هگزان، متانول، دی کلرومتان و سولفات سدیم خشک از شرکت مرک (Darmstadt, Germany) با درجه آزمایشگاهی و استانداردهای نیتروزامین‌ها (NDMA، NPIP و NPYR) و PAHs (Bap و Ban) از شرکت سیگما (Supleco, USA) تهیه شدند.

### ۲-۲- تهیه و آماده سازی نمونه

نمونه‌های کوکتل دودی (۵۵٪ گوشت) از سه شرکت معتبر A، B و C (از هر کدام ۱ کیلوگرم) از مراکز عرضه فرآورده‌های پروتئینی سطح شهر کرمانشاه خریداری و به آزمایشگاه منتقل و تا زمان آنالیز در یخچال تحت دمای  $4^{\circ}\text{C}$  نگهداری گردید.

### ۲-۳- روش‌های پخت

#### ۲-۳-۱- تیمار سرخ کردن عمیق (Deep Frying)

نمونه‌های کوکتل دودی هر سه برند خریداری شده به طور همزمان و بدون اسلایس کردن (به منظور بدست آوردن شکل و سایز یکسان) در یک سرخ کن الکتریکی دارای پوشش تفلون (Delonghi, Italy) سرخ شدند. نوع فرآیند سرخ کردن از نوع سرخ کردن عمیق در دمای  $171^{\circ}\text{C}$  و روغن مورد استفاده از نوع مخصوص سرخ کردن (۵۰۰ میلی‌لیتر) بود. دمای پخت و پز به طور مداوم توسط ترموکوپل کنترل شد و مدت زمان فرآوری برای کوکتل‌ها تا زمان سرخ شدن مناسب از لحاظ بصری محاسبه گردید (حدود ۱۰ دقیقه).

#### ۲-۳-۲- تیمار جوشاندن (Boiling)

جوشاندن نمونه‌های کوکتل دودی هر سه برند خریداری شده به طور همزمان و بدون اسلایس کردن (به منظور بدست آوردن شکل و سایز یکسان) در دمای  $90^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب انجام شد (حدود ۵۰۰ میلی‌لیتر آب

26. The Dispersive Liquid-liquid Micro extraction (DLLME) technique

27. Kuderna-Danish concentrator

28. Retention Time

29. Limit of Detection

30. Limit of Quantitation

ستون‌های SPE با ۱۰ میلی‌لیتر دی کلرومتان و ۲۰ میلی‌لیتر n-هگزان با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر/دقیقه مشروط شدند. عصاره تغلیظ شده هر یک از نمونه‌ها روی ستون‌های SPE<sup>31</sup> PTFE بارگیری و با ۷۰ میلی‌لیتر n-هگزان شستشو شدند. سپس در یک حمام آب تحت جریان نیتروژن خشک شده و دوباره با ۳ میلی‌لیتر متانول مخلوط و با حمام آب تحت جریان نیتروژن خشک گردید. هر یک از کنسانتره‌های خشک شده حاصله در ۱ میلی‌لیتر n-هگزان حل و از میان غشای ژل فیلتر (GF)<sup>32</sup> با منافذ ۰٫۴۵ میکرومتر عبور داده شدند و سپس به دستگاه تزریق شدند. همچنین، غلظت‌های ۴۰، ۸۰، ۱۲۰، ۱۶۰ و ۲۰۰ میکروگرم در لیتر (پی‌پی‌بی) از استاندارد PAHs مذکور جهت رسم نمودار کالیبراسیون، تعیین Rt (زمان بازداری)، محدوده خطی، حد کمی (LOQ) و حد تشخیص (LOD) و اعتبارسنجی روش به دستگاه GC / FID تزریق شد. LOD، LOQ و درصد بازیافت PAHs به ترتیب برابر با ۰٫۲۴-۰٫۱۹، ۰٫۱۹-۰٫۱۹، ۰٫۷۲-۰٫۵۷ میکروگرم/لیتر و ۹۳-۸۷ درصد به دست آمد.

PAHs توسط دستگاه GC از نوع Thermo Finnigan FID (Italia S.p.A: AS 2000) مجهز به آشکارساز MAGEREY (Germany) روی یک ستون موئین (OPTIMA® XLB (NAGEL, film thickness: 0.25 μm, length: 30 m×ID: 0.25 mm) جداسازی شدند. برای جداسازی PAHs، دمای محفظه تزریق ۲۵۰ °C و دمای آشکارساز در ۲۸۰ °C نگه داشته شد. برنامه آون هم به شرح زیر بود: دمای ۴۰ °C به مدت ۲ دقیقه؛ افزایش دما به ۲۴۰ °C با سرعت ۳۰ °C در دقیقه و ثابت نگه داشتن در همین دما به مدت ۲ دقیقه؛ افزایش دما تا ۳۴۰ °C با سرعت ۱۰ °C در دقیقه و ثابت نگه داشتن دما به مدت ۵ دقیقه. نمونه به صورت غیر انشعابی (splitless) تزریق شد. حجم تزریق ۱ میکرولیتر و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت ۶۰ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد. خلوص گاز مورد استفاده بیش از ۹۹٫۹۹۹٪ بود. زمان تاخیر حلال ۴ دقیقه تعیین شد [۱۸].

## ۲-۶- تجزیه و تحلیل آماری

نتایج به‌دست آمده با استفاده از روش آنالیز واریانس (ANOVA)<sup>33</sup> در سطح معنی‌داری ۵ درصد ( $p < 0.05$ ) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون‌های دانکن

انشعابی/غیرانشعابی (split/splitless) بود. ترکیبات نیتروآمین روی یک ستون موئینگی OPTIMA®5 (MAGEREY NAGEL, Germany) (length: 30 m×ID: 0.25 mm., film thickness: 0.5 μm) جداسازی شدند. برای جداسازی نیتروز آمین‌ها، محفظه تزریق و دمای آشکارساز در دمای ۲۸۰ °C نگه داشته شد. برنامه آون هم به شرح زیر بود: دمای آون ۴۰ °C به مدت ۱ دقیقه؛ افزایش دما به ۱۰۰ °C با سرعت ۱۰ °C در دقیقه و ثابت نگه داشتن در همین دما به مدت ۳ دقیقه؛ افزایش دما تا ۲۸۰ °C با سرعت ۱۰ °C در دقیقه و ثابت نگه داشتن دما به مدت ۲ دقیقه. نمونه به صورت بدون انشعاب (splitless) تزریق شد. حجم تزریق ۱ میکرولیتر و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت ۱ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد. خلوص گاز مورد استفاده بیش از ۹۹٫۹۹۹٪ بود. زمان تاخیر حلال ۴ دقیقه تعیین شد [۱۳ و ۱۷].

## ۲-۵- استخراج، خالص سازی و اندازه گیری PAHs

۳۰ گرم از هر یک نمونه‌های کوکتل پس رسیدن به دمای محیط توسط خردکن (Moulinex, Type DPA 1, CMMF 800 W, France) آسیاب شدند و سپس ۲ گرم سولفات سدیم به عنوان خشک کننده برای تبخیر آب نمونه‌ها اضافه شد. در ادامه، ۱۵۰ میلی‌لیتر محلول آبی متانول-پتاس ۲ مولار (نسبت متانول به آب ۹ به ۱ حجمی / حجمی) به منظور هیدرولیز اضافه گردید. مخلوط حاصل در یک حمام آب گرم (Memmert, Model WNB14, Germany) با دمای ۷۰ °C به مدت ۲ ساعت و ۳۰ دقیقه جهت هیدرولیز بهتر، سیرکوله شد. پس از انجام هیدرولیز، مخلوط خنک شد و PAHs از نمونه‌های هیدرولیز شده توسط ۵۰ میلی‌لیتر مخلوط n-هگزان و دی کلرومتان (۴ به ۱) در یک کیف جداکننده (دکانتور) استخراج شدند. ۱۵ دقیقه به بالن‌های حاوی نمونه برای متعادل سازی و جداسازی فازها، وقت داده شد. تمامی این مراحل از ابتدا تا انتها برای هر یک از نمونه‌ها ۳ مرتبه، جهت اطمینان از جداسازی کامل PAHs صورت گرفت. در نهایت، مواد استخراج شده حاصل از ۳ تکرار با هم مخلوط و توسط حمام آب گرم ۳۵ °C تحت جریان نیتروژن خشک شدند. در ادامه، نمونه‌های خشک شده با ۲ میلی‌لیتر n-هگزان مخلوط گردید و توسط تکنیک استخراج فاز جامد (SPE) خالص سازی شدند.

31. Polytetrafluoroethylene  
32. Gel filter  
33. Analysis of variance

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- تاثیر فرآیند حرارتی بر میزان Ban در

#### کوکتل

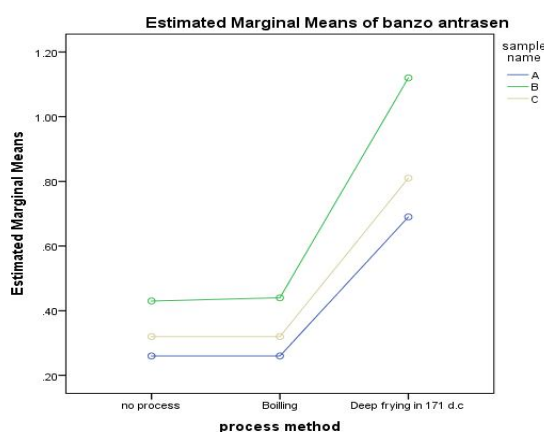
جدول ۱ نتایج مربوط به اثر روش‌های حرارتی سرخ کردن عمیق و جوشاندن روی میزان Ban در کوکتل دودی را نشان می‌دهد.

**Table 1** Effect of thermal processes on benzo[a] anthracene content ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) of smoked cocktail

Processing method	A	B	C
Brand			
Control	0.26±0.01 <sup>f</sup>	0.43±0.01 <sup>d</sup>	0.32±0.02 <sup>c</sup>
Boiling	0.26±0.03 <sup>f</sup>	0.44±0.01 <sup>d</sup>	0.32±0.04 <sup>c</sup>
Deep Frying	0.69±0.02 <sup>c</sup>	1.12±0.04 <sup>a</sup>	0.81±0.02 <sup>b</sup>

Values are the means ± standard deviations (n=3).

Different letters represent significant differences among means (P < 0.05).



**Fig 1** Schematic comparison of relationship between benzo[a] anthracene content, commercial brand and cooking method of smoked cocktail

#### ۳-۲- تاثیر فرآیند حرارتی بر میزان Bap در

#### کوکتل

جدول ۲ نتایج مربوط به اثر روش‌های حرارتی سرخ کردن عمیق و جوشاندن روی میزان Bap در کوکتل دودی را نشان می‌دهد.

**Table 2** Effect of thermal processes on benzo[a]pyrene content ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) of smoked cocktail

Processing method	A	B	C
Brand			
Control	0.34±0.01 <sup>f</sup>	0.70±0.02 <sup>d</sup>	0.54±0.01 <sup>c</sup>
Boiling	0.36±0.01 <sup>f</sup>	0.77±0.03 <sup>d</sup>	0.56±0.02 <sup>c</sup>
Deep Frying	1.18±0.03 <sup>c</sup>	1.97±0.05 <sup>a</sup>	1.61±0.02 <sup>b</sup>

Values are the means ± standard deviations (n=3).

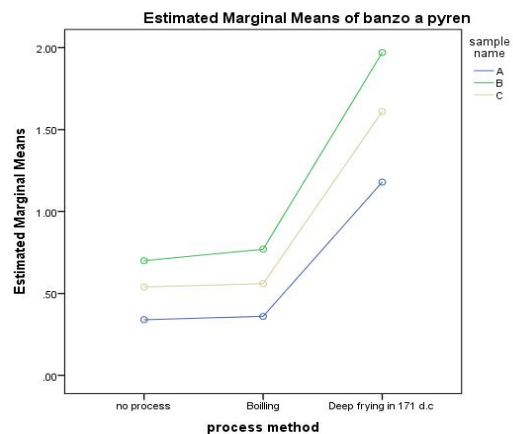
Different letters represent significant differences among means (P < 0.05).

(پیش شرط برابری واریانس‌ها) و آزمون دانت (پیش شرط عدم برابری واریانس‌ها) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تیمارها در سه تکرار انجام شده و آنالیزهای آماری، مقایسه میانگین‌ها و نمودارها با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS نسخه ۲۳ انجام گرفت.

با توجه به داده‌های جدول ۱، فرآیند حرارتی سرخ کردن عمیق، اثر معنی‌داری روی میزان Ban نمونه‌ها داشت ( $p < 0.05$ ). نمونه جوشانده شده شرکت A (۰٫۲۶ میکروگرم/کیلوگرم) و نمونه شرکت B تحت تیمار سرخ کردن عمیق (۱٫۱۲ میکروگرم/کیلوگرم) به ترتیب حاوی کمترین و بیشترین میزان Ban در بین نمونه‌های پخته شده بودند. روش جوشاندن موجب تغییر معنی‌دار محتوای Ban نمونه‌ها در مقایسه با نمونه شاهد نشد و نمونه‌های کوکتل دودی هر سه شرکت از نظر آماری با نمونه‌های شاهد خود مقادیر برابری نشان دادند ( $p > 0.05$ ). نتایج متفاوتی در مورد نمونه‌های سرخ شده مشاهده شد و سرخ کردن عمیق موجب افزایش معنی‌دار مقادیر Ban در مقایسه با نمونه شاهد شد. در مقایسه برندهای مختلف، نمونه‌های شرکت B افزایش بیشتری در محتوای Ban نشان دادند. شکل ۱ نیز مقایسه شماتیک رابطه میزان بنزو آنتراسن با نوع برند و روش فرآوری را نشان می‌دهد. همانطوری که در شکل ۱ مشخص است، نمونه‌های شرکت B فرآوری شده با سرخ کردن عمیق بالاترین میزان بنزوآنتراسن را به خود اختصاص دادند و پس از آن نمونه‌های سرخ شده شرکت C قرار گرفتند.

کوکتل، زمینه را برای تولید PAHs فراهم می‌کند. یکی از ترکیبات اصلی در تولید محصولات گوشتی کربوهیدرات‌ها از جمله نشاسته می‌باشند که به‌عنوان پرکننده در فرمولاسیون محصولات گوشتی نظیر انواع سوسیس و کوکتل استفاده می‌شود. نشاسته به دلیل ساختار شیمیایی خود، مستعد تولید PAHs در دماهای بالا می‌باشد [۱۹]. وجود مقادیر بالای کربوهیدرات در فرمولاسیون کوکتل و اعمال فرآیند حرارتی تحت شرایط دماهای بالا و زمان طولانی در حضور میزان اکسیژن کم و فشار پایین و نیز دود دادن، سبب افزایش روند تولید PAHs می‌شود. وجود پروتئین‌های حیوانی و گیاهی در فرمولاسیون کوکتل نیز پیش‌ساز مناسبی برای تولید PAHs در طی فرآیند حرارتی می‌باشند. مشخص شده است که PAHs نظیر بنزوآپیرن می‌توانند از اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب نیز به وجود آیند [۱۹ و ۱۸]. ترکیبات PAHs می‌توانند از سیزکوترین‌ها تولید شوند. این ترکیبات حاصل از تولید ترپنوئیدها و ایزوترپنوئیدها در گیاهان می‌باشند. مقدار سیزکوترین‌ها در ادویه‌ها زیاد است [۲۰]. بررسی‌ها نشان داده است که وجود آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند در تعیین مقدار PAHs در محصولات حرارت داده‌شده و یا دود داده‌شده مؤثر باشد. استفاده خمیر سیر، خمیر سیر با مخلوط ادویه‌ها و مخلوط ادویه‌ها قبل از فرآیند حرارتی نقش بارزی در کاهش مقدار PAHs تولیدشده داشته است. این اثر کاهش به وجود ترکیبات فنولی نسبت داده‌شده است [۲۱]. میزان مجموع اسیدهای چرب غیراشباع (UFA) در منابع پروتئینی یکی دیگر از عوامل افزایش میزان PAHs در محصولات گوشتی می‌باشد. از آنجایی که PAHs ترکیبات چربی‌دوست می‌باشند، افزایش میزان اسید چرب در فرمولاسیون فرآورده‌های گوشتی موجب جذب بیشتر این ترکیبات در حین فرآیند حرارتی می‌شوند [۱۳ و ۱۴]. بنابراین، وجود PAHs در کوکتل‌های دودی در این مطالعه و افزایش آن پس از فرآیندهای حرارتی می‌تواند به موارد عنوان شده نسبت داده شود. به تبع، فرآیند سرخ کردن به دلیل استفاده از دمای بالاتر و روغن زیاد میزان PAHs را در مقایسه با نمونه‌های جوشانده شده بیشتر افزایش داد. از طرفی، اختلاف میزان این ترکیبات در برندهای مختلف ناشی از اختلاف در فرمولاسیون (به‌عنوان مثال از نظر نوع پروتئین‌ها و لیپیدها) و نیز استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و افزودنی‌های مجاز می‌باشد. به‌طور مشابهی، در

با توجه به داده‌های جدول ۲، فرآوری به روش سرخ کردن عمیق اثر معنی‌داری روی میزان Bap نمونه‌ها داشت ( $p < 0.05$ ). همانند هیدروکربن آروماتیک چند حلقه‌ای دیگر مورد آزمون، نمونه شرکت A فرآوری شده به روش جوشاندن (۰٫۳۶ میکروگرم/کیلوگرم) و نمونه شرکت B تحت تیمار سرخ کردن عمیق (۱٫۹۷ میکروگرم/کیلوگرم) به ترتیب حاوی کمترین و بیشترین میزان Bap در بین نمونه‌های تیمار شده بودند. روش جوشاندن موجب تغییر معنی‌دار محتوای Bap در نمونه‌ها در مقایسه با نمونه شاهد نشد و هر سه شرکت از نظر آماری با نمونه‌های شاهد خود مقادیر برابری نشان دادند ( $p > 0.05$ ). نتایج متفاوتی در مورد نمونه‌های سرخ شده مشاهده شد و سرخ کردن عمیق موجب افزایش معنی‌دار مقادیر Bap هر سه برند در مقایسه با نمونه شاهد شد. در مقایسه برندهای مختلف، نمونه‌های شرکت B افزایش بیشتری در محتوای Bap نشان دادند. شکل ۲ مقایسه شماتیک رابطه میزان بنزوآپیرن با نوع برند و روش فرآوری را نشان می‌دهد. همانطوری که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، نمونه‌های شرکت B فرآوری شده با سرخ کردن عمیق بالاترین میزان بنزوآپیرن را به خود اختصاص دادند و پس از آن نمونه‌های سرخ شده شرکت C قرار گرفتند. همانند بنزوآنتراسن، شرکت A کمترین میزان بنزوآپیرن را به خود اختصاص داد. نمونه‌ها حاوی میزان بیشتری بنزوآپیرن نسبت به بنزوآنتراسن بودند.



**Fig 2** Schematic comparison of relationship between benzo[a]pyrene content, commercial brand and cooking method of smoked cocktail

اعمال فرآیند حرارتی مختلف سبب تشکیل مقادیر متفاوتی از PAHs (Bap و Ban) در فرآورده‌های غذایی مختلف می‌شود. به‌طورکلی وجود ترکیبات متنوع در فرمولاسیون

مرطوب و حداکثر حد برای مجموع چهار نوع از ترکیبات PAHs (Bap, Ban, BbF, Chr) را ۱۲ میکروگرم/کیلوگرم وزن مرطوب برای گوشت دودی و فرآورده‌های گوشتی عنوان شد [۲۴ و ۲۵]. در این پژوهش، میزان Bap همه نمونه‌ها تیمار شده در محدوده مجاز قرار داشت.

### ۳-۳- تأثیر فرآیند حرارتی بر میزان NPIP در کوکتل دودی

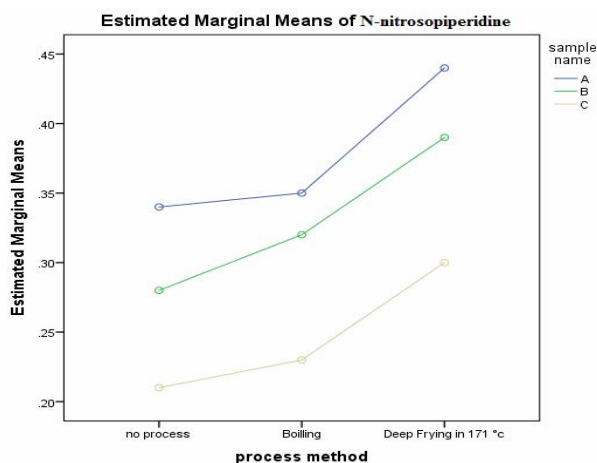
اثر دو روش فرآوری حرارتی جوشاندن و سرخ کردن عمیق روی میزان NPIP در جدول ۳ ارائه شده است.

**Table 3** Effect of thermal processes on N-nitrosopiperidine content ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) of smoked cocktail

Processing method	A	B	C
Control	0.34±0.02 <sup>c</sup>	0.28±0.01 <sup>d</sup>	0.21±0.01 <sup>e</sup>
Boiling	0.35±0.01 <sup>c</sup>	0.32±0.02 <sup>d</sup>	0.23±0.01 <sup>e</sup>
Deep Frying	0.44±0.03 <sup>a</sup>	0.39±0.03 <sup>b</sup>	0.30±0.02 <sup>d</sup>

Values are the means  $\pm$  standard deviations (n=3).

Different letters represent significant differences among means ( $P < 0.05$ ).



**Fig 3** Schematic comparison of relationship between N-nitrosopiperidine content, commercial brand and cooking method of smoked cocktail

### ۳-۴- تأثیر فرآیند حرارتی بر میزان NPYR در کوکتل دودی

اثر دو روش فرآوری حرارتی جوشاندن و سرخ کردن عمیق روی میزان NPYR در جدول ۴ ارائه شده است.

با توجه به داده‌های جدول ۴، همانند هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای Bap و Ban و نیتروزامین NPIP، جوشاندن تغییر معنی‌داری روی میزان NPYR ایجاد نکرد ( $p > 0.05$ ).

مطالعه انجام شده توسط Perello و همکاران (۲۰۰۹) نمونه‌های ماهی هیک سرخ شده حاوی مقادیر بالاتری از بنزو آنتراسن در مقایسه نمونه‌های فرآوری شده با جوشاندن بودند [۲۲]. در پژوهش Onwukeme و همکاران (۲۰۱۵)، گوشت مرغ فرآوری شده با روش سرخ کردن عمیق حاوی بالاترین میزان PAHs کل و PAHs سرطان‌زا بود و روش‌های فرآوری باریکیو، برشته کردن و جوشاندن در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. میزان بنزوآپیرن نیز در نمونه‌های سرخ شده دو برابر مقدار آن در نمونه‌های جوشانده شده بود [۲۳].

در سال ۲۰۱۴، حداکثر حد مجاز Bap به عنوان شاخصی در تشکیل PAHs سرطان‌زا را ۲ میکروگرم بر کیلوگرم وزن

با توجه به داده‌های جدول ۳، همانند هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای Bap و Ban، جوشاندن تغییر معنی‌داری روی میزان NPIP ایجاد نکرد ( $p > 0.05$ ). با این وجود، سرخ کردن عمیق با افزایش میزان این ترکیبات همراه بود ( $p < 0.05$ ). بالاترین محتوای NPIP (۰٫۴۴) میکروگرم/کیلوگرم در نمونه‌های تیمار شده مربوط به نمونه‌های شرکت A قرار گرفته تحت تیمار سرخ کردن عمیق بود و کمترین میزان این ترکیبات (۰٫۲۳ میکروگرم/کیلوگرم) در نمونه‌های برند C فرآوری شده به روش جوشاندن مشاهده شد. در مقایسه برندهای مختلف، بدون در نظر گرفتن روش فرآوری نمونه‌های شرکت A بالاترین محتوای NPIP را داشتند و نمونه‌های برند B و C به ترتیب پس از آن قرار گرفتند. شکل ۳، نمایی از شماتیک از تأثیر روش فرآوری و نوع برند را روی میزان NPIP ارائه می‌دهد. همانطوری که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، نمونه‌های برند A فرآوری شده به روش سرخ کردن عمیق افزایش بیشتری در میزان NPIP ایجاد کردند و نمونه‌های B سرخ شده در رده بعدی قرار گرفتند.

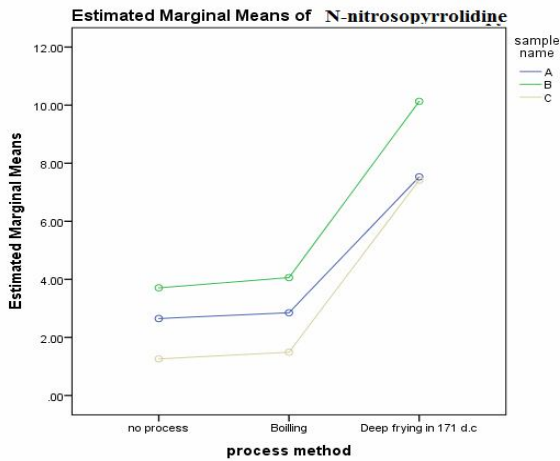


**Table 4** Effect of thermal processes on N-nitrosopyrrolidine content ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) of smoked cocktail

Processing method	A	B	C
Brand			
Control	2.65±0.05 <sup>c</sup>	3.71±0.04 <sup>d</sup>	1.26±0.03 <sup>f</sup>
Boiling	2.85±0.03 <sup>e</sup>	4.06±0.05 <sup>d</sup>	1.49±0.02 <sup>f</sup>
Deep Frying	7.53±0.08 <sup>b</sup>	10.13±0.18 <sup>a</sup>	7.42±0.14 <sup>c</sup>

Values are the means  $\pm$  standard deviations (n=3).

Different letters represent significant differences among means (P < 0.05).



**Fig 4** Schematic comparison of relationship between N-nitrosopyrrolidine content, commercial brand and cooking method of smoked cocktail

### ۳-۵- تأثیر فرآیند حرارتی بر میزان NDMA

#### در کوکتل دودی

جدول ۵ نتایج مربوط به اثر سرخ کردن عمیق و جوشاندن را بر میزان NDMA در کوکتل دودی نشان می‌دهد.

**Table 5** Effect of thermal processes on N-nitrosodimethylamine content ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) of smoked cocktail

Processing method	A	B	C
Brand			
Control	1.85±0.03 <sup>e</sup>	2.47±0.03 <sup>d</sup>	0.94±0.01 <sup>f</sup>
Boiling	1.89±0.03 <sup>e</sup>	2.56±0.02 <sup>d</sup>	0.94±0.01 <sup>f</sup>
Deep Frying	5.81±0.16 <sup>b</sup>	6.46±0.11 <sup>a</sup>	2.83±0.09 <sup>c</sup>

Values are the means  $\pm$  standard deviations (n=3).

Different letters represent significant differences among means (P < 0.05).

میزان بالاتری از NDMA بودند. در مقایسه با نیتروزآمین های دیگر مورد آزمون، نمونه‌ها NPYR بیشتری داشتند و NDMA و NPIP به ترتیب در رده‌های بعدی قرار گرفتند. شکل ۵، نمودار محتوای نیتروز دی متیل آمین در نمونه‌های تیمار شده را نشان می‌دهد. طبق شکل ۵، نمونه‌های برند B فرآوری شده به روش سرخ کردن عمیق، بالاترین محتوای نیتروز دی متیل آمین را داشت و نمونه‌های سرخ شده برندهای A و C به ترتیب در رده‌های بعدی قرار داشتند.

از آنجا که پیرولیز پروتئین (تجزیه حرارتی) طی پخت و پز می‌تواند منبعی از آمین‌های نوع دوم باشد، مقادیر قابل توجهی

با این وجود، سرخ کردن عمیق با افزایش میزان این ترکیبات همراه بود ( $p < 0.05$ ). بالاترین محتوای NPYR (۱۰،۱۳ میکروگرم/کیلوگرم) در نمونه‌های تیمار شده مربوط به نمونه‌های شرکت B قرار گرفته تحت تیمار سرخ کردن عمیق بود و کمترین میزان این ترکیبات (۱،۴۹ میکروگرم/کیلوگرم) در نمونه‌های برند C فرآوری شده به روش جوشاندن مشاهده شد. در مقایسه برندهای مختلف، بدون در نظر گرفتن روش فرآوری نمونه‌های شرکت B بالاترین محتوای NPYR را داشتند و نمونه‌های برند A و C به ترتیب پس از آن قرار گرفتند. شکل ۴، نمایی شماتیک از تأثیر روش فرآوری و نوع برند را روی میزان NPYR ارائه می‌دهد.

همانطوری که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، نمونه‌های برند B فرآوری شده به روش سرخ کردن عمیق افزایش بیشتری در میزان NPYR ایجاد کردند و نمونه‌های A و C سرخ شده در رده بعدی قرار گرفتند.

با توجه به داده‌های جدول ۵، همانند هیدروکربن آروماتیک چند حلقه‌ای و نیتروزآمین های NPIP و NPYR، محتوای NDMA نمونه‌ها پس از فرآوری به روش جوشاندن تغییر معنی‌داری نکرد. در حالیکه روش سرخ کردن نتایج متفاوتی ارائه داد و موجب افزایش معنی‌دار NDMA همه نمونه‌ها شد.

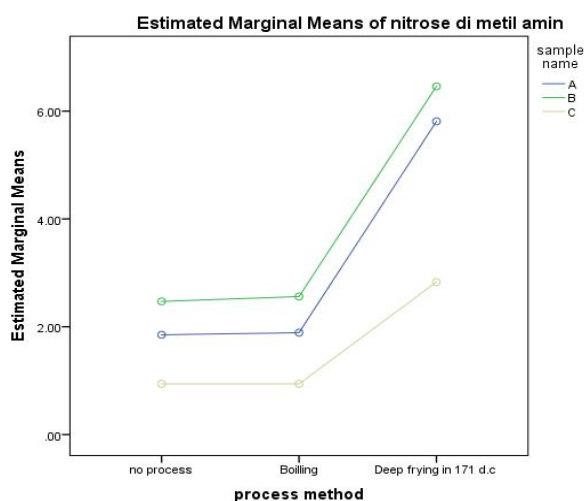
بیشترین و کمترین میزان NDMA به ترتیب مربوط به نمونه‌های برند B سرخ شده (۶،۴۶ میکروگرم/کیلوگرم) و C (۰،۹۴ میکروگرم/کیلوگرم) تحت تیمار جوشاندن بود. نمونه‌های برند B در مقایسه با دو برند دیگر کوکتل، حاوی

بودند ( $P < 0.05$ ). از طرفی، نمونه‌های تحت تیمار جوشاندن و مایکروویو تفاوت معنی‌داری با مواد خام نداشتند. سرخ کردن باعث افزایش محتوای NDMA، NDEA و NPYR شد. همچنین، سرخ کردن در تابه موجب افزایش ۱،۳ برابری NPYR شد. در مجموع، نتایج مطالعات آنها نشان داد که روش‌های جوشاندن و مایکروویو روش‌های مناسب‌تری برای گوشت عمل‌آوری شده بودند [۸]. بنابراین مشخص شد، نیتروزآمین‌ها نه تنها در طی رسیدن سوسیس خشک شده بلکه در شرایط سرخ کردن نیز تشکیل می‌شوند. در مطالعه دیگری مشخص شد که سطوح NPYR و NDMA به میزان زیادی تحت تاثیر سرخ کردن قرار می‌گیرد [۲۷].

آل کسیم و همکاران (۲۰۱۴) با تعیین میزان نیتروزآمین‌های مختلف (نیتروزودی متیل آمین (NDMA)، N- نیتروزودی اتیل آمین (NDEA)، N- نیتروزودی پروپیل آمین (NDPA) <sup>۳۴</sup>، N- نیتروزودی بوتیل آمین (NDBA)، N-نیتروزوپروپیلیدین (NPYR) و نیتروزوپیرییدین (NPIP) در انواع گوشت (گوشت خام، عمل‌آوری شده، دودی، کبابی، سرخ‌شده و کنسروی) به این نتیجه رسیدند که تفاوت معنی‌داری در میزان انواع نیتروزآمین‌ها در نمونه‌های گوشت خام وجود نداشت اما با اعمال فرآیند حرارتی محتوای این ترکیبات به‌طور معنی‌داری تغییر پیدا کرد. به‌علاوه، میزان NDMA، NPYR و NPIP در نمونه دودی از سایر نمونه‌ها بیشتر بودند و پس از آن نمونه کبابی و سرخ‌شده در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند [۱۷].

سطوح بیشینه NDMA و NPYR زمانی که محصول تا  $200^{\circ}\text{C}$  حرارت داده می‌شود و با افزایش بیشتر دما به دلیل تبخیر آب محصول، کاهش می‌یابد. دمای جوش NDMA، NDEA، NPYR و NPIP برابر  $104^{\circ}\text{C}$ ،  $176^{\circ}\text{C}$  و  $214^{\circ}\text{C}$  است. این موارد نیز ممکن در تاثیر روش پختن روی مقدار نیتروزآمین‌های مختلف نقش داشته باشد. علاوه بر این، دکربوکسیلاسیون نیتروزآمین‌های غیر فرار مثل نیتروزوسارکوزین (NSAR) <sup>۳۵</sup> و نیتروزوپروپیلین (NPRO) <sup>۳۶</sup> می‌تواند دلیل افزایش سطوح انواع فرار یعنی NPYR و NDMA باشد [۲۶].

از نیتروزآمین‌های فرار ممکن است از برهم کنش نیتريت ها و آمین‌ها در فرآورده‌های گوشتی تشکیل شوند. در بسیاری از گزارش‌ها، نشان داده شده است که افزایش زمان و دمای جوشاندن و سرخ کردن، باعث افزایش محتوای نیتروزآمین‌ها می‌شود. این افزایش در شکل‌گیری نیتروزآمین‌ها طی زمان بیشتر و دمای بالاتر سرخ شدن گوشت، ناشی از افزایش تشکیل محصولات با گروه‌های چربی غیر اشباع است. این ترکیبات در دمای بالا تجزیه می‌شوند و اکسیدهای نیتروژن آزاد می‌کنند، که متعاقباً آنها نیز، آمین‌های آزاد موجود در محیط را نیتروز می‌نمایند. در واقع، تیمار حرارتی می‌تواند سرعت فرآیندهای نیتروزاسیون را افزایش دهد یا منجر به رهاسازی نیتروژن اکسید از انواع دیگر نیتروزکننده متصل به لیپیدها و در نتیجه افزایش تولید نیتروزآمین شود. محتوای کمتری از نیتروزآمین‌ها در کوکتل جوشانده شده را نیز می‌توان با حل شدن این ترکیبات در آب توضیح داد.



**Fig 5** Schematic comparison of relationship between N-nitrosodimethylamine content, commercial brand and cooking method of smoked cocktail

از طرفی، برخی از اثرات حداقلی گزارش شده مبنی بر افزایش محتوای نیتروزآمین‌ها می‌تواند به افزایش غلظت این ترکیبات هنگام تبخیر آب محصول طی فرآیند پختن، نسبت داد [۸ و ۲۶]. مطالعات مختلفی افزایش میزان نیتروزآمین‌ها بعد از فرآوری با سرخ کردن، پختن یا تیمارهای حرارتی عنوان کرده‌اند. در مطالعه مشابهی که توسط لی و همکاران (۲۰۱۲) انجام شد، نمونه‌های سوسیس عمل‌آوری شده خشک پخته شده با روش سرخ کردن عمیق یا تابه‌ای حاوی بالاترین میزان نیتروزآمین‌ها در مقایسه با تیمارهای جوشاندن یا مایکروویو

34. N-Nitrosodipropylamine  
35. N-Nitrososarcosine  
36. N-nitrosoproline

- processed meat and fish products from European markets by GC-MS. *Food Control*, 101, 198-208.
- [3] Gushgari, A. J., & Halden, R. U. (2018). Critical review of major sources of human exposure to N-nitrosamines. *Chemosphere*, 210, 1124-1136.
- [4] De Mey, E., De Maere, H., Paelinck, H., & Fraeye, I. (2017). Volatile N-nitrosamines in meat products: Potential precursors, influence of processing, and mitigation strategies. *Critical reviews in food science and nutrition*, 57(13), 2909-2923.
- [5] IARC (1978). Some N-nitroso compounds. IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemical to humans. Vol. 17. Lyon, France.
- [6] Suleman, R., Wang, Z., Aadil, R. M., Hui, T., Hopkins, D. L., & Zhang, D. (2020). Effect of cooking on the nutritive quality, sensory properties and safety of lamb meat: Current challenges and future prospects. *Meat Science*, 108172.
- [7] Rywotycki, R. (2002). The effect of selected additives and heat treatment on nitrosamine content in pasteurized pork ham. *Meat Science*, 60, 335-339
- [8] Li, L., Wang, P., Xu, X., & Zhou, G. (2012). Influence of various cooking methods on the concentrations of volatile N-nitrosamines and biogenic amines in dry-cured sausages. *Journal of Food Science*, 77(5), C560-C565.
- [9] Sallan, S., Kaban, G., & Kaya, M. (2019). Nitrosamines in sucuk: Effects of black pepper, sodium ascorbate and cooking level. *Food chemistry*, 288, 341-346.
- [10] Farhadian A, Jinap S, Abas F, Sakar ZI. 2010. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in grilled meat. *Food control* 21(5):606-10.
- [11] Kendirci, P., Icier, F., Kor, G., & Onogur, T. A. (2014). Influence of infrared final cooking on polycyclic aromatic hydrocarbon formation in ohmically pre-cooked beef meatballs. *Meat science*, 97(2), 123-129.
- [12] Yildiz-Turp, G., Sengun, I. Y., Kendirci, P., & Icier, F. (2013). Effect of ohmic treatment on quality characteristics of meat: A review. *Meat science*, 93, 441-448.
- [13] Mohammadi, M., & Valizadeh-Kakhki, F. (2018). Polycyclic aromatic hydrocarbons determination in grilled beef and chicken. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 38(5), 434-444.

از طرفی، سطح نیتريت اضافه شده هم در میزان نیتروزآمین نمونه‌های برندهای مختلف موثر است. همچنین، اختلاف در برندها می‌تواند به فرمولاسیون و نوع و میزان افزودنی‌های مجاز دیگر مانند ادویه‌ها و گیاهان معطر مربوط باشد. به عنوان مثال، گزارش شده است که فلفل سیاه میزان NPIP را در سوکوک (نوعی سوسیس تخمیری خشک) <sup>۳۷</sup> کاهش داد [۹].

#### ۴- نتیجه گیری کلی

تعیین میزان نیتروزآمین‌ها و PAHs در فرآورده‌های گوشتی خام و پخته شده با توجه به مصرف بالا و روز افزون سوسیس و کالباس و اثرات قابل توجه سمیت و سرطان زایی این ترکیبات از اهمیت بالایی برخوردار است و می‌تواند در انتخاب روش مناسب پخت و ایجاد انگیزه جهت کاهش مصرف این فرآورده‌ها موثر باشد. استفاده از روش جوشاندن، روش مناسبی جهت پخت کوکتل دودی بود و منجر به کاهش میزان ترکیبات مضر مورد آزمون شامل نیتروزآمین‌ها و PAHs شد. در مقابل، روش سرخ کردن عمیق باعث افزایش معنی‌دار این ترکیبات شد. به عبارت دیگر، میزان VNAS و PAHs را می‌توان با توجه به نوع فرآیند حرارتی پیش بینی کرد. علاوه بر روش پخت، برند نمونه‌ها هم تاثیر معنی‌داری روی نیتروزآمین‌ها و PAHs داشت. بطوریکه، با وجود مشاهده روند افزایشی در محتوای این ترکیبات پس از سرخ کردن، ترکیبات هر گروه میزان افزایش متفاوتی نشان دادند؛ که این می‌تواند ناشی از عوامل مختلفی از قبیل؛ تفاوت در سطح نیتريت اضافه شده، نوع و میزان لیپید، اسید چرب، پروتئین، آنتی اکسیدان، ادویه و نشاسته بکار رفته در فرمول هر برند باشد؛ که با کنترل این مواد در فرمول ساخت می‌توان سطوح نیتروزآمین‌های و PAHs تشکیل شده در فرآورده نهایی را کاهش داد.

#### ۵- منابع

- [1] Ledesma, E., Rendueles, M., & Díaz, M. (2016). Contamination of meat products during smoking by polycyclic aromatic hydrocarbons: Processes and prevention. *Food Control*, 60, 64-87.
- [2] Rascón, A. J., Azzouz, A., & Ballesteros, E. (2019). Trace level determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in raw and

- formation in chicken meat. *World Applied Sciences Journal*, 9(9), 963-974.
- [22] Perelló, G., Martí-Cid, R., Castell, V., Llobet, J. M., & Domingo, J. L. (2009). Concentrations of polybrominated diphenyl ethers, hexachlorobenzene and polycyclic aromatic hydrocarbons in various foodstuffs before and after cooking. *Food and Chemical Toxicology*, 47(4), 709-715.
- [23] Onwukeme, V. I., Obijiofor, O. C., Asomugha, R. N., & Okafor, F. A. (2015). Impact of cooking methods on the levels of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in chicken meat. *IOSR Journal of Environmental Science Ver. I*, 9(4), 2319-2399.
- [24] European Union Commission (EC), "Commission Recommendation 2005/108/EC of 4 February 2005 on the Further Investigation into the Levels of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Certain Foods," *Official Journal of the European Union L34 (2005):43-5*.
- [25] Commission Regulation (EU) No 1327/2014 of 12 December 2014 Amending Regulation (EC) No 1881/2006 as Regards Maximum Levels of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Traditionally Smoked Meat and Meat Products and Traditionally Smoked Fish and Fishery Products.
- [26] Herrmann, S. S., Duedahl-Olesen, L., & Granby, K. (2015). Occurrence of volatile and non-volatile N-nitrosamines in processed meat products and the role of heat treatment. *Food Control*, 48, 163-169.
- [27] Yurchenko, S., & U. Mölder (2007). The occurrence of volatile N-nitrosamines in Estonian meat products. *Food Chemistry*, 100(4), 1713-1721.
- [14] Büyükkurt, Ö. K., Dinçer, E. A., Çam, İ. B., Candal, C., & Erbaş, M. (2017). The influence of cooking methods and some marinades on polycyclic aromatic hydrocarbon formation in beef meat. *Polycyclic Aromatic Compounds*.
- [15] EFSA, E. C. P. (2008). Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain on a request from the European Commission on polycyclic aromatic hydrocarbons in food. *EFSA Journal*, 724, 1-114.
- [16] Sobral, M. M. C., Cunha, S. C., Faria, M. A., & Ferreira, I. M. (2018). Domestic cooking of muscle foods: impact on composition of nutrients and contaminants. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(2), 309-333.
- [17] Al-Kaseem, M., Al-Assaf, Z., & Karabeet, F. (2014). Determination of seven volatile N-nitrosamines in fast food. *Pharmacology & Pharmacy*, 2014.
- [18] Olatunji, O. S., Fatoki, O. S., Opeolu, B. O., & Ximba, B. J. (2014). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons [PAHs] in processed meat products using gas chromatography-Flame ionization detector. *Food chemistry*, 156, 296-300.
- [19] Shibamoto T, and Bjeldanes LF. (2009). *Introduction to food toxicology: Academic press*.
- [20] Francis, G. W., Christy, A. A., & Oygarden, J. (2012). Pyrolytic formation of polycyclic aromatic hydrocarbons from sesquiterpenes. *Food chemistry*, 135(3), 1316-1322.
- [21] El-Badry, N. (2010). Effect of household cooking methods and some food additives on polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)



## Evaluation of the effect of boiling and deep frying as cooking method on the amounts of volatile nitrosamines and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) of smoked cocktails

Mirzazadeh, M.<sup>1</sup>, Sadeghi, E.<sup>2\*</sup>, Beigmohammadi, F.<sup>3</sup>

1. Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran.
2. Department of Food Science and Technology, School of Nutrition Science and Food Technology, Research Center for Environmental Determinants of Health (RCEDH), Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.
3. Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran.

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received 2020/ 10/ 10  
Accepted 2021/ 11/ 08

#### Keywords:

Smoked cocktail,  
Nitrosamine,  
Polycyclic aromatic hydrocarbons,  
Boiling,  
Deep frying.

**DOI:** 10.52547/fscet.18.121.10

**DOR:** 20.1001.1.20088787.1400.18.121.8.2

\*Corresponding Author E-Mail:  
[ehsan.sadeghi59@yahoo.com](mailto:ehsan.sadeghi59@yahoo.com)

### ABSTRACT

Meat and meat products are important component of the diet and provide a large part of the proteins, vitamins and mineral requirements of the human body. However, cooking creates harmful and undesirable compounds in them. Among these, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and volatile N-nitrosamines (VNAs) have received more attention due to their high carcinogenic potential. In this study, samples of smoked beef cocktail (55%) were randomly obtained from three reputable companies (20 samples from each brand) from protein supply centers in Kermanshah. Then, the amounts of three types of nitrosamines including N-nitrosodimethylamine (NDMA), N-nitrosopyrrolidine (NPYR) and N-nitrosopiperidine (NPIP) after extraction by dispersive liquid-liquid micro-extraction (DLLME) and two PAHs including benzo[a] pyrene (Bap) and benzo[a] anthracene (Ban) after separation by solid phase extraction method (SPE) were measured in samples cooked via two methods of boiling and deep frying using gas chromatography equipped with flame ionization detector (GC-FID). Based on the results, deep frying led to a significant increase in the amount of both nitrosamines and PAHs. However, the content of these compounds in the samples processed by boiling method was not statistically different from the control sample ( $p > 0.05$ ). Different brands also contained different amounts of nitrosamines and PAHs. Therefore, boiling method can be considered as a suitable and safe method for cooking meat and meat products.