

JAROSŁAW PAROL, RENATA PIETRZAK-FIEĆKO, STEFAN S. SMOCZYŃSKI

**WIELOPIERŚCIENIOWE WĘGLOWODORY AROMATYCZNE
(WWA) W WĘDZONYM PSTRĄGU TĘCZOWYM
(*ONCORHYNCHUS MYKISS*)**

Streszczenie

Celem pracy było porównanie zawartości ośmiu wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w mięsie pstrągów tęczowych (*Oncorhynchus mykiss*), wędzonych metodą tradycyjną, z surowca świeżego i rozmrożonego, z ich zawartością w rynkowych rybach wędzonych różnymi metodami (w wędzarni z zewnętrzną wytwornicą dymu, tradycyjnie i przy użyciu preparatu dymu wędzarniczego). Oznaczenie WWA wykonano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem fluorescencyjnym. Maksymalne dopuszczalne stężenia badanych WWA w mięsie ryb wędzonych różnymi metodami nie zostały przekroczone w żadnej z analizowanych próbek, a średnia zawartość wahała się w granicach od < 0,30 µg/kg mięsa do 1,03 µg/kg mięsa, natomiast ΣWWA4 (benzo(a)piren + chryzen + benzo(a)antracen + benzo(b)fluoranten) nie przekroczyła 5,00 µg/kg mięsa. Analiza mięsa pstrągów tęczowych dostępnych na rynku lokalnym wykazała większą zawartość wybranych WWA w rybach wędzonych tradycyjnie niż w rybach wędzonych współczesnymi metodami. Średnia zawartość benzo[a]pirenu w mięsie pstrąga tęczowego wędzonego tradycyjnie z surowca świeżego wahała się od < 0,30 µg/kg do 0,57 µg/kg mięsa, w rybach wędzonych z surowca rozmrożonego od < 0,30 µg/kg do 0,70 µg/kg mięsa, natomiast największą zawartość benzo[a]pirenu oznaczono w rybach zakupionych w zakładach przetwórczych, deklarowanych jako wędzone tradycyjnie – 1,03 µg/kg mięsa. Na podstawie badań stwierdzono, że zawartość WWA w mięsie wędzonego pstrąga tęczowego, niezależnie od zastosowanej metody produkcji, nie stanowi zagrożenia dla zdrowia konsumentów i nie zmniejsza żywieniowych wartości tej ryby.

Słowa kluczowe: pstrąg tęczowy (*Oncorhynchus mykiss*), wędzenie różnymi metodami, wybrane WWA, najwyższe dopuszczalne poziomy WWA

Wprowadzenie

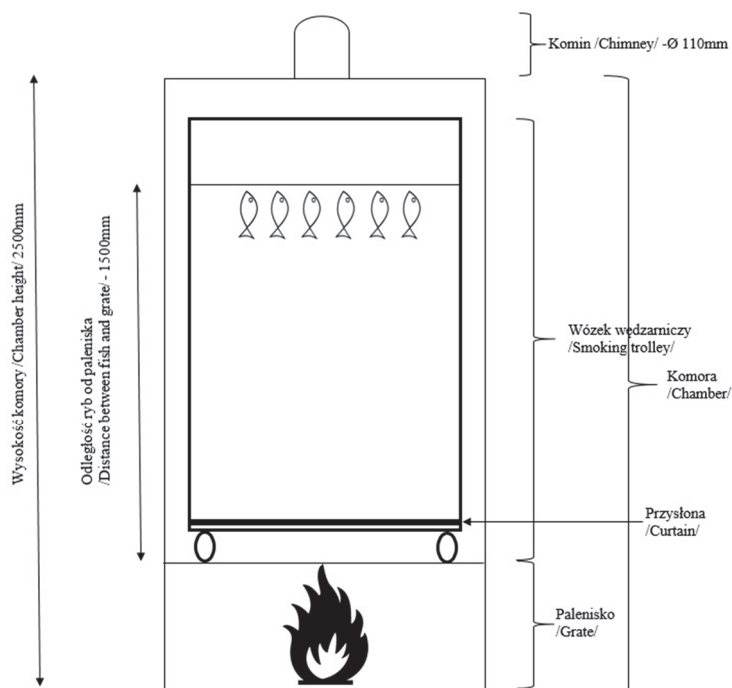
Powszechnie zalecana jest dieta bogata w mięso i przetwory z ryb. Tym produktom przypisuje się rolę wspomagającą w utrzymaniu kondycji fizycznej i psychicznej [1, 6]. Lipidy rybne odróżniają się od lipidów zwierząt lądowych pod względem składu kwasów tłuszczowych. Ogólna zawartość kwasów tłuszczowych nasyconych (*saturated fatty acids* – SFA) w tłuszczu ryb kształtuje się na poziomie 24 ÷ 38 %, monoeno-nych (*monounsaturated fatty acids* – MUFA) – 21 ÷ 42 % i polienowych (*polyunsaturated fatty acids* – PUFA) – 26 ÷ 45 %. Ryby chude zawierają więcej kwasów polienowych, a ryby tłuste – kwasów monoenowych. Charakterystyczną cechą lipidów rybnych jest obecność w nich długołańcuchowych polienowych kwasów tłuszczowych, głównie kwasu eikozapentaenowego (EPA) 20 : 5, dokozaheksaenowego (DHA) 22 : 6 i występującego w niewielkich ilościach kwasu dokozapentaenowego (DPA) 22 : 5 [2, 7]. Zawartość LC PUFA zależy od gatunku ryby i czynników biologicznych. Najwięcej jest ich w lipidach ryb morskich, pochodzących z zimniejszych wód, mniej w słodkowodnych, a najmniej w rybach hodowlanych. Jednak w akwakulturze, dzięki odpowiedniemu sposobowi żywienia, możliwa jest znaczna modyfikacja składu kwasów tłuszczowych w mięsie ryb. Ryby i produkty przetwórstwa rybnego wykazują udokumentowaną wartość odżywczą i właściwości funkcjonalne, ale obecność w nich toksycznych związków może nie tylko obniżać ich jakość, ale wręcz szkodliwie oddziaływać na zdrowie konsumentów [14]. Ważna jest więc ocena procesów przetwórczych, gdyż niewłaściwa technologia może wprowadzać lub powodować powstawanie w żywności związków szkodliwych, a nawet toksycznych. Taka sytuacja może dotyczyć wędzonych ryb, gdyż w czasie wędzenia do żywności mogą przedostawać się, uznane za szkodliwe, a niektóre nawet za kancerogenne, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne [3, 11, 13]. Obserwuje się ich szczególnie dużą kumulację w tłuszczu wędzonych wędlin i ryb [8]. Polska jest drugim, po Danii, największym producentem pstrąga wędzonego w Europie [9]. Zastosowanie nowoczesnych technologii wędzenia może zapobiec zanieczyszczeniu ryb wielopierścieniowymi węglowodarami aromatycznymi [12].

Celem pracy było porównanie zawartości wybranych wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (fluorantenu, pirenu, benzo(a)antracenu, chryzenu, benzo(b)fluorantenu, benzo(k)fluorantenu, benzo(a)pirenu i benzo(g,h,i)perylenu) w mięsie pstrągów tęczowych (*Oncorhynchus mykiss*) wędzonych metodą tradycyjną, z surowca świeżego i rozmrożonego, z ich zawartością w rynkowych rybach wędzonych różnymi metodami (wędzone: w wędzarni z zewnętrzną wytwornicą dymu, tradycyjnie i przy użyciu preparatu dymu wędzarniczego) – w kontekście zmiany rozporządzenia ustalającego najwyższe dopuszczalne poziomy tych związków w produktach spożywczych.

Material i metody badań

Łącznie przebadano 36 sztuk pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*), z czego 27 ryb pozyskano od trzech wybranych hodowców (A, B, C – po 9 sztuk od każdego), a pozostałe 9 sztuk zakupiono od trzech różnych przetwórców ryb. Były to ryby o masie od 340 do 530 g, charakteryzujące się następującą średnią zawartością tłuszczu: ryby świeże – 6,14 %, ryby wędzone z surowca świeżego – 5,31 % oraz ryby wędzone z surowca rozmrożonego – 4,18 %.

Do oznaczenia początkowej zawartości WWA przeznaczono 9 ryb świeżych (po 3 sztuki od każdego hodowcy). Kolejnych 9 ryb świeżych (po 3 sztuki od każdego hodowcy) przeznaczono do wędzenia tradycyjnego (często określanego również mianem bezpośredniego). Tradycyjne wędzenie przebiegało w następujący sposób: wszystkie ryby wędzono na jednym poziomie wózka w komorze wędzarniczej murowanej z cegły (wymiary [m]: $1 \times 1 \times 2,5$), opalanej sezonowanym przez 2 lata, okorowanym drewnem olchowym. Palenisko znajdowało się bezpośrednio pod rybami, ogień nie miał możliwości bezpośredniego kontaktu z produktem poprzez zastosowanie przysłony, temperatura osuszania wynosiła 40 °C przez 30 min, a wędzenie właściwe odbywało się przez 2 h w temp. 60 °C (rys. 1).



Rys. 1. Schemat komory wędzarniczej.

Fig. 1. Schematic drawing of smoking chamber.

Badaniem objęto również ryby mrożone, z uwagi na częste ich wykorzystywanie przez producentów jako surowca do wędzenia. Podczas procesu rozmrażania następuje częściowy wyciek tłuszczu oraz ubytek śluzu z powierzchni skóry ryby, co może mieć wpływ na zawartość WWA w gotowym produkcie. W tym celu partię 9 ryb świeżych (po 3 sztuki od każdego hodowcy) zamrożono w mroźni i przechowywano przez 6 miesięcy w temperaturze poniżej $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, po czym rozmrożono je w temp. ok. $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ i poddano takiemu samemu procesowi tradycyjnego wędzenia jak ryby świeże.

W celu porównania otrzymanych wyników zawartości WWA z produktami rynkowymi dokonano zakupu dziewięciu pstrągów tęczowych wędzonych trzema różnymi metodami w wybranych zakładach przetwórczych (po trzy z każdego zakładu). Według deklaracji producentów pierwsze trzy próbki były wędzone w wędzarni z zewnętrzną wytwornicą dymu (tzw. wędzenie pośrednie), kolejne trzy zostały uwędzone tradycyjnie, natomiast ostatnie trzy ryby były wyprodukowane przy użyciu preparatu dymu wędzarniczego.

Mięso ryb oddzielano od ości i mielono bez skóry (część jadalna). Przygotowanie próbki polegało na ekstrakcji frakcji lipidowej z próbki z dodatkiem standardu wewnętrznego (benzo(b)chryzenu), mieszaniną chloroformu i metanolu (w stosunku 2 : 1), wydzieleniu części chloroformowej zawierającej frakcję lipidową WWA, odparowaniu chloroformu w strumieniu azotu, przeniesieniu suchej pozostałości do chlorku metylenu i poddanie jej analizie metodą chromatografii preparatywnej (SEC – *size exclusion chromatography*). Warunki rozdziału były następujące: kolumna plgel – 5 mm, $50\text{ }\text{\AA}$, $600 \times 7,8\text{ mm I.D}$, faza ruchoma – dichlorometan, detektor UV – 254 nm, temp. $21\text{ }^{\circ}\text{C}$, szybkość przepływu 1 ml/min, naniesiona objętość – 400 μl . Eluent zbierano w kolektorze frakcji, a następnie odparowywano do sucha w strumieniu azotu w łaźni wodnej. Suchą pozostałość rozpuszczano w 200 μl acetonitrylu i nanoszono na szczyt kolumny chromatograficznej aparatu HPLC/FLD.

Oznaczenie ośmiu wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych: fluorantenu, pirenu, benzo(a)antracenu, chryzenu, benzo(b)fluorantenu, benzo(k)fluorantenu, benzo(a)pirenu i benzo(g,h,i)perylenu prowadzono metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem fluorescencyjnym. Warunki rozdziału były następujące: kolumna Hypersil Green PAH, 5 mm, $250 \times 3\text{ mm I.D}$, faza ruchoma gradient acetonitrylu i wody, temp. $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, szybkość przepływu 0,8 ml/min, nanoszona objętość 20 μl (tab. 1). Wynik wyrażano w mikrogramach na kilogram tkanki mięsnej ryby bez skóry.

Obliczano wartości średnie i odchylenia standardowe oraz zastosowano test Dun-cana do określenia istotności różnic statystycznych między wartościami średnimi na poziomie istotności $p \leq 0,05$. Do obliczeń używano programu Statistica 9.1 PL.

Tabela 1. Parametry rozdziału metody HPLC/FLD.
Table 1. Separation parameters of HPLC/FLD method.

Gradient acetonitrylu i wody Gradient of acetonitrile and water			
Czas [min] Time [min]	Acetonitryl [%] Acetonitrile [%]	Woda [%] Water [%]	
0	50	50	
20	100	0	
35	100	0	
45	50	50	
Długości fali wzbudzenia i emisji detektora fluorescencyjnego oraz granica oznaczalności metody dla poszczególnych WWA Excitation and emission wavelengths of fluorescence detector and limit of quantification (LOQ) for selected PAHs			
WWA PAHs	Wzbudzenie Excitation [nm]	Emisja Emission [nm]	Granica oznaczalności LOQ [µg/kg mięsa/ of meat]
Fluoranten / Fluoranthene	462	324	-
Piren / Pyrene			-
Benzo(a)antracen / Benzo(a)anthracene	270	385	0,50
Chryzen / Chrysene			0,40
Benzo(b)fluoranten / Benzo(b)fluoranthene	256	446	0,30
Benzo(k)fluoranten / Benzo(k)fluoranthene			-
Benzo(a)piren / Benzo(a)pyrene	292	410	0,30
Benzo(g,h,i)perylene / Benzo(g,h,i)perylene			-

Wyniki i dyskusja

W surowym mięsie pstrągów tęczowych, pochodzących od trzech producentów (A, B, C), nie stwierdzono zawartości żadnego z ośmiu wybranych wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w ilości większej niż wartość stanowiąca granicę oznaczalności metody.

W tkance mięśniowej tych ryb, wędzonych metodą tradycyjną z surowca świeżego, oznaczono osiem wybranych WWA. Największą średnią zawartość fluorantenu (21,15 µg/kg mięsa) oznaczono w mięsie ryb producenta C, a najmniejszą (9,43 µg/kg mięsa) – producenta A. Najwięcej pirenu (19,33 µg/kg mięsa) było w tkance ryb producenta C, a najmniej (7,45 µg/kg mięsa) – producenta A. Największą średnią zawartość benzo(a)antracenu (0,4 µg/kg mięsa) oznaczono w mięsie ryb producenta C, na-

tomiast w mięsie ryb producenta A średnia zawartość tego związku była poniżej granicy oznaczalności metody, czyli poniżej 0,30 µg/kg mięsa. Ryby producenta B wyróżniały się największą średnią zawartością chryzenu (1,23 µg/kg mięsa), natomiast ryby producenta A zawierały go średnio najmniej (1,00 µg/kg mięsa). W przypadku benzo(b)fluorantenu najwięcej (0,86 µg/kg mięsa) było go w mięsie ryb producenta C, a najmniej (0,55 µg/kg mięsa) w rybach producenta A. Natomiast benzo(k)fluoranten wykryto jedynie w tkance ryb producenta B – średnio 0,34 µg/kg mięsa, a ryby producentów A i C zawierały go mniej niż 0,30 µg/kg mięsa. Największą zawartość benzo(a)pirenu (0,57 µg/kg mięsa) oznaczono w mięsie ryb producenta C. W żadnej z analizowanych próbek nie wykryto benzo(g,h,i)perylenu (tab. 2).

Tabela 2. Zawartość wybranych WWA w rybach świeżych, tradycyjnie wędzonych, pochodzących od trzech producentów (A, B, C) [µg/kg mięsa].

Table 2. Content of selected PAHs in fresh, traditionally smoked fish derived from three producers (A, B, and C) [µg/kg of meat].

WWA PAHs	Producent / Producer		
	A	B	C
Fluoranten / Fluoranthene	9,43 ^a ± 0,33	14,66 ^b ± 0,44	21,15 ^c ± 1,79
Piren / Pyrene	7,45 ^a ± 0,27	11,85 ^b ± 0,13	19,33 ^c ± 2,73
Benzo(a)antracen / Benzo(a)anthracene*	pgo	0,32 ^a ± 0,02	0,40 ^b ± 0,01
Chryzen / Chrysene*	1,00 ^a ± 0,04	1,23 ^b ± 0,13	1,17 ^{ab} ± 0,22
Benzo(b)fluoranten / Benzo(b)fluoranthene*	0,55 ^a ± 0,05	0,72 ^b ± 0,07	0,86 ^c ± 0,04
Benzo(k)fluoranten / Benzo(k)fluoranthene	pgo	0,34 ± 0,03	pgo
Benzo(a)piren / Benzo(a)pyrene*	pgo	0,40 ± 0,06	0,57 ^c ± 0,04
Benzo(g,h,i)Perylen / Benzo(g,h,i)Perylene	pgo	pgo	pgo

Objaśnienia: / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; n = 9;

pgo – poniżej granicy oznaczalności / below limit of quantification; a, b, c – wartości średnie w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,051$ / mean values in rows and denoted by different letters differ statistically significantly at $p \leq 0.05$;

* – zaznaczone WWA wchodzą w skład sumy WWA4 / marked PAHs are included in ΣPAH4.

Badaniom poddano również pstrągi tęczowe przechowywane zamrażalniczo, a po rozmrożeniu wędzone metodą tradycyjną, pochodzące z tych samych partii, co ryby świeże. Największą średnią zawartość fluorantenu (13,97 µg/kg mięsa) oznaczono w mięsie ryb producenta C, a najmniejszą (8,29 µg/kg mięsa) – producenta A. Najwię-

cej pirenu (13,19 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa) zawierały ryby producenta C, a najmniej (8,15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa) – producenta A. Benzo(a)antracen został wykryty jedynie w rybach producenta C (średnio 0,60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa). Ryby producenta C zawierały najwięcej chryzenu (1,20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa), natomiast ryby producenta A zawierały go najmniej (0,46 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa). Wykazano największą zawartość benzo(b)fluorantenu (0,80 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa) w rybach producenta C, a najmniejszą (0,36 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa) – producenta A. Benzo(k)fluoranten wykryto jedynie w rybach producenta C (0,40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa), natomiast w rybach pozostałych producentów oznaczono go mniej niż 0,30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa. Podobnie benzo(a)piren oznaczono jedynie w rybach producenta C (0,70 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa). W żadnej z analizowanych prób nie wykryto benzo(g,h,i)peryleny (tab. 3).

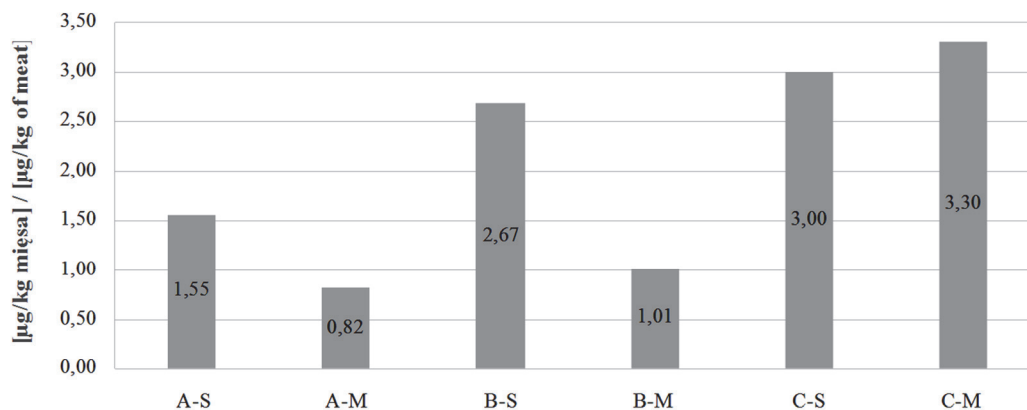
Tabela 3. Zawartość wybranych WWA w rybach przechowywanych zamrażalniczo, następnie rozmrożonych i tradycyjnie wędzonych, pochodzących od trzech producentów (A, B, C) [$\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa].

Table 3. Content of selected PAHs in frozen-stored fish that were, next, defrozen and traditionally smoked; fish were derived from three producers (A, B, C) [$\mu\text{g}/\text{kg}$ of meat].

WWA PAHs	Producent / Producer		
	A	B	C
Fluoranten / Fluoranthene	8,29 ^a \pm 0,28	11,56 ^b \pm 0,44	13,97 ^b \pm 4,19
Piren / Pyrene	8,15 ^a \pm 0,39	10,18 ^b \pm 0,81	13,19 ^b \pm 3,80
Benzo(a)antracen / Benzo(a)anthracene*	pgo	pgo	0,60 \pm 0,24
Chryzen / Chrysene*	0,46 ^a \pm 0,03	0,59 ^b \pm 0,07	1,20 ^c \pm 0,26
Benzo(b)fluoranten / Benzo(b)fluoranthene*	0,36 ^a \pm 0,02	0,42 ^{ab} \pm 0,10	0,80 ^b \pm 0,34
Benzo(k)fluoranten / Benzo(k)fluoranthene	pgo	pgo	0,40 \pm 0,08
Benzo(a)piren / Benzo(a)pyrene*	pgo	pgo	0,70 \pm 0,30
Benzo(g,h,i)perylen / Benzo(g,h,i)perylene	pgo	pgo	pgo

Objaśnienia jak pod tab. 2. / Explanatory notes as in Tab. 2.

Porównując zawartość benzo(a)pirenu oraz ΣWWA4 z najwyższymi dopuszczalnymi poziomami tych związków, określonymi w rozporządzeniu Komisji (UE) 853/2011 [10], stwierdzono, że nawet zaostrenie norm (w przypadku benzo(a)pirenu z 5,0 do 2,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa, a ΣWWA4 – z 30,0 do 12,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa) nie spowodowało ich przekroczenia w mięsie pstrągów tęczy wędzonych z surowca świeżego i po rozmrożeniu w tradycyjnej komorze wędzarniczej (rys. 1), gdyż zawartość benzo(a)pirenu wynosiła od $< 0,30$ do 0,70 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa (tab. 2 i 3), a ΣWWA4



ΣWWA4 (benzo(a)antracen, chryzen, benzo(b)fluoranten, benzo(a)piren) /
ΣPAH4 (benzo(a)anthracene, chrysene, benzo(b)fluoranthene, benzo(a)pyrene)

Rys. 2. Zawartość ΣWWA4 w rybach świeżych, tradycyjnie wędzonych (A-S, B-S, C-S) oraz w rybach przechowywanych zamrażalniczo, następnie rozmrożonych i tradycyjnie wędzonych (A-M, B-M, C-M), pochodzących od trzech producentów (A, B, C).

Fig. 2. Content of ΣPAH4 in traditionally smoked fresh fish (A-S, B-S, C-S) and in smoked frozen-stored fish (A-M, B-M, C-M) that were, next, defrozen and traditionally smoked; fish were derived from three producers (A, B, C).

Tabela 4. Zawartość wybranych WWA w rynkowych pstrągach tęczowych wędzonych różnymi metodami [µg/kg mięsa].

Table 4. Content of selected PAHs in market rainbow trout smoked using different methods [µg/kg of meat].

WWA PAHs	Wędzenie tradycyjne Traditional smoking	Zewnętrzna wytwornica dymu External smoke generator	Preparat dymu wędzarniczego Liquid smoke
Fluoranten / Fluoranthene	17,78 ^b ± 0,52	8,12 ^a ± 1,56	Pgo
Piren / Pyrene	17,93 ^b ± 0,23	8,90 ^a ± 1,84	Pgo
Benzo(a)antracen / Benzo(a)anthracene*	1,03 ± 0,28	pgo	Pgo
Chryzen / Chrysene*	1,04 ^b ± 0,14	0,34 ^a ± 0,01	pgo
Benzo(b)fluoranten / Benzo(b)fluoranthene*	1,29 ^b ± 0,39	0,41 ^a ± 0,12	Pgo
Benzo(k)fluoranten / Benzo(k)fluoranthene	0,43 ± 0,12	pgo	Pgo
Benzo(a)piren / Benzo(a)pyrene*	1,03 ^b ± 0,33	0,36 ^a ± 0,04	Pgo
Benzo(g,h,i)perylene / Benzo(g,h,i)perylene	0,44 ± 0,14	pgo	Pgo

Objaśnienia jak pod tab. 2. / Explanatory notes as in Tab. 2.

(benzo(a)pirenu, benzo(a)antracenu, chryzenu, benzo(b)fluorantenu) kształtowała się od 0,82 do 3,30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa (rys. 2).

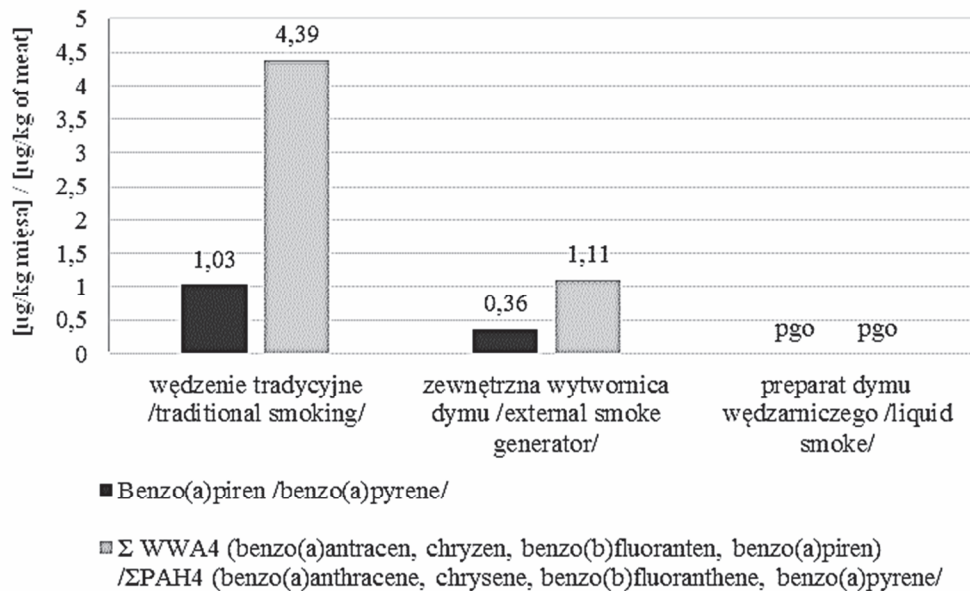
W tab. 4. przedstawiono wyniki zawartości ośmiu WWA w rybach wędzonych różnymi metodami (preparat dymu wędzarniczego, zewnętrzna wytwornica dymu oraz tradycyjnie), pochodzących z handlu od trzech wybranych przetwórców.

Pierwsze trzy ryby pochodziły od producenta, który deklarował wędzenie z wykorzystaniem zewnętrznej wytwornicy dymu, kolejne trzy pozyskano od producenta deklarującego wędzenie tradycyjne, ostatnie trzy ryby zostały wyprodukowane przy użyciu preparatu dymu wędzarniczego. W przypadku ryb uzyskanych przy użyciu preparatu dymu wędzarniczego nie stwierdzono zawartości żadnego z wybranych WWA w ilości większej niż wynosi granica oznaczalności metody. Analiza ryb wędzonych przy zastosowaniu zewnętrznej wytwornicy dymu wykazała: fluoranten – 8,12 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa, piren – 8,90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa, chryzen – 0,34 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa, benzo(b)fluoranten – 0,41 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa oraz bezno(a)piren – 0,36 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa (tab. 4). Największą zawartość wybranych WWA oznaczono w próbkach ryb wędzonych tradycyjnie. We wszystkich badanych próbkach fluoranten i piren dominowały pod względem zawartości w porównaniu z pozostałymi WWA.

Analiza zawartości benzo(a)pirenu oraz ΣWWA4 (benzo(a)pirenu, benzo(a)antracenu, chryzenu, benzo(b)fluorantenu) pod względem spełnienia wymagań rozporządzenia Komisji (UE) 853/2011 [10] wykazała, że w rynkowych rybach poddanych procesowi wędzenia tradycyjnego stwierdzono najwyższe poziomy benzo(a)pirenu – 1,03 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa i ΣWWA4 – 4,39 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa. Trzykrotnie niższy poziom benzo(a)pirenu oraz czterokrotnie niższy poziom ΣWWA4 oznaczono w rynkowych rybach wędzonych przy użyciu zewnętrznej wytwornicy dymu. W przypadku mięsa ryb poddanych działaniu preparatu dymu wędzarniczego zawartość bezno(a)pirenu oraz ΣWWA4 były poniżej wartości stanowiącej granicę oznaczalności metody (rys. 3). Karl i Leinemann [5] wykazali, że zawartości B(a)P w rybach wędzonych tradycyjnie i przy użyciu zewnętrznej wytwornicy dymu kształtowały się odpowiednio: od 0,5 do 2,4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa oraz od pgo do 2,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa.

Porównując badania własne zawartości WWA w mięsie pstrąga tęczowego z opracowaniami innych autorów, na szczególną uwagę zasługują badania szwedzkie z uwagi na ten sam gatunek ryby (*Oncorhynchus mykiss*) i jej elementy poddane analizie (mięso bez skóry i ości), zastosowaną metodę wędzenia oraz użyte drewno (olchove). Wretling i wsp. [16] przeprowadzili w latach 2006 - 2007 badania szwedzkich wędzonych ryb i mięsa w ramach oficjalnego monitoringu. W pstrągu tęczowym wędzonym tradycyjnie w jednym zakładzie przetwórczym oznaczyli benzo(a)piren w ilości 0,90 oraz 0,60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa (w niniejszej pracy 0,70 - 0,40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa), natomiast ΣWWA4 w tych samych próbkach wyniosła 3,90 i 3,20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa (w niniejszej pracy 3,30 - 0,82 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa). W tych samych badaniach w próbkach pstrąga

tęczowego wędzonego przy użyciu zewnętrznej wytwornicy dymu stwierdzono występowanie benzo(a)pirenu w ilości $< 0,30 \mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa. Zbliżoną zawartość B(a)P uzyskano w niniejszych badaniach.



pgo – poniżej granicy oznaczalności / below limit of quantification

Rys. 3. Zawartość benzo(a)pirenu oraz Σ WWA4 w rybach wędzonych różnymi metodami, pochodzących z różnych zakładów przetwórczych.

Fig. 3. Contents of benzo(a)pyrene and Σ PAH4 in rainbow trout fish smoked using different methods and derived from different processing plants.

Wyniki badań własnych były także zbliżone do otrzymanych w Estonii w latach 2003 - 2004. W mięsie pstrąga wędzonego na gorąco średnie zawartości wybranych WWA kształtowały się następująco: benzo(a)piren – $0,5 \mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa, benzo(a)antracen – $1,6 \mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa, benzo(b)fluoranten + benzo(k)fluoranten – $0,5 \mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa, indeno(1,2,3-cd)piren – $0,4 \mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa [17]. Visciano i wsp. [15] oznaczyli w pochodzących z włoskich hodowli ryb wędzonych tradycyjnie zawartość WWA (zarówno z różnych wędzarni tradycyjnych, jak i od różnych producentów oraz różnego rodzaju surowca użytego do wędzenia przez tę samą wędzarnię). Porównując te wyniki z otrzymanymi w niniejszej pracy można stwierdzić, że proces tradycyjnego wędzenia, ze względu na swój niecałkowicie kontrolowany charakter (temperatura, ilość i przepływ dymu, czas wędzenia itp.), powoduje nieregularne zanieczyszczenie mięsa w niektóre z oznaczanych WWA, lecz nie bez wpływu pozostaje początkowa zawartość WWA w surowcu. W filetach wędzonych przy użyciu 5 g płynnego prepara-

tu dymu wędzarniczego na 1 kg ryby (dopuszczonego do użytku wewnątrz Unii Europejskiej: Smokez C-6 maple & H-6 hichory, firmy Red Arrow International LLC, Manitowoc, WI, USA), w komorze o sterowanym dostępie powietrza i kontrolowanej temperaturze, wymienieni autorzy oznaczyli zawartości WWA, które były wielokrotnie większe od oznaczonych w próbce wędzonej przy użyciu preparatu dymu wędzarniczego w niniejszej pracy. Ci sami autorzy przeprowadzili również badania zawartości WWA w rybach wędzonych tradycyjnie w temp. 25 °C przez 3 h w piecu, w którym palenisko znajdowało się bezpośrednio pod wiszącymi rybami. Wędzono całe wypatroszone ryby, do badań została natomiast pobrana jedynie tkanka mięśniowa bez ości i skóry. W całych rybach wędzonych tradycyjnie, filetowanych po uwędzeniu, oznaczono następujące zawartości wybranych WWA [$\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa]: antracen – 11,30, fluoranten – 5,64, piren – 18,74, benzo(a)antracen – 1,75, chryzen – 0,61, benzo(b)fluoranten – 4,68, benzo(k)fluoranten – 2,65, benzo(g,h,i)perylen – 5,62 [15]. Dane przedstawione przez Jira [4] również potwierdzają, że w produktach pochodzących z nowoczesnych wędzarni fluoranten stanowi większy udział w sumie WWA, a suma WWA jest mniejsza niż w procesie wędzenia tradycyjnego.

W USA przeprowadzono badania na pstrągach pochodzących z Wielkich Jezior Północnoamerykańskich: Michigan – ryby chude oraz Superior – ryby tłuste. Ryby surowe z jeziora Michigan zawierały niewiele więcej wybranych WWA od otrzymanych w niniejszej pracy. Ryby wędzone na gorąco (temp. wewnętrzna 82 °C przez 30 min) z tego samego jeziora zawierały więcej, od oznaczonych w tej pracy, następujących WWA [$\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa]: pirenu – 82,4, benzo(a)antracenu – 9,66 i benzo(a)pirenu – 5,12, zbliżone ilości fluorantenu – 26,84 i chryzenu – 2,93 oraz mniejszą zawartość benzo(b)fluorantenu – 0,08. W przypadku tłustych surowych pstrągów z jeziora Superior oznaczono następujące średnie zawartości WWA [$\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa]: fluoranten – 0,13, piren – 2,91, benzo(a)antracen – 1,54, chryzen – 0,28. Pstrągi wędzone, pochodzące z tego samego jeziora, zawierały o wiele więcej [$\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa]: pirenu – 175,43, fluorantenu – 38,68, benzo(a)antracenu – 15,63, benzo(a)pirenu – 8,43 niż ryby objęte badaniem w niniejszej pracy. Jedynie zawartość chryzenu (1,46 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa) była zbliżona [18].

Podsumowując można stwierdzić, że w badaniach własnych, zarówno w mięsie ryb wędzonych tradycyjnie ze znanego rodzaju surowca, jak również w rynkowych rybach wędzonych różnymi metodami, pochodzącymi od różnych przetwórców, zawartość benzo(a)pirenu oraz ΣWWA4 nie przekroczyła odpowiednio: 5,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa i 30,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mięsa (normy obowiązujące do 1.09.2014 r.). Obowiązujące od 1 września 2014 r. nowe zaostrzone normy zawartości benzo(a)pirenu oraz ΣWWA4 w wędzonych rybach (odpowiednio: 2,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ oraz 12,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ produktu) [10] nie były przekroczone w żadnej z analizowanych próbek.

Na podstawie określonych różnic zawartości oznaczanych związków w mięsie ryb, nawet w tych wędzonych jednocześnie na tym samym wózku, można stwierdzić,

że wędzenie tradycyjne ze względu na niecałkowicie kontrolowalny charakter może powodować nieregularne wprowadzanie WWA do mięsa ryb wędzonych tą metodą. Wahania te mogą wynikać z szeregu czynników, m.in. z warunków zewnętrznych, jak np. wiatr, ciśnienie atmosferyczne czy ze specyfiki drewna użytego do wędzenia (gatunek, twardość, wysuszenie), dostępu powietrza, a nawet rozmieszczenia ryb na wózku. Jednak na podstawie przeprowadzonych badań wykazano, że rodzaj użytego surowca (świeże, po zamrażalniczym przechowywaniu – rozmrożone) wydaje się nie wpływać na zawartość wybranych WWA.

Wnioski

1. W mięsie pstrągów tęczowych ze znanego rodzaju surowca, wędzonych tradycyjnie, jak również w rynkowych rybach wędzonych różnymi metodami, pochodzącymi od różnych przetwórców, zawartość bezno(a)pirenu oraz Σ WWA4 nie przekroczyła poziomów wymaganych w rozporządzeniu europejskim.
2. Mięso pstrągów tęczowych dostępnych na rynku lokalnym zawierało więcej wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w rybach wędzonych tradycyjnie niż w rybach wędzonych współczesnymi metodami.
3. Zawartość wybranych WWA w mięsie pstrągów tęczowych z akwakultury, dostępnych na rynku lokalnym, niezależnie od metody wędzenia, nie stanowi zagrożenia dla zdrowia konsumentów i nie zmniejsza żywieniowej wartości tych ryb.

Literatura

- [1] Arens U.: Fish and heart disease. *Coronary Health Care*, 1997, **1**, 79-82.
- [2] Barrado E., Jimenez F., Prieto F., Nuevo C.: The use of fatty-acid profiles of the lipids of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to differentiate tissue and dietary feed. *Food Chem.*, 2003, **81**, 13-20.
- [3] Ciemiński A., Protasowicki M.: WWA w mięsnych i drobiowych artykułach spożywczych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2002, **35**, 3-4.
- [4] Jira W.: A GC/MS method for the determination of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in smoked meat products and liquid smokes. *Eur. Food Res. Technol.*, 2004, **218**, 208-212.
- [5] Karl H., Leinemann M.: Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked fishery products from different smoking kilns. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 1996, **202**, 459-464.
- [6] Kołakowska A., Kołakowski E.: Szczególne właściwości żywieniowe ryb. *Przem. Spoż.*, 2001, **6**, 10-13.
- [7] Kołakowska A., Olley J., Dunstan G.A.: Fish lipids. In: *Chemical and functional properties of food lipids*. Ed. Z. E. Sikorski, A. Kołakowska. Boca Raton, CRC Press, 2002, p. 224.
- [8] Kubiak M.S., Polak M., Siekierko U.: Zawartość B(a)P w rynkowych przetworach mięsnych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **3 (76)**, 120-129.
- [9] Raport numeru: Liderzy w wędzeniu pstrąga i łososia. *Mag. Przem. Ryb.*, 2009, **72**, 6.
- [10] Rozporządzenie Komisji (UE) nr 835/2011 z dnia 19 sierpnia 2011 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1881/2006 odnośnie do najwyższych dopuszczalnych poziomów wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w środkach spożywczych. *Dz. Urz. UE L 215/4* z dn. 20.08.2011.

- [11] Sikorski Z.E.: Ryby i bezkręgowce morskie pozyskiwanie, właściwości i przetwarzanie. WNT, Warszawa 2004, s. 254.
- [12] Stołyhwo A., Sikorski Z.E.: Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked fish – a critical review. Food Chem., 2005, **91**, 303-311.
- [13] Tkacz K., Więk A., Kubiak M.S.: Influence of marinades on the level PAHs in grilled meat products. Italian J. Food Sci., 2012, **24**, 270-278.
- [14] Usyduś Z., Szlinder-Richert J., Polak-Juszczak L., Komar K., Adameczyk M., Malesa-Ciecwierz M., Ruczynska W.: Fish products available in Polish market – Assessment of the nutritive value and human exposure to dioxins and other contaminants. Chemosphere, 2009, **74**, 1420-1428.
- [15] Visciano P., Perugini M., Monte F., Morena M.: Polycyclic aromatic hydrocarbons in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) processed by traditional flue gas smoking and by liquid smoke flavourings. Food Chem. Toxicol., 2008, **46**, 1409-1413.
- [16] Wretling S., Eriksson A., Ekshult G.A., Larsson B.: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Swedish smoked meat and fish. J. Food Compos. Anal., 2010, **23**, 264-272.
- [17] Yurchenko S., Molder U.: The determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked fish by gas chromatography mass spectrometry with positive-ion chemical ionization. J. Food Compos. Anal., 2005, **18**, 857-869.
- [18] Zabik M.E., Booren A.I., Zabik M.J., Welch R., Humphrey H.: Pesticides residues, PCBs and PAHs in baked, charboiled, salt boiled and smoke d Great Lakes lake trout. Food Chem., 1995, **55**, 231-239.

POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS (PAHS) IN SMOKED RAINBOW TROUT (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

S u m m a r y

The objective of the study was to compare the content of eight selected polycyclic aromatic hydrocarbons in the meat of traditionally (directly) smoked rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from a fresh and a frozen fish, with the content of the same in the market trout fish smoked using different methods (in a smokehouse with an external smoke generator, traditional smoking, and smoking using liquid smoke). PAHs were determined with the use of a high performance liquid chromatography with a fluorescence detector (HPLC-FLD). The PAHs values determined in the meat of fish smoked using different methods did not exceed the maximum permissible concentration levels of PAHs in any meat sample analyzed, and the average content of benzo(a)pyrene was between < 0.30 and $1.03 \mu\text{g}/\text{kg}$ of meat, whereas ΣPAH_4 (benzo(a)pyrene + chrysene + benzo(a)anthracene + benzo(b)fluoranthene) did not exceed $5.00 \mu\text{g}/\text{kg}$ of meat. The analysis of the rainbow trout available in the local market showed a higher content of the selected PAHs in the traditionally smoked fish than in the fish smoked using current methods. The average content of benzo[a]pyrene in the meat of traditionally smoked rainbow trout from fresh fish ranged from $< 0.30 \mu\text{g}/\text{kg}$ to $0.57 \mu\text{g}/\text{kg}$ of meat, in the smoked fish from defrosted fish, it ranged from $< 0.30 \mu\text{g}/\text{kg}$ to $0.70 \mu\text{g}/\text{kg}$ of meat, whereas the highest content of benzo[a]pyrene was determined in the fish that was bought in processing plants and was declared to be traditionally smoked: $1.03 \mu\text{g}/\text{kg}$ of meat. Based on the research performed, it was confirmed that, regardless of the production method applied, the content of PAHs in the meat of smoked rainbow trout does not involve health risk to consumers; it does not reduce dietary values of that fish either.

Key words: rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), smoking with the use of different methods, selected PAHs, maximum permissible levels of PAHs ☒