

KAJIAN KEAMANAN ASAP CAIR TEMPURUNG KELAPA UNTUK PRODUK PANGAN

Slamet Budijanto^{1)*}, Rokhani Hasbullah²⁾, Sulusi Prabawati³⁾, Setiadjit³⁾, Sukarno¹⁾, Ita Zuraida⁴⁾

ABSTRACT

STUDY OF SAFETY OF COCONUT SHELL LIQUID SMOKE FOR FOOD PRODUCTS

The objective of this research was to study the food safety of coconut shell liquid smoke for food products by acute toxicity test and identification of volatile compounds by means of Gas Chromatography- Mass Spectroscopy (GC-MS). Acute toxicity test of these product were assessed by determination of LD₅₀ dose (the single dose which causes the death of half the test animals) based on OECD 402 (2001) Guidelines for the Testing of Chemicals. Three of mice are used for each step. The dose level to be used is selected of five fixed levels, 0, 50, 500, 5.000, and 15.000mg.kg⁻¹ body weight. Results indicated that LD₅₀ dose of this liquid smoke are more than 15.000mg.kg⁻¹ body weight of mice. Based on regulation by the Indonesian Government (Regulation 74/RI/2001), liquid smoke with LD₅₀ value more than 15.000mg.kg⁻¹ body weight of mice, this product was no toxic and safe for food products. Identification of volatile compound of liquid smoke was start by extracted these product using dichloromethane as solvent. Result of GC-MS showed that liquid smoke comprise 40 components. From GC-MS spectra were identified 7 peaks with a higher proportions. They were identified as 2-Methoxyphenol (guaiacol), 3,4-Dimethoxyphenol, Phenol, 2-methoxy-4-methylphenol, 4-Ethyl-2-methoxyphenol, 3-Methylphenol, and 5-Methyl-1,2,3-trimethoxy benzene. Neither benzo[a]pyrene nor other polycyclic aromatic compounds with carcinogenic properties were found in this liquid smoke. Benzo[a]pyrene is regarded as a marker of the carcinogenic compounds in food products, although in foods the maximum level of 10µg.kg⁻¹ for benzo[a]pyrene has been set by the European Commission. Analytical procedures based on extraction of the hydrocarbons from the matrix, separation by Gas Chromatography (GC), followed by detection by Mass Spectroscopy (MS), make it possible to determine polycyclic aromatic compounds including benzo[a]pyrene in food products.

Keywords: acute toxicity, coconut shell liquid smok, food safety, GC-MS, volatile compounds

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji keamanan pangan asap cair tempurung kelapa untuk produk pangan dengan uji toksisitas akut dan identifikasi komponen volatil menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* (GC-MS). Uji toksisitas akut asap cair dilakukan dengan menentukan nilai LD₅₀ atau dosis tunggal suatu zat yang diharapkan akan membunuh 50% hewan percobaan, berdasarkan OECD 402 (2001) *Guidelines for the Testing of Chemicals*. Tiga ekor mencit digunakan untuk setiap perlakuan. Dosis yang diujikan adalah 0, 50, 500, 5.000, dan 15.000mg.kg⁻¹ bobot badan. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa nilai LD₅₀ asap cair tempurung kelapa lebih besar dari 15.000mg.kg⁻¹ bobot badan mencit. Berdasarkan Peraturan Pemerintah RI No.74 Tahun 2001, asap cair tempurung kelapa dengan nilai LD₅₀ lebih besar dari

15.000mg.kg⁻¹, maka termasuk bahan yang tidak toksik dan aman digunakan untuk produk pangan. Identifikasi komponen volatil asap cair tempurung kelapa diawali dengan mengekstrak bahan tersebut menggunakan diklorometan sebagai pelarut. Hasil analisis GC-MS menunjukkan terdapat 40 komponen yang teridentifikasi dari asap cair, dengan 7 komponen yang dominan yaitu 2-Methoxyphenol (guaiacol), 3,4-Dimethoxyphenol, Phenol, 2-methoxy-4-methylphenol, 4-Ethyl-2-methoxyphenol, 3-Methylphenol, dan 5-Methyl-1,2,3-trimethoxybenzene.

Selain itu, tidak ditemukan adanya senyawa-senyawa *Polycyclic Aromatic Hydrocarbon* (PAH) yang bersifat karsinogenik termasuk *benzo[a]pyrene* dalam asap cair tempurung kelapa. *Benzo[a]pyrene* merupakan suatu penanda adanya senyawa karsinogenik dalam produk pangan, meskipun batas maksimum kandungan *benzo[a]pyrene* dalam produk pangan sebesar 10µg.kg⁻¹ telah diatur oleh European Commission. Metode analisis berdasarkan ekstraksi komponen hidrokarbon dari suatu bahan, pemisahan dengan *Gas Chromatography* (GC), diikuti oleh deteksi dengan *Mass Spectroscopy* (MS), dapat digunakan untuk menentukan senyawa-senyawa PAH termasuk *benzo[a]pyrene* dalam produk pangan.

¹⁾ Dosen Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian IPB

²⁾ Dosen Departemen Teknik Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB

³⁾ Peneliti Balai Besar Litbang Pascapanen Pertanian

⁴⁾ Mahasiswa Pascasarjana Ilmu Pangan, IPB

* Penulis korespondensi: (0251-8621974)

Kata kunci: asap cair tempurung kelapa, toksisitas akut, komponen volatil, GC-MS, keamanan pangan

PENDAHULUAN

Pirolisis tanaman atau kayu dapat menghasilkan senyawa kimia yang kompleks. Senyawa kimia yang kompleks tersebut mengandung berbagai kelompok senyawa dan beberapa metode pemisahan telah banyak dilakukan untuk memisahkan komponen senyawa tersebut berdasarkan polaritas, tingkat keasaman, dan volatilitas (Putnam *et al.* 1999).

Asap cair merupakan salah satu hasil pirolisis tanaman atau kayu pada suhu sekitar 400°C (Soldera 2008). Penggunaan asap cair mempunyai banyak keuntungan dibandingkan metode pengasapan tradisional, yaitu lebih mudah diaplikasikan, proses lebih cepat, memberikan karakteristik yang khas pada produk akhir berupa aroma, warna, dan rasa, serta penggunaannya tidak mencemari lingkungan (Pszczola 1995). Selain itu, beberapa senyawa toksik, terutama *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons* (PAH) yang dihasilkan dari proses pembakaran lebih mudah dikontrol (Guillen *et al.* 2000; Hattula *et al.* 2001; Simko 2002).

Beberapa penelitian telah melaporkan potensi mutagenik senyawa kimia hasil pirolisa. Braun *et al.* (1987) melaporkan bahwa senyawa kimia dalam ekstrak asap kayu bersifat mutagenik pada kelenjar limpa manusia, tetapi tidak mempunyai potensi mutagenik dalam pengujian menggunakan bakteri. Putnam *et al.* (1999) melaporkan bahwa asap kayu bersifat mutagenik terhadap *Salmonella*. Potensi mutagenik dari senyawa kimia hasil pirolisis sangat dipengaruhi oleh bahan atau jenis kayu yang digunakan dan metode yang digunakan untuk menghasilkan senyawa kimia tersebut.

Meskipun potensi mutagenik dari asap kayu telah dilaporkan, tetapi belum ada studi tentang toksisitas dari asap cair, terutama asap cair yang berasal dari hasil pirolisis tempurung kelapa. Penelitian mengenai toksisitas dari asap cair ini sangat penting mengingat saat ini asap cair telah digunakan secara komersial oleh industri pangan (Guillen *et al.* 1995; Guillen, Manzano 1997; Guillen, Ibargoitia 1998; Soldera *et al.* 2008).

Selain studi tentang toksisitas, keamanan dari asap cair tersebut tidak terlepas dari komposisi senyawa kimia yang terkandung di dalamnya. Asap cair yang berasal dari bahan baku berbeda dan metode pirolisis yang berbeda, akan menghasilkan komponen kimia yang berbeda (Guillen *et al.* 1995; Guillen, Ibargoitia 1998; Guillen *et al.* 2001). Asap cair komersial yang banyak digunakan dalam skala industri maupun laboratorium, telah diteliti komposisinya (Guillen *et al.* 1995; Guillen, Ibargoitia 1998; Guillen, Ibargoitia 1999; Guillen *et al.* 2001), aktivitas antimikrobialnya (Faith *et al.* 1992; Munoz *et al.* 1998; Milly *et al.* 2005), dan pengaruhnya terhadap sifat organoleptik produk perikanan (Cardinal *et al.* 2006; Martinez *et al.* 2007).

Komposisi dari asap cair sangat kompleks dan terdiri dari komponen yang berasal dari kelompok senyawa kimia yang berbeda, seperti aldehid, keton, alkohol, asam, ester, turunan furan dan pyran, turunan fenolik, hidrokarbon, dan nitrogen (Soldera *et al.* 2008).

Saat ini, asap cair telah banyak digunakan oleh industri pangan sebagai bahan pemberi aroma, tekstur, dan citarasa yang khas pada produk pangan, seperti daging, ikan, dan keju (Soldera *et al.* 2008). Di Indonesia, asap cair sudah digunakan oleh industri pembuatan bandeng asap di Sidoarjo (Hadiwiyoto *et al.* 2000). Penggunaan asap cair tempurung kelapa pada skala laboratorium juga cukup banyak dilakukan. Hasil penelitian Haras (2004) menyebutkan bahwa ikan cakalang yang direndam dalam asap cair tempurung kelapa 2% selama 15 menit dan disimpan pada suhu kamar mulai mengalami kemunduran mutu pada hari ke-4. Febriani (2006) melaporkan bahwa ikan belut yang direndam asap cair tempurung kelapa konsentrasi 30% selama 15 menit dapat awet pada suhu kamar sampai hari ke-9. Gumanti (2006) melaporkan bahwa mie basah yang dicampur asap cair tempurung kelapa konsentrasi 0,09% dalam adonannya dapat awet hingga 2 hari pada suhu kamar. Mahendradatta, Tawali (2006) juga melaporkan bahwa ikan kembung yang direndam dalam redistilat asap cair tempurung kelapa sebesar 1,55mg per 100g selama 30 detik dan dikombinasi dengan penambahan bumbu-bumbu, dapat meminimalkan kandungan histamin selama 20 hari penyimpanan pada suhu dingin (5°C). Menurut Siskos *et al.* (2007), asap cair komersial konsentrasi 2% dalam 2 liter air pengukus filet ikan trout (*Salmo gairdnerii*) yang dikombinasi dengan waktu pengukusan selama 30 menit dapat mengawetkan filet ikan trout sampai 25 hari pada suhu penyimpanan 4±1°C. Filet ikan trout dengan kombinasi asap cair dan waktu pengukusan selama 45 menit dan 60 menit, dapat awet hingga 48 hari.

Asap cair dapat diaplikasikan pada produk pangan dengan berbagai metode, yaitu pencampuran, pencelupan atau perendaman, penyuntikan, pencampuran asap cair pada air perebusan, dan penyemprotan. Metode pencampuran biasanya digunakan pada produk daging olahan, flavor ditambahkan dalam jumlah yang bervariasi. Metode ini dapat digunakan untuk ikan, emulsi daging, bumbu daging pangan, mayonaise, sosis, keju oles, dan lain lain (Kostyra, Pikielna 2007). Pencelupan atau perendaman dapat menghasilkan mutu organoleptik yang tinggi terutama pada hasil produk olahan daging pada bagian bahu dan perut, sosis dan keju Itali (Martinez *et al.* 2007). Metode penyuntikan biasanya diaplikasikan pada daging terutama pada daging bagian perut. Aroma asap yang disuntikkan dalam jumlah bervariasi (0,2–1%), akan memberikan flavor yang seragam (Kjallstrand, Petersson 2001). Metode pencampuran asap cair pada air perebusan bisa digunakan dalam pengolahan fillet ikan asap, bandeng presto maupun bakso ikan. Asap cair dicampurkan dalam air yang digunakan untuk merebus maupun mengukus produk perikanan. Kelebihan metode ini, komponen-komponen asap lebih banyak yang terdistribusi ke dalam produk dan

juga melapisi bagian luar produk (Siskos *et al.* 2007). Metode penyemprotan biasa digunakan dalam pengolahan daging secara kontinyu (Martinez *et al.* 2004).

Berdasarkan informasi tentang manfaat dan penggunaan asap cair tersebut, asap cair tempurung kelapa berpotensi menjadi bahan pengawet alternatif, disamping dapat memberikan aroma, tekstur, dan citarasa yang khas pada produk pangan. Oleh karena itu, diperlukan pengujian tentang keamanan pangan asap cair tempurung kelapa, sehingga dapat menjadi bahan pengawet alternatif yang aman. Metode yang digunakan adalah uji toksisitas akut asap cair tempurung kelapa untuk menentukan nilai LD₅₀ dan identifikasi komponen asap cair tempurung kelapa dengan *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* (GC-MS).

BAHAN DAN METODE

Bahan

Asap cair tempurung kelapa yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari industri kecil CV. Wulung Prima Kp Sinagar Desa Cihideungudik Ciampea Bogor, binaan dari Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Bahan kimia untuk analisis adalah *dichloromethane* dan Na₂SO₄.

Alat

Alat yang digunakan adalah *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* Shimadzu QP 2010 dengan kolom RTX-1 MS, labu pisah, dan erlenmeyer.

Metode Penelitian

Uji Toksisitas Akut (Penentuan LD₅₀)

Metodologi uji toksisitas mengacu pada OECD 402 (2001) *Guideline For Testing of Chemicals (Estimating Acute Oral Toxicity in Rats)* dan Peraturan Pemerintah RI Nomor 74 Tahun 2001.

Prosedur pengujian

Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran Hewan IPB dengan umur rata-rata 5–6 minggu dengan bobot badan lebih kurang 20–25g. Perlakuan yang diberikan adalah dosis asap cair, yaitu 0, 50, 500, 5.000, dan 15.000mg.kg⁻¹ bobot badan. Jumlah hewan uji yang digunakan 3 ekor setiap perlakuan. Jumlah mencit yang digunakan dalam setiap perlakuan dianggap sebagai ulangan. Hewan uji mencit yang sehat diaklimatisasi atau diadaptasikan pada kondisi laboratorium dalam suatu kandang minimal selama 7 hari dan diberi makan dengan takaran pakan yang diberikan adalah 5g per ekor per hari serta diberi minum 1–2ml.g⁻¹ makanan. Selama masa aklimatisasi semua mencit

ditimbang setiap hari. Satu kandang berukuran kurang lebih 30×20cm² digunakan untuk menyimpan 3 ekor mencit. Setiap dua hari kandang dibersihkan dan dilakukan disinfeksi 1× dalam seminggu. Setelah itu, mencit dibagi dalam bentuk kelompok berdasarkan dosis dengan rincian seperti pada Tabel 1.

Tabel 1 Rincian Seri Dosis untuk Uji Toksisitas Akut

Kelompok	Dosis perlakuan (mg.kg ⁻¹ bobot badan)				
	Kontrol	50	500	5.000	15.000
1 (3 ekor)	3	-	-	-	-
2 (3 ekor)	-	3	-	-	-
3 (3 ekor)	-	-	3	-	-
4 (3 ekor)	-	-	-	3	-
5 (3 ekor)	-	-	-	-	3

Pada Tabel 1 diperlihatkan bahwa dalam setiap perlakuan, yaitu dosis asap cair 0, 50, 500, 5.000, dan 15.000mg.kg⁻¹ bobot badan, digunakan 3 ekor mencit. Pengelompokan dilakukan secara acak berdasarkan bobot badan mencit, kemudian diberi tanda atau nomor pengenalnya untuk setiap kelompok tingkat dosis.

Sebelum diberi perlakuan mencit dipuasakan dahulu selama minimal 4 jam. Masing-masing dosis diberikan 1×(tunggal), yaitu pada hari pertama kepada 3 ekor mencit jantan dengan pencekakan masing-masing sebanyak 1ml. Pencekakan dilakukan secara oral menggunakan sonde.

Mencit kontrol hanya diberi air aquades (tanpa asap cair) sebanyak 1ml. Pengamatan dilakukan selama interval waktu 24 jam selama 14 hari. Persentase kematian untuk tiap dosis (apabila ada) dicatat dalam tabel. Mencit yang masih hidup bobot badannya terus ditimbang selama pengamatan. Analisis data dilakukan berdasarkan laju peningkatan bobot badan rata-rata mencit dan jumlah kematian mencit untuk masing-masing dosis.

Identifikasi Komponen Asap Cair dengan GC-MS (modifikasi Guillen dan Ibargoitia 1999)

Preparasi contoh (untuk analisis GCMS)

Pada contoh dimasukkan 30 ml asap cair dalam labu pisah, kemudian ditambahkan 10 ml *dichloro-methane* lalu digojog sebentar. Contoh didiamkan selama 1 jam lalu diambil fraksi bagian bawah ke dalam erlenmeyer. Ditambahkan lagi 10ml *dichloromethane*, digojog dan didiamkan selama 1 jam. Selanjutnya diambil fraksi bagian bawah dan tambahkan dengan yang pertama, dan disaring dengan kertas Whatman 42 dengan ditambahkan Na₂SO₄. Hasil saringan siap untuk diinjek.

Kondisi pengoperasian GCMS (QP2010)

GCMS-QP2010 dioptimalkan pada suhu oven 100^oC yang dipertahankan selama 4 menit, suhu kemudian ditingkatkan menjadi 200^oC dengan kenaikan 20^oC.menit⁻¹

dan dipertahankan selama 2 menit, suhu ditingkatkan lagi menjadi 300°C dengan kenaikan suhu 20°C per menit dan dipertahankan selama 16 menit. Suhu pada sumber ion diatur pada 230°C suhu injector diatur pada 260°C. Analisis ini menggunakan gas helium yang memiliki kemurnian 99,99% dengan tekanan gas 62,7kPa. Contoh diinjeksikan dalam kromatografi gas sebanyak 1µl, dianalisis dari berat molekul 50,00 sampai 500,00 dalam waktu 3 sampai 32 menit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Asap cair tempurung kelapa merupakan hasil kondensasi asap tempurung kelapa melalui proses pirolisis pada suhu sekitar 400°C. Asap cair mengandung berbagai komponen kimia seperti fenol, aldehyd, keton, asam organik, alkohol dan ester (Guillen *et al.* 1995; Guillen *et al.* 2000; Guillen *et al.* 2001). Berbagai komponen kimia tersebut dapat berperan sebagai antioksidan dan antimikroba serta memberikan efek warna dan citarasa khas asap pada produk pangan (Karseno *et al.* 2002). Namun, salah satu komponen kimia lain yang dapat terbentuk pada pembuatan asap cair tempurung kelapa adalah *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons* (PAH) dan turunannya. Beberapa di antara komponen tersebut bersifat karsinogenik (Stolyhwo, Sikorski 2005). *Benzo[a]pyrene* merupakan salah satu senyawa PAH yang diketahui bersifat karsinogenik dan biasa ditemukan pada produk pengasapan (Guillen *et al.* 1995; Guillen *et al.* 2000; Kazerouni *et al.* 2001; Stolyhwo, Sikorski 2005).

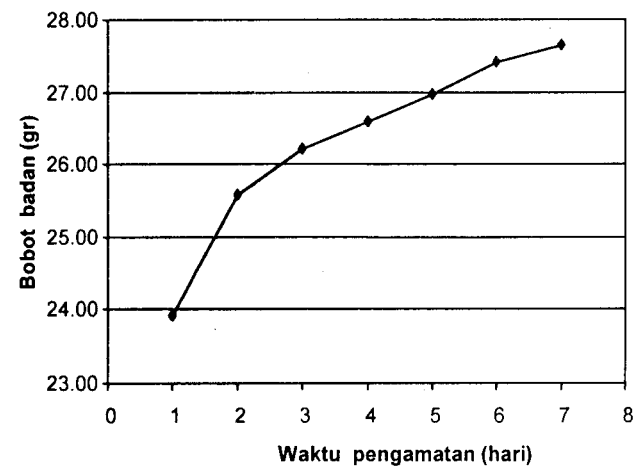
Metode pengasapan panas dapat menghasilkan kadar *benzo[a]pyrene* pada produk pangan lebih besar daripada penggunaan asap cair. Storelli *et al.* (2003) melaporkan kadar *benzo[a]pyrene* pada *seafood* asap dengan metode pengasapan panas mencapai 46µg.kg⁻¹ pada *swordfish* dan 124µg.kg⁻¹ pada ikan herring, menurut Hadiwiyoto *et al.* (2000) kadar *benzo[a]pyrene* pada *seafood* asap dengan asap cair mencapai 0,32µg.kg⁻¹ pada ikan makarel dan 0,34µg.kg⁻¹ pada ikan tuna. Kadar *benzo[a]pyrene* pada ikan asap dengan asap cair tersebut masih jauh berada di bawah batas maksimal yang ditetapkan oleh European Commission (2003) yaitu 10µg.kg⁻¹.

Kandungan *benzo[a]pyrene* pada asap cair juga sangat rendah, bahkan menurut Guillen *et al.* (2000) penggunaan asap cair memungkinkan untuk menghasilkan produk asap yang tidak mengandung *benzo[a]pyrene* dan senyawa karsinogenik lainnya. Selain itu, asap cair yang digunakan dalam penelitian ini merupakan hasil kondensasi asap yang berasal dari pembuatan arang tempurung kelapa pada suhu di bawah 400 °C. Faktor yang menyebabkan terbentuknya senyawa PAH adalah suhu pengasapan dan *benzo[a]pyrene* tidak terbentuk jika suhu pirolisis dibawah 425°C (Guillen *et al.* 2000; Stolyhwo, Sikorski 2005), sehingga asap cair tempurung kelapa aman digunakan untuk produk pangan. Namun, untuk lebih meyakinkan keamanan pangan asap cair tempurung kelapa, diperlukan uji toksisitas akut untuk

menentukan nilai LD₅₀ dan identifikasi komponen asap cair tempurung kelapa dengan *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* (GC-MS).

Uji Toksisitas Akut Asap cair

Uji toksisitas akut digunakan untuk menentukan dosis letal median (LD₅₀) suatu toksikan. LD₅₀ didefinisikan sebagai dosis tunggal suatu zat yang diharapkan akan membunuh 50% hewan percobaan. Nilai LD₅₀ sangat berguna untuk klasifikasi zat kimia sesuai toksisitas relatifnya. Selain itu, nilai LD₅₀ dapat digunakan untuk perencanaan penelitian toksisitas sub akut dan kronis pada hewan. Penentuan LD₅₀ dilakukan dengan memberikan zat kimia yang sedang diuji sebanyak satu kali dalam jangka waktu 24 jam dan pengamatan dilakukan selama kurang lebih 14 hari (Barlow *et al.* 2002). Sebelum diberi perlakuan, mencit diaklimatisasi selama 7 hari. Hasil pengamatan perubahan bobot badan mencit pada masa aklimatisasi disajikan pada Gambar 1.



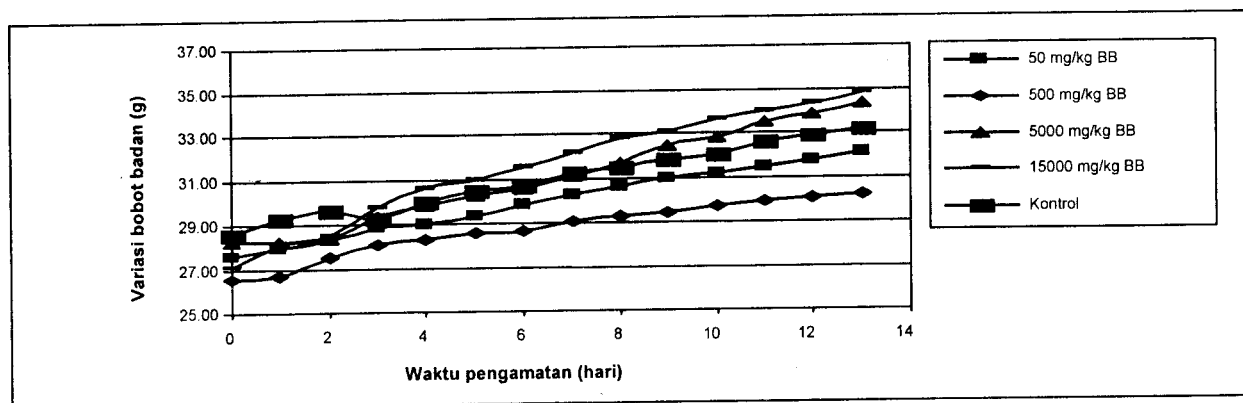
Gambar 1 Perubahan Bobot Badan Mencit Selama Masa Aklimatisasi.

Selama masa aklimatisasi bobot badan mencit terus mengalami peningkatan (Gambar 1). Bobot rata-rata mencit pada hari pertama adalah 23,91g dan setelah 7 hari naik menjadi 27,65g. Selama masa aklimatisasi, mencit sering mengalami stress ketika ditimbang yang ditandai dengan gerakan-gerakan yang cukup agresif ketika dipegang, namun gejala tersebut hanya berlangsung sebentar dan kondisinya mulai normal ketika mencit dikembalikan ke kandang. Setelah 7 hari masa aklimatisasi, bobot badan mencit dan kondisi kesehatannya telah memenuhi syarat untuk dipergunakan pada uji toksisitas akut.

Setelah masa aklimatisasi, mencit dibagi menjadi 5 kelompok untuk 5 seri dosis yang diberikan. Masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor mencit. Berdasarkan Peraturan Pemerintah RI No. 74 tahun 2001, dosis yang digunakan pada uji toksisitas akut adalah kontrol, 50mg.kg⁻¹ bobot badan, 500mg.kg⁻¹ bobot badan, 5.000mg.kg⁻¹ bobot badan, dan 15.000mg.kg⁻¹ bobot badan. Perlakuan diberikan

dengan cara mencekok mencit dengan asap cair sesuai dosis sebanyak 1 ml, kemudian dilakukan pengamatan terhadap perubahan bobot badan dan kematian mencit untuk tiap dosisnya. Hasil pengamatan perubahan bobot badan mencit

(pengamatan 14 hari) dari asap cair tempurung kelapa lebih besar dari 15.000 mg.kg⁻¹ bobot badan mencit. Hal ini sesuai dengan Peraturan Pemerintah RI No. 74 Tahun 2001 yang menetapkan bahwa suatu zat/senyawa/bahan kimia



Gambar 2 Perubahan Bobot Badan Mencit Selama Pengamatan

disajikan pada Gambar 2.

Gambar 2 menunjukkan bobot badan mencit pada masing-masing dosis mengalami peningkatan selama pengamatan. Hasil pengamatan tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi asap cair tidak menyebabkan penurunan bobot badan mencit, terbukti pada dosis yang paling besar yaitu 15.000mg.kg⁻¹, bobot badan mencit terus mengalami peningkatan.

Jumlah dan persentase kematian mencit selama pengamatan disajikan pada Tabel 2. Pemberian asap cair dengan dosis 5.000mg.kg⁻¹ bobot badan tidak menimbulkan kematian pada mencit, dan pada dosis maksimal 15.000 mg.kg⁻¹ bobot badan hanya satu mencit yang mati, atau dengan kata lain persentase kematian hanya 33%. Kematian satu ekor mencit tersebut bukan disebabkan contoh asap cair yang diberikan. Satu hari setelah dicekok mencit tersebut mati tanpa disertai tanda-tanda klinis keracunan. Menurut Anderson *et al.* (2005), hewan percobaan yang bereaksi terhadap toksisitas suatu senyawa tertentu, akan disertai tanda-tanda seperti bulu berdiri, diare, hipersekresi hidung, serta pembengkakan atau pembentukan warna merah pada badan hewan. Berdasarkan persentase kematian tersebut, maka dapat diartikan bahwa nilai LD₅₀ akut

Tabel 2 Jumlah dan persentase kematian mencit

Dosis	Jumlah kematian	Mortalitas (%)
Kontrol	0	0
50mg.kg ⁻¹ bobot badan	0	0
500mg.kg ⁻¹ bobot badan	0	0
5.000mg.kg ⁻¹ bobot badan	0	0
15.000mg.kg ⁻¹ bobot badan	1	33

dengan nilai LD₅₀ lebih besar dari 15.000mg.kg⁻¹ bobot badan hewan uji, maka dikategorikan sebagai bahan yang tidak toksik, sehingga asap cair tempurung kelapa aman digunakan untuk produk pangan.

Berdasarkan nilai LD₅₀ asap cair tempurung kelapa yaitu lebih besar dari 15.000 mg.kg⁻¹ bobot badan mencit, dapat diketahui tingkat keamanan asap cair tersebut bila digunakan untuk manusia. WHO menganjurkan faktor pengaman sebesar 100 dan telah diterima secara luas (Lu 2006). Faktor pengaman ini diperlukan mengingat adanya perbedaan kepekaan antara hewan dan manusia, dan juga mengingat fakta bahwa jumlah hewan yang diuji sangat kecil dibandingkan dengan besarnya jumlah manusia yang mungkin terpajan.

Berdasarkan faktor pengaman tersebut, batas aman dari asap cair tempurung kelapa adalah 150mg.kg⁻¹ bobot badan manusia. Bila berat badan manusia 50kg, maka batas aman yang dapat dikonsumsi adalah 7.500mg. Namun perlu diingat, bahwa batas aman tersebut bukan untuk dikonsumsi setiap hari dan dalam jangka waktu yang lama. Penetapan ADI (*Acceptable Daily Intake*) yaitu dosis aman suatu bahan yang dapat dikonsumsi setiap hari seumur hidup dan aman bagi kesehatan, dilakukan berdasarkan NOEL (*No Observed Effect Level*) dari penelitian toksisitas sub akut bersama dengan data toksisitas akut, data metabolisme, dan data penelitian jangka panjang (Lu 2006). Meskipun demikian, uji toksisitas akut untuk menentukan nilai LD₅₀ merupakan bagian penting dari data dasar toksisitas yang menyeluruh dan prosedurnya telah diatur oleh *Organization of Economic Cooperation and Development (OECD) Guidelines for Testing of Chemicals* (Barlow *et al.* 2002). Bila toksisitas akut suatu bahan rendah, dalam arti dosis yang paling besar saja menyebabkan hanya sedikit kematian (tidak memenuhi kematian 50%), dapat dianggap bahwa semua toksisitas akut yang berbahaya dapat disingkirkan dan LD₅₀ tidak perlu ditentukan. Pandangan ini diterima oleh Joint

FAO/WHO *Expert Committee on Food Additives* (Lu 2006). Berdasarkan hasil penelitian, mortalitas hewan uji pada dosis asap cair yang paling besar hanya 33%, maka asap cair tempurung kelapa aman digunakan untuk produk pangan.

Identifikasi Komponen Asap cair

Salah satu komponen kimia yang bersifat karsinogenik dan dapat terbentuk selama proses pirolisis tempurung kelapa adalah *benzo[a]pyrene*. Oleh karena itu, perlu dilakukan identifikasi komponen asap cair menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* (GC-MS). Komponen volatil asap cair dalam *dichloromethane* dapat dilihat pada Tabel 3. Jumlah masing-masing komponen disajikan secara semi-kuantitatif dengan menentukan *peak area* (%).

Tabel 3 menunjukkan terdapat 12 komponen yang teridentifikasi dari asap cair, terutama berasal dari degradasi termal karbohidrat kayu (Guillen, Ibargoitia 1998; Guillen, Manzanos 2002), seperti keton, karbonil, asam, furan dan turunan pyran. Selain itu, asap cair ini juga mengandung sekitar 28 komponen yang berasal dari degradasi termal lignin, seperti fenol, guaiacol dan turunannya, syringol dan turunannya, serta alkyl aryl ether.

Kelompok pertama terdapat 8 komponen yang termasuk dalam keton dengan *peak area* sebesar 6,53%. Komponen-komponen seperti *2-Methyl-2-cyclopentenone* dan *2-Hydroxy-1-methylcyclopenten-3-one* mempunyai proporsi yang paling besar dalam kelompok ini yaitu masing-masing sebesar 1,76% dan 1,56%. *2-Ethylcycloheptanone* proporsinya paling rendah yaitu sebesar 0,10%. Kelompok kedua adalah furan dan turunan pyran dengan *peak area* sebesar 3,02%. Kelompok ini hanya mempunyai 2 komponen yaitu *2-Acetylfuran* dan *5-Methyl Furfural* dengan proporsi masing-masing sebesar 1,77% dan 1,25%. Kelompok ketiga adalah karbonil dan asam dengan *peak area* sebesar 2,98%. Dari keseluruhan kelompok yang teridentifikasi, kelompok ini mempunyai *peak area* yang paling rendah dan mempunyai 4 komponen, yaitu *1-Cyclohexene-1-carboxaldehyde* sebesar 0,13%, *2,3-dihydroxy-benzoic acid* sebesar 0,25%, *3-methoxybenzoic acid methyl ester* sebesar 0,37%, dan *4-Hydroxybenzoic acid methyl ester* sebesar 2,23%. Komponen-komponen tersebut dihasilkan oleh degradasi termal selulosa dan hemiselulosa dan juga terdapat pada asap cair komersial (Guillen *et al.* 1995; Guillen, Ibargoitia 1998; Guillen *et al.* 2001) Selain itu, komponen-komponen tersebut juga terdapat pada asap kayu *Vitis vinifera L.* dengan konsentrasi yang cukup besar (Guillen, Ibargoitia 1996 a,b) dan terdapat juga pada asap komersial yang digunakan sebagai pemberi aroma (Guillen, Manzanos 1996a,b; Guillen, Manzanos 1997).

Fenol dan turunannya merupakan kelompok yang terdiri dari 6 komponen dengan *peak area* yang cukup besar, yaitu 24,11%. *Phenol* merupakan komponen dengan proporsi paling tinggi yaitu sebesar 14,87%. Selain itu,

komponen-komponen seperti *2-Methylphenol* dan *3-Methylphenol* juga mempunyai proporsi cukup tinggi, yaitu masing-masing sebesar 3,63 % dan 3,92%. Komponen-komponen dalam kelompok fenol ini juga terdeteksi pada asap cair komersial (Guillen *et al.* 1995; Guillen, Ibargoitia 1998) dan pada asap cair dari kayu *Salvia lavandulifolia* (Guillen, Manzanos 1999).

Guaiacol dan turunannya merupakan kelompok utama dengan 9 komponen penyusun asap cair yang mempunyai *peak area* paling tinggi, yaitu sebesar 36,58%. Dari keseluruhan komponen yang teridentifikasi dari asap cair ini, *2-Methoxyphenol* (*guaiacol*) mempunyai proporsi paling tinggi, yaitu sebesar 21,71%. Siringol dan turunannya juga terdapat dalam jumlah cukup besar, yaitu 18,26%. Dalam kelompok ini terdapat 6 komponen dimana *3,4-Dimethoxyphenol* mempunyai proporsi tertinggi, yaitu 15,88%. Selain itu, juga terdapat *2,6-Dimethoxyphenol* sebesar 0,33%, *4-(2-Propenyl)-2,6-dimethoxyphenol* sebesar 0,33%, *Syringyl aldehyde* sebesar 0,70%, *Acetosyringone* sebesar 0,41%, dan *3,5-Dimethoxy-4-hydroxyphenylacetic acid* sebesar 0,61%. Terdapatnya *2,6-Dimethoxyphenol* dan *3,4-Dimethoxyphenol* mengindikasikan penggunaan kayu keras sebagai bahan baku untuk membuat asap cair. Kayu keras termasuk tempurung kelapa banyak digunakan untuk memproduksi asap cair karena komposisi kayu keras yang terdiri dari lignin, selulosa, dan metoksil memberikan sifat organoleptik yang baik (Soldera *et al.* 2008).

Selain itu kelompok alkil aril eter juga terdapat dalam asap cair dengan *peak area* sebesar 8,5%. Dalam kelompok ini terdapat 5 komponen, yaitu *1,2-dimethoxybenzene*, *2,3-Dimethoxytoluene*, *1,2,3-Trimethoxybenzene*, *1,2,4-Trimethoxybenzene*, dan *5-Methyl-1,2,3-trimethoxybenzene*. *1,2,4-Trimethoxybenzene* dan *5-Methyl-1,2,3-trimethoxybenzene* terdapat dalam proporsi yang cukup tinggi yaitu masing-masing sebesar 3,84% dan 3,90%. Kelompok alkil aril eter ini juga teridentifikasi dalam asap cair komersial (Guillen, Manzanos 1997) dan asap cair kayu oak (*Quercus sp.*) (Guillen, Manzanos 2002).

Hasil analisa juga menunjukkan bahwa senyawa-senyawa *Polycyclic Aromatic Hydrocarbon* (PAH) termasuk benzo[a]piren tidak ditemukan pada asap cair ini. Tidak ditemukannya senyawa-senyawa PAH pada asap cair ini disebabkan karena senyawa tersebut belum terbentuk pada proses pembakaran tempurung kelapa yang dilakukan pada suhu di bawah 400°C. Faktor yang sangat berpengaruh terhadap pembentukan senyawa PAH adalah suhu pengasapan (Guillen *et al.* 1995; Guillen *et al.* 2000). Penggunaan suhu pirolisis antara 300–400°C dapat menurunkan kandungan PAH dalam asap cair hingga 10× lipat (Stolyhwo, Sikorski 2005)

Secara umum, asap cair tempurung kelapa dapat digunakan sebagai bahan pengawet alternatif yang aman untuk dikonsumsi. Penggunaan asap cair tempurung kelapa dapat mengurangi terbentuknya senyawa-senyawa PAH yang bersifat karsinogenik pada proses pengasapan panas.

Tabel 3 Komponen-Komponen yang Teridentifikasi dari Fraksi Terlarut Asap Cair dalam *Dichloromethane*

No.	Waktu retensi	Komponen	Peak area (%)
		Keton	6,53
1	3.184	<i>2-Methyl-2-cyclopentenone</i>	1,76
2	3.771	<i>3-Methyl-2-cyclopentenone</i>	0,96
3	4.525	<i>2-Hydroxy-1-methylcyclopenten-3-one</i>	1,56
4	4.728	<i>2,3-Dimethylcyclopenten-1-one</i>	0,75
5	5.358	<i>4,5-Dimethyl-4-hexen-3-one</i>	0,69
6	5.793	<i>3-Ethyl-2-hydroxy-2-cyclopenten-1-one</i>	0,57
7	5.984	<i>Cyclohexanone</i>	0,14
8	6.909	<i>2-Ethylcycloheptanone</i>	0,10
		Furan dan turunan pyran	3,02
9	3.213	<i>2-Acetylfuran</i>	1,77
10	3.702	<i>5 Methyl Furfural</i>	1,25
		Karbonil dan asam	2,98
11	7.532	<i>1-Cyclohexene-1-carboxaldehyde</i>	0,13
12	7.994	<i>2,3-dihydroxy-benzoic acid</i>	0,25
13	8.549	<i>3-methoxybenzoic acid methyl ester</i>	0,37
14	9.180	<i>4-Hydroxy-benzoic acid methyl ester</i>	2,23
		Fenol dan turunannya	24,11
15	3.917	<i>Phenol</i>	14,87
16	4.979	<i>2-Methylphenol</i>	3,63
17	5.260	<i>3-Methylphenol</i>	3,92
18	5.716	<i>2,6-Dimethylphenol</i>	0,16
19	6.260	<i>2,4-Dimethylphenol</i>	0,81
20	6.492	<i>3-Ethylphenol</i>	0,72
		Guaiakol dan turunannya	36,58
21	5.458	<i>2-Methoxyphenol (guaiacol)</i>	21,71
22	6.617	<i>3-Methylguaiacol</i>	0,36
23	6.699	<i>p-Methylguaiacol</i>	0,35
24	6.776	<i>2-methoxy-4-methylphenol</i>	7,89
25	7.717	<i>4-Ethyl-2-methoxyphenol</i>	3,97
26	8.442	<i>Eugenol</i>	0,10
27	8.684	<i>Vanillin</i>	0,62
28	9.415	<i>Acetovanillone</i>	1,12
29	9.682	<i>Methyl vanillate</i>	0,46
		Siringol dan turunannya	18,26
30	7.313	<i>2,6-Dimethoxyphenol</i>	0,33
31	8.285	<i>3,4-Dimethoxyphenol</i>	15,88
32	10.410	<i>4-(2-Propenyl)-2,6-dimethoxyphenol</i>	0,33
33	10.840	<i>Syringyl aldehyde</i>	0,70
34	11.570	<i>Acetosyringone</i>	0,41
35	11.876	<i>3,5-Dimethoxy-4-hydroxyphenylacetic acid</i>	0,61
		Alkil aril eter	8,5
36	6.077	<i>1,2-Dimethoxybenzene</i>	0,32
37	7.197	<i>2,3-Dimethoxytoluene</i>	0,14
38	7.915	<i>1,2,3-Trimethoxybenzene</i>	0,30
39	9.112	<i>1,2,4-Trimethoxybenzene</i>	3,84
40	9.767	<i>5-Methyl-1,2,3-trimethoxybenzene</i>	3,90

Selain itu, kombinasi antara asap cair tempurung kelapa dengan teknik pengawetan lain seperti pemanasan, pengemasan, dan penyimpanan, dapat memperpanjang umur simpan serta memberikan karakteristik sensori berupa aroma, warna, serta rasa yang khas pada produk pangan.

KESIMPULAN

Hasil uji keamanan asap cair tempurung kelapa menyatakan bahwa nilai LD₅₀ asap cair tempurung kelapa lebih besar dari 15.000mg.kg⁻¹ bobot badan mencit, sehingga dikategorikan sebagai bahan yang tidak toksik dan aman digunakan untuk produk pangan. Hasil tersebut didukung oleh identifikasi komponen asap cair tempurung kelapa dengan GC-MS yang menunjukkan bahwa terdapat 7 komponen yang dominan, yaitu 2-Methoxyphenol(guaiacol), 3,4-Dimethoxyphenol, Phenol, 2-methoxy-4-methylphenol, 4-Ethyl-2-methoxy-phenol, 3-Methylphenol, dan 5-Methyl-1,2,3-trimethoxy-benzene, dan tidak ditemukan senyawa Policyclic Aromatic Hydrokarbon (PAH) yang bersifat karsinogenik termasuk benzo[a]pyren. Secara umum, asap cair tempurung kelapa dapat digunakan sebagai bahan pengawet alternatif yang aman untuk dikonsumsi, serta memberikan karakteristik sensori berupa aroma, warna, serta rasa yang khas pada produk pangan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kerjasama Kemitraan Penelitian Pertanian dengan Perguruan Tinggi (KKP3T) yang dibiayai oleh Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Departemen Pertanian yang telah mendanai kegiatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson JW, Nicolosi RJ, Borzelleca JF. 2005. Glucosamine Effects In Humans: A Review of Effects on Glucose Metabolism, Side Effects, Safety Considerations And Efficacy. *Food and Chem Toxicol* 43:187–201.
- Barlow *et al.* 2002. Hazard Identification by Methods of Animal-Based Toxicology. *Food Chem Toxicol* 40: 145–191.
- Braun AG, Busby WF, Jackman J, Halpin PA, Thilly WG. 1987. Commercial Hickory- Smoke Flavouring Is A Human Lymphoblast Mutagen But Does Not Induce Lung Adenomas In Newborn Mice. *Food Chem Toxicol* 25: 331–335.
- Cardinal M, Cornet J, Serot T, Baron R. 2006. Effects of The Smoking Process on Odour Characteristics of Smoked Herring (*Clupea Harengus*) and Relationships With Phenolic Compound Contend. *Food Chem* 96:137–146.
- [EC] European Committe 2065. 2003. Regulation on Smoke Flavourings Used Or Intended For Use In or on Foods. *Off J Eur Communities* 309: 1–8.
- Faith NG, Yousef AE, Luchansky JB. 1992. Inhibition of *Listeria Monocytogenes* by Liquid Smoke And Isoeugenol, A Phenolic Component Found In Smoke. *J Food Safety* 12: 303–314.
- Febriani RA. 2006. Pengaruh Konsentrasi Larutan Asap Cair Terhadap Mutu Belut (*Monopterus albus*) Asap yang Disimpan Pada Suhu Kamar [Skripsi]. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Guillen MD, Ibargoitia ML. 1996a. Relationships Between The Maximum Temperature Reached In The Smoke Generation Processes From *Vitis vinifera* L Shoot Sawdust And Composition Of The Aqueous Smoke Flavoring Preparations Obtained. *J Agric Food Chem* 44: 1302–1307.
- Guillen MD, Ibargoitia ML. 1996b. Volatile Components of Aqueous Liquid Smokes From *Vitis vinifera* L Shoots And *Fagus sylvatica* L wood. *J Sci Food Agric* 72: 104–110.
- Guillen MD, Ibargoitia ML. 1998. New Components With Potential Antioxidant and Organoleptic Properties, Detected For The First Time In Liquid Smoke Flavoring Preparations. *J Agric Food Chem* 46: 1276–1285.
- Guillen MD, Ibargoitia ML. 1999. Influence of The Moisture Content on The Composition of The Liquid Smoke Produced In The Pyrolysis Process Of *Fagus sylvatica* L. wood. *J Agric Food Chem* 47:4126–4136.
- Guillen MD, Manzanos MJ. 1996a. Study of The Components of a Solid Smoke Flavouring Preparation. *Food Chem* 55: 251–257.
- Guillen MD, Manzanos MJ. 1996b. Study of The Components of an Aqueous Smoke Flavouring By Means of Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Gas Chromatography With Mass Spectrometry and Flame Ionization Detectors. *Adv Food Sci* 18: 121–127.
- Guillen MD, Manzanos MJ. 1997. Characterization of The Components Of A Salty Smoke Flavouring Preparation. *Food Chem* 58: 97–102.
- Guillen MD, Manzanos MJ. 1999. Extractable Components of The Aerial Parts of *Salvia Lavandulifolia* and The

- Composition of The Liquid Smoke Flavoring Obtained From Them. *J Agric Food Chem* 47: 3016–3027.
- Guillen MD, Manzanos MJ. 2002. Study of The Volatile Composition of an Aqueous Oak Smoke Preparation. *Food Chem* 79: 283–292.
- Guillen MD, Manzanos MJ, Ibargoitia ML. 2001. Carbohydrate and Nitrogenated Compounds In Liquid Smoke Flavorings. *J Agric Food Chem* 49:2395–2403.
- Guillen MD, Manzanos MJ, Zabala L. 1995. Study of Commercial Liquid Smoke Flavoring By Means of Gas Chromatography-Mass Spectrometry and Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *J Agric Food Chem* 43:463–468.
- Guillen MD, Sopelana P, Partearroyo MA. 2000. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons In Liquid Smoke Flavorings Obtained From Different Types of Wood, Effect of Storage In Polyethylene Flasks On Their Concentrations. *J Agric Food Chem* 48: 5083–6087.
- Gumanti FM. 2006. Kajian Sistem Produksi Destilat Asap Tempurung Kelapa dan Pemanfaatannya Sebagai Alternatif Bahan Pengawet Mie Basah [skripsi]. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Hadiwiyoto S, Darmadji P, Purwasari SR. 2000. Perbandingan Pengasapan Panas dan Penggunaan Asap Cair Pada Pengolahan Ikan; Tinjauan Kandungan Benzopirene, Fenol, Dan Sifat Organoleptik Ikan Asap. *Agritech* 20:14–19.
- Haras A. 2004. Pengaruh Konsentrasi Asap Cair Dan Lama Perendaman Terhadap Mutu Fillet Cakalang (*Katsuwonus Pelamis* L) Asap Yang Disimpan Pada Suhu Kamar [skripsi]. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Hattula T, Elfving K, Mroueh UM, Luoma T. 2001. Use Of Liquid Smoke Flavoring As An Alternative To Traditional Flue Gas Smoking Of Rainbow Trout Fillets (*Oncorhynchus mykiss*). *Lebensm Wiss Technol* 34:521–525.
- Karseno, Darmadji P, Rahayu K. 2002. Daya Hambat Asap Cair Kayu Karet Terhadap Bakteri Pengkontaminan Lateks Dan Ribbed Smoke Sheet. *Agritech* 21(1):10–15.
- Kazerouni N, Sinha R, Hsu CH, Greenberg A, Rothman N. 2001. Analysis of 200 Food Items For Benzo-[A]Pyrene And Estimation Of Its Intake In An Epidemiologic Study. *Food and Chem Toxicol* 39: 423–436.
- Kjallstrand J, Petersson G. 2001. Phenolic Antioxidants In Alder Smoke During Industrial Meat Curing. *Food Chem* 74:85–89.
- Kostyra E, Pikielna NB. 2007. The Effect of Fat Levels and Guar Gum Addition In Mayonnaise-Type Emulsions on The Sensory Perception Of Smokecuring Flavour And Salty Taste. *Food Qual and Pref* 18:872–879.
- Lu FC. 2006. *Toksikologi Dasar*. Jakarta: Universitas Indonesia-Press.
- Mahendradatta M, Tawali AB. 2006. Kombinasi Bumbu dan Asap Cair dalam Meminimalkan Pembentukan Histamin Pada Ikan Kembung Perempuan (Rastrelliger Neglectus) Asap. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan* 17:143–148.
- Martinez O, Salmer J, Guillen MD, Casas C. 2004. Texture Profile Analysis of Meat Products Treated With Commercial Liquid Smoke Flavours. *Food Control* 15:457–461.
- Martinez O, Salmero J, Guillen MD, Casas C. 2007. Textural And Physicochemical Changes In Salmon (*Salmo salar*) Treated With Commercial Liquid Smoke Flavours. *Food Chem* 100:498–503.
- Milly PJ, Toledo RT, Ramakrishnan S. 2005. Determination of Minimum Inhibitory Concentrations of Liquid Smoke Fractions. *J Food Sci* 70:12–17.
- Munoz RE, Boyle EAE, Marsden JL. 1998. Liquid Smoke Effects on Escherichia Coli O157:H7. And Its Antioxidant Properties In Beef Products. *J Food Sci* 63:150–153.
- [OECD] Organization of Economic Cooperation and Development 402. 2001. Guideline For The Testing of Chemicals, Acute Oral Toxicity Acute Toxic Class Method. <http://www.oecd.org/oecd/pages/home/displaygeneral/0,3380,EN/document524-nodirectorate-no-24-6775-8,FF.html> [15 Juli 2007].
- Pszczola DE. 1995. Tour Highlights Production and Uses of Smoke House Base Flavors. *J Food Tech* 49: 70–74.
- Putnam KP, Bombick DW, Avalos JT, Doolittle DJ. 1999. Comparison of The Cytotoxic and Mutagenic Potential of Liquid Smoke Food Flavours, Cigarette Smoke Condensate and Wood Smoke Condensate. *Food Chem Toxicol* 37:1113–1118.
- Simko P. 2002. Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons In Smoked Meat Products And Smoke Flavouring Food Additives. *J Chromatogr* 770: 3–18.
- Siskos I, Zotos A, Melidou S, Tsikritzi R. 2007. The Effect of Liquid Smoking of Fillets Of Trout (*Salmo*

gairdnerii) on Sensory, Microbiological And Chemical Changes During Chilled Storage. *Food Chem* 101:458–464.

Soldera S, Sebastianutto N, Bortolomeazzi R. 2008. Composition of Phenolic Compounds And Antioxidant Activity Of Commercial Aqueous Smoke Flavorings. *J Agric Food Chem* 56: 2727–2734

Stolyhwo A, Sikorski ZE. 2005. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons In Smoked Fish a Critical Review. *Food Chem* 91: 303–311.

Stolyhwo A, Sikorski ZE. 2005. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons In Smoked Fish a Critical Review. *Food Chem* 91: 303–311.

Storelli MM, Stuffer RG, Marcotrigiano GO (2003). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Polychlorinated Biphenyls, Chlorinated Pesticides (DDTs), Hexachlorocyclohexane, And Hexachlorobenzene Residues In Smoked Seafood. *J Food Prot* 66(6): 1095–1099.