مجله علمی شیلات ایران ۳۱(٦) ۹۵-۱۰۵ (DOI): 10.22092/ISFJ.2023.128888

مقاله علمی – پژوهشی:

اثر محافظتی عصاره اتانولی پوست انار (*Punica granatum*) بر ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در معرض کادمیوم

سیده شهربانو جعفری[۱]، راهله رهباریان*[۲]، محمد نقره‌ئی[۲]

* a_rahbarian@pnu.ac.ir

۱- گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی و میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوری‌های زیستی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

۲- گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

تاریخ دریافت: خرداد ۱۴۰۱ تاریخ پذیرش: بهمن ۱۴۰۱

چکیده

کادمیوم (Cd) فلز سنگینی است که به دلیل نیمه عمر بالا در خاک و حلالیت زیاد در آب یک آلوده‌کننده قوی به‌حساب می‌آید. این فلز سمی و ماده اصلی آلوده‌کننده اکوسیستم‌های آبی است. در تحقیق حاضر، اثر افزودن عصاره پوست انار در جیره غذایی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بر مهار آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از مسمومیت تجربی با کادمیوم ارزیابی شده است. در این مطالعه، ماهیان با وزن متوسط ۷۰ گرم به طور تصادفی در پنج گروه بیست عددی تقسیم شدند. گروه اول، بدون دریافت هیچ افزودنی به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. دومین گروه ماهیان تنها در معرض کلرید کادمیوم (۵ میلی‌گرم در لیتر) قرار داده شدند. گروه‌های سوم، چهارم و پنجم علاوه بر کادمیوم (۵ میلی‌گرم در لیتر)، به‌ترتیب غلظت‌های ۱، ۲ و ۴ درصد عصاره پوست انار را نیز دریافت کردند. پس از اتمام دوره آزمایش که ۱۴۰ روز بود، خونگیری از نمونه‌ها انجام شد. سپس فاکتورهای بیوشیمیایی موجود در سرم خون هر یک از نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. ارزیابی فعالیت شاخص‌های آنزیمی نشان داد که مصرف کادمیوم باعث کاهش معنی‌دار میزان فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) و ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (TAC) می‌شود درحالی‌که میزان مالون دی آلدهید (MDA) به طور معنی‌دار افزایش یافت ($p<۰/۰۵$). همچنین نتایج نشان داد افزودن غلظت‌های افزایشی (۱، ۲ و ۴ درصد) عصاره پوست انار، باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های SOD، GPX و میزان TAC شد درحالی‌که میزان MDA در مقایسه با گروه تحت تیمار با کادمیوم کاهش یافت ($p <۰/۰۵$). بنابراین، به‌نظر می‌رسد که استفاده از عصاره پوست انار به عنوان یک مکمل غذایی، برای کاهش اثرات مسمومیت تجربی ناشی از کادمیوم در ماهی کپور معمولی می‌تواند مفید باشد، هر چند به مطالعات بیشتری در این زمینه نیاز است.

لغات کلیدی: آسیب اکسیداتیو، عصاره انار، کادمیوم، ماهی کپور معمولی

*نویسنده مسئول

[Downloaded from isfj.ir on 2026-02-22]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.6.8.0]

مقدمه

یکی از مشکلات بزرگی که در سال‌های اخیر به‌وجود آمده است، آلوده شدن آبهای شیرین با تعداد زیادی از آلاینده‌هاست. فلزات سنگین در آبها به‌خودی خود به میزان کم وجود دارند، اما به دلیل فعالیت‌های صنعتی، کشاورزی و معدنی مقدار آنها افزایش یافته است (Aksu *et al.*, 2017). فلزات سنگین از آلاینده‌های مهم محیطی به‌شمار می‌آیند که تعدادی از آنها در محیط پایدار هستند و مشکلات زیادی را برای اکوسیستم و جانوران آبزی ایجاد می‌کنند (Bhatkar, 2011; Adams *et al.*, 2012). کادمیوم فلز سنگینی است که به دلیل نیمه عمر بالا در خاک و حلالیت زیاد در آب یک آلوده کننده قوی اکوسیستم‌ها محسوب می‌شود (کاظمی‌زاده و همکاران، ۱۳۹۴). این فلز سنگین سمی بوده و ماده اصلی آلوده‌کننده اکوسیستم‌های آبی است. کادمیوم می‌تواند از طریق مصرف مستقیم آب یا مواد غذایی و از طریق مسیرهای غیر غذایی مانند جذب از طریق لایه‌های سطحی بدن وارد زنجیره غذایی آبزیان شود (Briffa *et al.*, 2020). این فلز ساختار اسیدهای نوکلئیک، فعالیت‌های خاص آنزیمی، جذب کاتکولامین‌ها[1] و سطوح انتقال دهنده‌های عصبی مختلف را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Zwolak, 2020). وجود این فلزات در اکوسیستم‌های آبی در درازمدت منجر به کاهش توان تولید مثل آبزیان و مشکلات تنفسی و عصبی می‌شود. علاوه‌براین، قابلیت تجمع این فلزات در بدن ماهیان و انتقال آنها به مصرف‌کنندگان از جمله انسان می‌تواند عوارض جبران‌ناپذیری را ایجاد کند (واجارگاه، ۱۴۰۰). کمبود آنتی اکسیدان‌ها درجیره غذایی ماهیان، باعث ازدیاد تنش اکسیداتیو می‌گردد (Bacou *et al.*, 2021). مطالعات پیشین نشان داده است که استفاده از ترکیبات فنلی می‌تواند به میزان قابل‌توجهی اثرات سوء فلزات سنگین از جمله تنش اکسیداتیو را کاهش دهد (Saleh, 2015; Zeghad *et al.*, 2019). انار (*Punica granatum*) دارای کربوهیدرات، پروتئین و ویتامین C بوده و عصاره بخش‌های مختلف آن سرشار از ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی است که در خنثی سازی رادیکال‌های آزاد نقش دارد (Uddin *et al.*, 2021). پوست انار غنی از آنتی اکسیدان‌هایی مانند اسید آسکوربیک و پلی فنل‌هایی از نوع تانن‌های قابل هیدرولیز است (Zarban *et al.*, 2007). مطالعات نشان داده است که استفاده از پوست انار در جیره غذایی آبزیان تا حد زیادی از اثرات زیانبار سموم فلزی بر سلامت آبزیان می‌کاهد و نیز سلامت عمومی جامعه را با افزایش کیفیت محصولات دریایی تامین می‌کند (جعفری و همکاران، ۱۴۰۱) . Moneim و همکاران (۲۰۰۱۴) اثرات محافظتی آب انار در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از تتراکلرید کربن و آسیب به بیضه را در موش‌های صحرایی بالغ ویستار نشان دادند (Moneim *et al.*, 2014). Aksu و همکاران (۲۰۱۷) اثر محافظتی آب انار را در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از مسمومیت با سرب را بررسی کردند. نتایج هیستوپاتولوژیک نشان داد، آسیب سلولی ناشی از سرب در بافت‌های کلیه، کبد و قلب با درمان با آب انار تا حدی جلوگیری شده است (Aksu *et al.*, 2017). آب انار شفاف شده به عنوان یک آنتی‌اکسیدان و به عنوان یک مهارکننده α-گلوکوزیداز فعال‌تر از آب انار طبیعی است و وضعیت اکسیداتیو با تجویز آب انار شفاف شده بهبود می‌یابد (Morittu *et al.*, 2020). جعفری و همکاران (۱۴۰۱) در مطالعه قبلی خود نیز اثر محافظتی افزایش عصاره پوست انار در جیره غذایی ماهی کپور معمولی در مهار آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از مسمومیت تجربی با کادمیوم را نشان داده‌اند (جعفری و همکاران، ۱۴۰۱). در مطالعه حاضر، تأثیر اجزاء آنتی اکسیدانی در سطوح مختلف عصاره پوست انار (۱، ۲ و ۴ درصد وزن جیره غذایی) بر برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون ماهی کپور که به طور تجربی با کادمیوم مسموم شده بودند، مورد بررسی قرار گرفته است. کاهش غلظت و تجمع کادمیوم در بافت‌های خوراکی ماهیان می‌تواند از جنبه بهداشت و سلامت آبزیان و نیز از جهت تأثیر آن در کیفیت و امنیت غذایی انسان حائز اهمیت باشد. با توجه به ضرورت افزایش بهره‌برداری از صنعت ماهیگیری و ماهیان به عنوان یک منبع نسبتاً سالم و با ارزش پروتئینی

[1] Catecholamines

[Downloaded from isfj.ir on 2026-02-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.6.8.0]

و نیز با توجه به انتشار گسترده کادمیوم و امکان ورود آن به زنجیره غذایی انسان از طریق ماهیان، در این تحقیق اثرات محافظتی عصاره پوست انار در جهت کاهش تجمع کادمیوم و نیز تغییرات اکسیداتیو ناشی از کادمیوم در گوشت ماهی کپور معمولی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش کار

در این مطالعه، کیت‌های تجاری شرکت راندوکس به منظور اندازه‌گیری شاخص‌های آنزیمی، کلرید کادمیوم از شرکت مرک آلمان، انار از شهرستان کاشمر و هپارین سدیم از شرکت داروسازی کاسپین تهیه شد. همچنین، ۱۰۰ عدد ماهی کپور معمولی سالم با وزن متوسط ۷۰ گرم و تعداد ۵ عدد اکواریوم به ظرفیت ۱۲۰ لیتر نیز خریداری گردید.

روش انجام پژوهش

تعداد ۱۰۰ قطعه ماهی کپور معمولی و سالم با وزن متوسط ۷۰ گرم از مزرعه پرورش آبزیان گرمابی پاسارگاد مشهد خریداری شدند. ماهیان با نمک ۳ درصد ضدعفونی و به اکواریوم انتقال یافتند و به مدت ۱۰ روز جهت کاهش تنش و سازگاری با محیط جدید نگهداری شدند. سپس ماهیان به ۵ گروه ۲۰ تایی در آکواریوم‌های ۱۲۰ لیتری تقسیم شدند. گروه اول هیچ نوع درمانی را دریافت نکردند و به‌عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شدند. گروه دوم در معرض کلرید کادمیوم به میزان ۵ میلی گرم در لیتر قرار داده شد. غلظت تحت کشنده کلرید کادمیوم طبق پژوهش خندان و همکاران (۱۳۹۶) انتخاب شد. گروه سوم در معرض کلرید کادمیوم (۵ میلی گرم در لیتر) و عصاره الکلی پوست انار (۰/۳۵ گرم پودر خشک عصاره پوست انار) معادل ۱ درصد وزن جیره غذایی قرار داده شدند. گروه چهارم در معرض کلریدکادمیوم (۵ میلی گرم در لیتر) و عصاره پوست انار (۰/۷ گرم پودر خشک عصاره پوست انار) معادل ۲ درصد وزن جیره غذایی قرار داده شدند. گروه پنجم در معرض کلریدکادمیوم (۵ میلی گرم در لیتر) و عصاره پوست انار (۱/۴ گرم پودر خشک عصاره پوست انار) معادل ۴ درصد وزن جیره غذایی قرار داده شدند. ماهیان به مدت ۳۰ روز و سه بار در طول روز غذادهی شدند. مقدار غذا ۲/۵ درصد وزن بدن محاسبه شد (۳۵ گرم غذا روزانه برای ۲۰ عدد ماهی). دمای آب ۱±۲۰ درجه سانتی‌گراد و میزان pH= ۷/۵ و اکسیژن آب ۶/۵-۶ میلی‌گرم در لیتر در تمام گروه‌ها ثابت بود. طول دوره آزمایش ۳۰ روز بود و در طی این زمان ماهی‌ها از لحاظ سلامت ظاهری نیز مورد بررسی قرار گرفتند (جعفری و همکاران، ۱۴۰۱).

تهیه عصاره

جهت عصاره‌گیری ابتدا ۳ گیلوگرم انار کاشمر خریداری شد، سپس پوست آنها جدا شد و در دمای اتاق (حدود ۲۳ درجه سانتی گراد) خشک گردید. پوست انار خشک شده به وسیله دستگاه خرد و با اتانول ۹۶ درصد (با نسبت ۱ گرم پودر خشک پوست انار به ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد) مخلوط شد. بعد از ۴۸ ساعت محلول حاصل با پمپ خلاء صاف شد. عصاره به‌دست آمده به دستگاه روتاری با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و ۱۸۰ دور بر دقیقه منتقل شد تا تغلیظ شود. در نهایت عصاره حاصل در انکوباتور با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا کاملاً خشک شود.

نمونه‌گیری

در پایان دوره ۱۴۰ روزه آزمایش پنج ماهی از هر گروه به صورت تصادفی انتخاب شدند. پس از بیهوشی با پودر گل میخک به میزان ۰/۵ گرم در لیتر، خون گیری از ماهیان با سرنگ هپارینه انجام شد. پلاسمای خون نمونه‌ها نیز به‌وسیله سانتریفیوژ در دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه جداسازی شد و درون میکروتیوب‌های مناسب منتقل و در فریز نگهداری شد (جعفری و همکاران، ۱۴۰۱).

اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی کبدی

مالون‌دی‌آلدهید (MDA) بعنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی، بر مبنای واکنش با تیوباربیتوریک‌اسید (TBA) اندازه‌گیری شد. برای این منظور ۱۰۰ ماکرولیتر از پلاسمای خون هر یک از نمونه‌ها، به طور جداگانه به لوله

[Downloaded from isfj.ir on 2026-02-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.6.8.0]

آزمایش محتوی ۲ میلی‌لیتر از محلول دارای تری کلرواستیک اسید ۱۵ درصد، اسیدکلریدریک ۰/۲۵ نرمال و تیوباربیتوریک اسید ۰/۳۷ درصد (به نسبت حجمی ۱:۱:۱) اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه در بن‌ماری در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد قرار داده شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با ۱۱۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شدند و جذب نوری مایع رویی در طول موج ۵۳۲ نانومتر سنجش شد. ضریب جذب مولی ۱۵۶۰۰۰ مول بر متر مربع برای محاسبه غلظت MDA استفاده گردید (Saleh, 2015). برای اندازه گیری TAC از روش بنزی و استرین استفاده شد (Zarban *et al*., 2007). بدین‌ترتیب که به معرف فرپ، ۱ میلی‌لیتر محلول کلرید فریک (۲۰ میلی‌مول بر لیتر) اضافه شد. سپس ۵۰ ماکرولیتر از نمونه پلاسما به محلول فوق اضافه شد و بلافاصله تغییرات جذب در طول موج ۵۹۳ نانومتر و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه اندازه‌گیری شد. برای سنجش میزان فعالیت GPx و SOD از کیت‌های RANDOX شرکت توسعه کیمیای سعادت استفاده شد. میزان کادمیوم نیز با روش پلاسمای جفت شده القایی - طیف سنجی نشر اتمی (ICP-AES)اندازه گیری شد (Zarban *et al*., 2007).

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آنالیز آماری با کمک نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. علاوه‌براین، برای تحقق دو شرط اصلی آزمون های پارامتریک تجزیه واریانس (هموژن بودن واریانس و نرمال بودن داده‌ها)، از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه استفاده شد. جهت مقایسه دو به دوی میانگین‌ها نیز از آزمون One way ANOVA استفاده گردید.

نتایج

با توجه به جدول ۱، اثر تیمارهای مختلف شامل کادمیوم و درصدهای مختلف عصاره پوست انار بر تمامی آنزیم‌های مورد بررسی، در سطح ۵ درصد معنی دار بوده که در ادامه اثر هر یک از این تیمارها به صورت مجزا در شکل‌های ۱ الی ۴ نشان داده شده است.

جدول ۱: آنالیز واریانس اثربخشی غلظت‌های مختلف عصاره پوست انار بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، مالون‌دی‌آلدهید (MDA)، ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (TAC)، سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) سرم خون ماهی کپور تحت با تیمار کادمیوم

Table 1: Analysis of variance of the effectiveness of different concentrations of pomegranate peel extract on the activity of antioxidant enzymes, malondialdehyde (MDA), total antioxidant capacity (TAC), superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) of carp blood serum treated with cadmium

گروه‌ها	کادمیوم (واحد بین‌المللی بر میلی‌گرم)	مالون دی‌آلدهید (نانومول بر گرم)	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (نانومول بر گرم)	سوپراکسید دیسموتاز (واحد بین‌المللی بر میلی‌گرم)	گلوتاتیون پراکسیداز (نانومول بر گرم)
شاهد	۰/۰۰۱±۰/۰۰۰۳^{a}	۶/۰۲±۰/۰۵^{d}	۶/۶۲۴±۰/۵۵۵^{a}	۶۰/۹۲۳±۳/۴۷^{a}	۵۵/۶۲۸±۳/۳۳^{a}
کادمیوم	۰/۰۲±۰/۰۰۶^{b}	۶/۹۲۳±۵/۵۳۲^{a}	۶/۱۵۵±۵/۱۷۱^{b}	۵۲/۱۵۵±۳/۸۲^{e}	۴۶/۰۸۴±۲/۴۹^{b}
کادمیوم+۱٪ عصاره	۰/۰۱۲±۰/۰۰۴^{c}	۶/۳۲۱±۰/۴۱۸^{c}	۶/۹۰۳±۰/۲۵۳^{a}	۸۰/۷۷±۳/۹۹^{c}	۸۳/۰۶±۳/۴۷^{c}
کادمیوم+۲٪ عصاره	۰/۰۱۴±۰/۰۰۵^{c}	۶/۷۰۳±۰/۳۱۸۵^{b}	۶/۶۸۶±۰/۳۰۹^{a}	۶۹/۹۲۳±۴/۶۶^{d}	۶۶/۷۱۷±۳/۸۸^{d}
کادمیوم+۴٪ عصاره	۰/۰۱۴±۰/۰۰۵^{c}	۶/۷۴۴±۰/۴۶۶^{b}	۶/۶۲۵±۰/۴۲۸^{a}	۶۷/۹۲۸±۲/۶۸۲^{d}	۶۶/۷۱۵±۳/۸۱۲^{d}

حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد ($p<0/05$) بوده و تعداد نمونه‌ها در هر گروه ۶ عدد است (n=6).

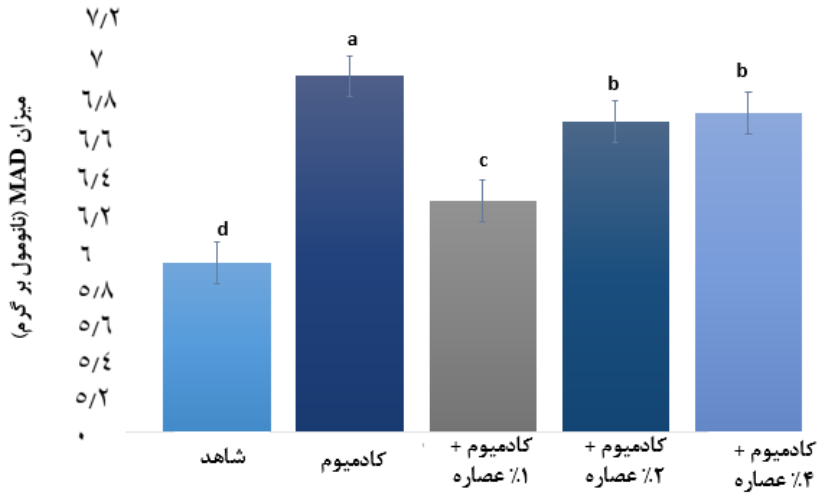
Different letters in each column indicate a significant difference at the 5% level ($p<0.05$) and the number of samples in each group is 6 (n= 6).

[Downloaded from isfj.ir on 2026-02-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.6.8.0]

میزان MDA

با توجه به شکل ۱، تیمار کادمیوم به‌تنهایی باعث افزایش معنی‌دار میزان MDA نسبت به شاهد و سایر گروه‌ها شده است ($p<۰/۰۵$) درحالی‌که با افزودن عصاره پوست انار به همراه غلظت ثابت کادمیوم، میزان MDA به طور معنی‌داری روند کاهشی را در گروه‌های تیمار شده با هر سه سطح ۱، ۲ و ۴ درصد عصاره نشان می‌دهد ($p<۰/۰۵$). در بررسی میزان اثر غلظت‌های مختلف عصاره نیز مشخص گردید که سطح ۱ درصد عصاره پوست انار دارای بالاترین اثربخشی در کاهش میزان MDA در مقایسه با سطوح ۲ و ۴ درصد است.



شکل ۱: میزان مالون دی آلدهید (MDA) (نانومول بر گرم) درگروه‌های تحت تنش کادمیوم و تحت تیمار با عصاره پوست انار(n = ۱۰) بیان داده‌ها به صورت Mean±SD است. میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه، دارای اختلاف معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) هستند.

Figure 1: The amount of malondialdehyde (MDA) (nanomoles per gram) in the groups under cadmium stress and treated with pomegranate peel extract (n = 10) is expressed as Mean ± SD. Means with dissimilar letters have a significant difference ($p<0.05$).

میزان فعالیت TAC

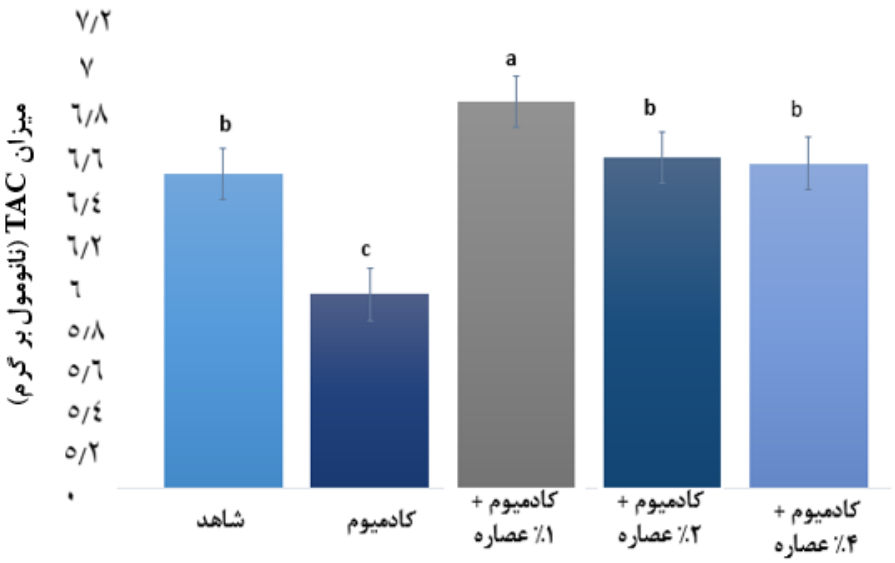
مطابق با شکل ۲، تیمار کادمیوم به‌تنهایی موجب کاهش معنی‌دار TAC نسبت به شاهد و سایر گروه‌ها شده است ($p<۰/۰۵$) درحالی‌که با افزودن عصاره پوست انار به همراه غلظت ثابت کادمیوم، میزان TAC در مقایسه با تیمار کادمیوم به‌تنهایی، روند افزایشی را نشان می‌دهد. همچنین مشخص گردید که تیمار هم‌زمان غلظت ۱ درصد عصاره و کادمیوم بالاترین اثربخشی را در افزایش میزان TAC در مقایسه با دو سطح دیگر عصاره دارد.

میزان فعالیت SOD

مطابق با شکل ۳، وجود کادمیوم در محیط رشد ماهی کپور معمولی موجب کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم SOD در مقایسه با شاهد و سایر گروه‌ها شده است ($p<۰/۰۵$). با افزودن عصاره پوست انار میزان فعالیت آنزیم SOD افزایشی معنی‌داری را در مقایسه با ماهیان تیمار شده با کادمیوم نشان داده است. در بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره بر میزان فعالیت آنزیم نیز مشخص گردید که غلظت ۱ درصد عصاره باعث افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم SOD در مقایسه با غلظت ۲ و ۴ درصد می‌شود. علاوه‌براین، تفاوت معنی‌داری بین غلظت ۲ و ۴ درصد عصاره با گروه شاهد مشاهده نشد.

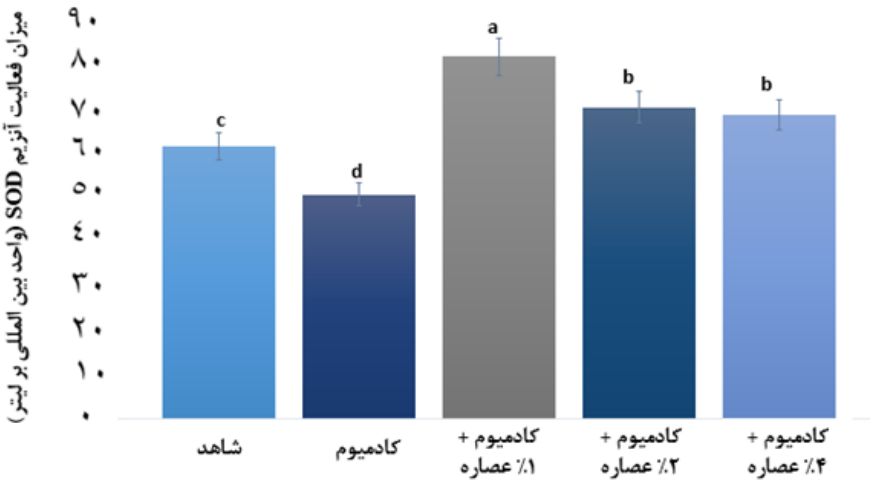
[Downloaded from isfj.ir on 2026-02-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.6.8.0]



شکل ۲: میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (TAC) (نانومول بر گرم) درگروه‌های تحت تنش کادمیوم و تحت تیمار با عصاره پوست انار(n = ۱۰). بیان داده‌ها به صورت Mean±SD است. میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه، دارای اختلاف معنی‌دار (p<۰/۰۵) هستند.

Figure 2: Total antioxidant capacity (TAC) (nanomoles per gram) in groups under cadmium stress and treated with pomegranate peel extract (n = 10). Data is expressed as Mean ± SD. Means with dissimilar letters have a significant difference (p<0.05).



شکل ۳: مقدار آنزیم سوپر اکسید دسموتاز (SOD) (واحد بین المللی بر گرم) درگروه‌های تحت تنش کادمیوم و تحت تیمار با عصاره پوست انار(n=10). بیان داده‌ها به صورت Mean±SD است. میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه، اختلاف معنی‌داری (p<0.05) دارند.

Figure 3: amount of superoxide dismutase (SOD) enzyme (International Unit per gram) in groups under cadmium stress and treated with pomegranate peel extract (n = 10). Data is expressed as Mean ± SD. Means with dissimilar letters have a significant difference (p<0.05).

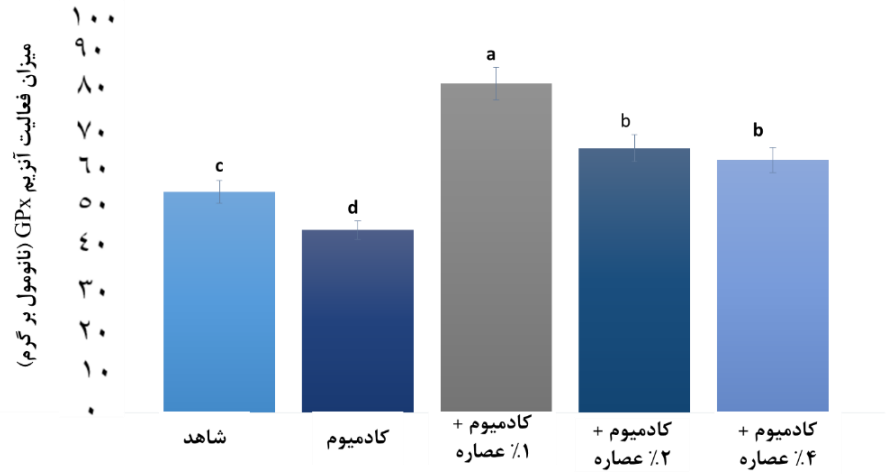
میزان فعالیت GPx

با توجه به شکل ۴، تیمار کادمیوم باعث کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم GPX نسبت به شاهد و سایر گروه‌ها شده است (p<۰/۰۵) درحالی‌که افزودن هر سه سطح عصاره پوست انار میزان فعالیت آنزیم GPX را در مقایسه با شاهد و ماهیان تیمار شده با کادمیوم به تنهایی، به طور

[Downloaded from isfj.ir on 2026-02-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.6.8.0]

معنی‌داری افزایش داد. همچنین مشخص گردید که غلظت ۱ درصد عصاره دارای بالاترین اثر افزایشی بر میزان فعالیت آنزیم GPX در مقایسه با غلظت ۲ و ۴ درصد عصاره است.



شکل ۴: میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) (نانومول بر گرم) درگروه‌های تحت تنش کادمیوم و تحت تیمار با عصاره پوست انار(n=10) بیان داده‌ها به صورت Mean±SD است. میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه، اختلاف معنی‌داری (p<0.05) دارند.

Figure 4: The amount of glutathione peroxidase (GPx) enzyme (nanomoles per gram) in the groups under cadmium stress and treated with pomegranate peel extract (n = 10) is expressed as Mean ± SD. Means with dissimilar letters have a significant difference (p<0.05).

بحث

کادمیوم از فلزات سنگین فراوانی است که به‌خوبی خاصیت سمی، جهش‌زایی و سرطان‌زایی آن شناخته شده است (Liu *et al.*, 2007; Adams *et al.*, 2012; Oladipo *et al.*, 2016). کادمیوم برای تمامی اکوسیستم‌های آبی و خاکی مضر است و ورود آن به زنجیره غذایی صدمات جبران‌ناپذیری را به محیط زیست وارد می‌سازد (Zwolak *et al.*, 2020). عدم تعادل بین توان دفاعی آنتی‌اکسیدان‌ها و افزایش تولید رادیکال‌های آزاد باعث حالتی می‌شود که «استرس اکسیداتیو» نامیده می‌شود (واجارگاه و همکاران، ۱۴۰۰). استرس اکسیداتیو باعث تجزیه پروتئین‌ها، غیر فعال شدن آنزیم‌ها، پراکسیداسیون چربی‌ها و مرگ سلولی می‌شود (Magalhaes *et al.*, 2020). سلول‌ها برای مقابله با گونه‌های اکسیژنی فعال (ROS) از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و نیز مواد آنتی اکسیدانی با وزن مولکولی کم (اسید اسکوربیک، گلوتاتیون احیا، آلفاتوکوفرول و ...) کمک می‌گیرند. تنش اکسیداتیو باعث اختلال در متابولیسم سلولی می‌شود و میزان برخی از آنزیم‌ها و ترکیبات مقابله کننده با این شرایط را تحت تاثیر قرار می‌دهد. بنابراین، این آنزیم‌ها و ترکیبات، شاخص‌های بیوشیمیایی محسوب می‌شوند که جهت ارزیابی سلامت آبزیان به‌کار می‌روند.

ماهی‌ها سرشار از اسیدهای چرب غیراشباع هستند درحالی‌که سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی لازم را ندارد. بنابراین، در مقابل پراکسیداسیون لیپیدی ضعیف هستند و این امر می‌تواند منجر به تغییرات پاتولوژیک، طعم نامطلوب و پایین آمدن قوام و ارزش غذایی گوشت آنها گردد (Uddin *et al.*, 2021). با در نظر گرفتن افزایش آلودگی آبها و اثر آسیب اکسیداتیو آن در بافت ماهی، بهبود حالت آنتی اکسیدانی ماهیان امری ضروری است که تضمینی برای حفظ سلامت و نیز ارتقاء کیفیت گوشت

[Downloaded from isfj.ir on 2026-02-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.6.8.0]

ماهیان محسوب می‌شود. مطالعات پیشین نشان داده است که استفاده از ترکیبات فنلی در جیره غذایی حیوان می‌تواند به میزان قابل‌توجهی اثرات سوء اکسیدان‌ها را کاهش دهد (Zeghad *et al*., 2019; Rahman *et al*., 2021). عصاره بخش‌های مختلف انار، سرشار از ترکیبات فنلی است. عصاره پوست و روغن دانه انار، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی دارد که از آن در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد استفاده می‌شود. به‌علاوه، پوست انار کربوهیدرات، پروتئین و ویتامین C نیز دارد (Das *et al*., 2021). در مطالعه حاضر، اثر افزودن عصاره پوست انار در جیره غذایی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بر مهار آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از مسمومیت تجربی با کادمیوم ارزیابی شده است. ارزیابی فعالیت شاخص‌های آنزیمی نشان داد که مصرف کادمیوم باعث کاهش معنی‌دار میزان فعالیت SOD، GPx و TAC می‌شود درحالی‌که میزان مالون دی‌آلدهید (MDA) به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. همچنین نتایج نشان داد، افزودن غلظت‌های افزایشی (۱، ۲ و ۴ درصد) عصاره پوست انار، باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های SOD، GPx و میزان TAC در گروهای تحت درمان با عصاره می‌گردد درحالی‌که میزان MDA در این گروه‌ها در مقایسه با گروه تحت تیمار با کادمیوم کاهش می‌یابد. نتایج مطالعه حاضر با گزارش‌های قبلی که بیان کرده‌اند، برخی از فلاونوئیدهای گیاهان و میوه‌ها حذف‌کننده‌های قوی رادیکال‌های آزاد هستند، مطابقت دارد. این مطالعات نشان داده‌اند که اثرات فارماکولوژیک فلاونوئیدها به فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها در حذف رادیکال آزاد، کلات کردن یون‌های فلزی و اعمال اثرات هم افزایی با سایر متابولیت‌های آنتی‌اکسیدانی مربوط می‌شود (Moneim *et al*., 2011; Aksu *et al*., 2017). رادیکال‌های NO نقش مهمی در القاء یک پاسخ التهابی دارند و سمیت آنها تنها زمانی چند برابر می‌شود که با رادیکال‌های O_2 واکنش نشان می‌دهد تا پراکسی نیتریت تشکیل دهند که به بیومولکول‌هایی مانند پروتئین‌ها، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک آسیب می‌زند (Zarban *et al*., 2007). آب انار دارای عوامل درمانی بسیار قوی و جدیدی برای از بین بردن NO است. این آب میوه همچنین ممکن است اثرات خود را در تنظیم شرایط پاتولوژیک ناشی از تولید بیش از حد NO و محصول اکسیداسیون آن، پراکسی نیتریت اعمال کند. Zarban و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که آب انار به طور مؤثری پراکسیداسیون لیپیدهای پلاسما را کاهش می‌دهد و این طور بیان کردند که آنتی‌اکسیدان‌های موجود در آب انار باعث مهار واکنش‌های زنجیره‌ی منجر به تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود یا این‌که این آنتی‌اکسیدان‌ها به فلز سنگین (مس) متصل می‌شود و مانع از اتصال این فلز به لیپوپروتئین‌های پلاسما و در نتیجه، تأخیر در پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود (Zarban *et al*., 2007). این مطالعه با مطالعه حاضر (اثر عصاره پوست انار در کاهش MDA) مطابقت دارد. مالون‌دی‌آلدهید محصول ثانویه اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع است و اغلب به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در نظر گرفته می‌شود. Saleh (۲۰۱۵) نیز نشان داد که افزودن پوست انار سبب کاهش تری‌گلیسرید و کاهش میزان فعالیت MDA سرم می‌شود که این یافته‌ها نیز با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. براساس مطالعه حاضر، غلظت MDA پلاسما طی مصرف عصاره پوست انار در ماهیانی که غلظت ۱ درصد عصاره را دریافت کرده‌اند، کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل داشته است. این یافته‌ها با مطالعات Moneim و همکاران (۲۰۱۱) که نشان دادند آب انار پراکسیداسیون لیپید و اکسید نیتریک را در دو بافت کبد و کلیه موش‌های صحرایی کاهش می‌دهد، مطابقت دارد. همچنین آب انار باعث افزایش قابل‌توجه فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT می‌شود (Moneim *et al*., 2011). گزارش شده است که SOD، CAT و گلوتاتیون-S-ترانسفراز (GST) یک سیستم دفاعی مفیدی را در برابر ROS را تشکیل می‌دهند. Moneim و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که مسمومیت با تتراکلریدکربن باعث کاهش قابل‌توجه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود. مهار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پس از تزریق تتراکلریدکربن احتمالاً به دلیل غیرفعال شدن پروتئین به‌وسیله ROS است. مصرف آب انار توانست تا حدی از تخریب فعالیت

[Downloaded from isfj.ir on 2026-02-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.6.8.0]

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی CAT، SOD، GPx و GST، ناشی از تتراکلریدکربن جلوگیری کند. این اثر پیشگیرانه در سطح بافت شناسی نیز نشان داده شد (Moneim *et al.*, 2014). Aksu و همکاران (۲۰۱۷) نیز پتانسیل محافظتی آب انار را در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از سرب در موش را بررسی کردند. نتایج نشان داد آب انار سطح سرب بافت‌های نرم مورد بررسی را کاهش داده است، مقدار روی را در بافت‌هایی که تجمع سرب در آنها بیشتر بود (کلیه و بیضه) افزایش داده، سطح مس، روی و آهن بافت‌های کبد و قلب را بدون ایجاد ضعف در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی این بافت‌ها کاهش داده است. علاوه‌براین، کاهش استرس اکسیداتیو همراه با کاهش پراکسیداسیون لیپیدی، بهبود فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT و سطح گلوتاتیون در تمام بافت‌های مورد بررسی در گروه‌های تحت درمان با آب انار نیز مشاهده شد (Aksu *et al.*, 2017). Zarban و همکاران (۲۰۰۷) نیز نشان دادند که بیشترین میزان ترکیبات فنلی مربوط به آب انار (۰/۵±۰/۲۰۵ میلی‌گرم) است. علاوه‌براین، بیشترین ظرفیت TAC (۱۱/۱۷±۰/۳۰ میلی‌مول در لیتر) و بیشترین توانایی خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد (۹۶٪) در آب انار مشاهده شد (Zarban *et al.*, 2007). مطابق با مطالعات بالا در پژوهش حاضر نیز همان‌طوری‌که بیان شد، اثر محافظتی عصاره پوست انار در کاهش میزان MDA و افزایش میزان، TAC، SOD و GPx در ماهیان تحت تیمار با غلظت ثابت کادمیوم به همراه عصاره پوست انار مشاهده شد. تحقیق حاضر اثر محافظتی عصاره اتانولی پوست انار را در برخی فاکتورهای بیوشیمیایی و کاهش تجمع کادمیوم در سرم خون ماهی کپور در مسمومیت با کادمیوم نشان داده است. علاوه‌براین، مطابق با این تحقیق در مطالعات قبلی نگارندگان (جعفری و همکاران، ۱۴۰۱) نیز اثر محافظتی عصاره پوست انار در مهار آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از مسمومیت تجربی با کادمیوم در ماهی کپور معمولی و اثر تعدیل‌کنندگی عصاره پوست انار بر تغییرات بیوشیمیایی آنزیم‌های کبدی و CAT نشان داده شده است. بنابراین، به‌نظر می‌رسد که وجود پلی‌فنول‌ها و فلاونوئیدها در عصاره پوست انار در بهبود اثرات سمیت ناشی از کادمیوم نقش مهمی داشته است. در مطالعه حاضر، سنجش فعالیت آنزیم SOD و GPx در حضور غلظت‌های ۲ و ۴ درصد عصاره پوست انار به عنوان مکمل جیره غذایی، اختلاف معنی‌دار اندکی با گروه تیمار شده با کادمیوم دارد درحالی‌که در سنجش فعالیت MDA و TAC، اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های تیمار شده با غلظت‌های ۲ و ۴ درصد عصاره پوست انار و گروه تیمار شده با کادمیوم وجود ندارد. این امر نشان می‌دهد که بهترین غلظت موثر خواص آنتی اکسیدانی عصاره پوست انار در مهار مسمومیت تجربی ناشی از کادمیوم در ماهی کپور معمولی می‌تواند غلظت ۱ درصد عصاره به عنوان مکمل جیره غذایی باشد. البته علت اثربخشی کم عصاره در غلظت‌های بالا را می‌توان به دلیل تلخی زیاد عصاره در غلظت‌های بالا دانست، به همین دلیل پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های آینده استفاده از شیرین‌کننده‌ها به همراه جیره غذایی مد نظر قرار گیرد.

منابع

جعفری، س.ش.، رهباریان، ر.، رجبیان، م.، رامشینی، ح. و جعفری، س.ا.، ۱۴۰۱. بررسی اثر محافظتی عصاره پوست انار در مهار آسیب اکسیداتیو ناشی از مسمومیت تجربی با کادمیوم در ماهی کپور معمولی. مجله شیلات، ۷۵(۱): ۹۹- ۱۰۹. DOI: 10.22059/Fisheries.2022.325900.1267.

خندان، ب.ح. و میری، م.، ۱۳۹۶. تغییرات سطوح آنزیم های متابولیک تحت تاثیر فلزهای سنگین روی و کادمیوم در ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*). نشریه علمی بوم شناسی آبزیان، ۶ (۴): ۳۹-۵۱. DOI: 20.1001.1.23222751.1396.6.4.4.2.

کاظمی‌زاده، ر. و فدایی، ن.و.، ۱۳۹۴. تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی، پلی فنل های کل و محتوای کل میکروبی شیر طعم دار عملکردی حاوی عصاره پوست انار و شربت خرما در طی نگهداری سرد. مجله: مجله پژوهشی علوم و فناوری صنایع غذایی ایران، مهر و

[Downloaded from isfj.ir on 2026-02-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.6.8.0]

آبان، ۴ (۴۰): ۴۸۹-۴۹۸ DOI: 10.22067/ifstrj.v12i4.41049

واجارگاه، م.ف.، ۱۳۹۹. مروری بر اثرات فلزات سنگین بر روی جانوران آبزی. مجله ISSN, 54: 2766-2276. DOI: 10.37871/Jbres1324.

Adams, S.V., Passarelli, M.N. and Newcomb, P.A., 2012. Cadmium exposure and cancer mortality in the Third National Health and Nutrition Examination Survey cohort. *Occupational and Environmental Medicine*, 69(2): 153-156.Doi:10.1289/ehp.1306587.

Aksu, D.S., Sağlam, Y.S., Yildirim, S. and Aksu, T., 2017. Effect of pomegranate (*Punica granatum L.*) juice on kidney, liver, heart and testis histopathological changes, and the tissues lipid peroxidation and antioxidant status in lead acetate-treated rats. *Cellular and Molecular Biology*, 63(10): 33-42. Doi:10.14715/cmb/2017.63.10.5.

Bacou, E., Walk, C., Rider, S., Litta, G. and Perez-Calvo, E., 2021. Dietary oxidative distress: a review of nutritional challenges as models for poultry, Swine and Fish. *Antioxidants*, 10(4): 525. Doi:10.3390/antiox10040525.

Bhatkar, N.V., 2011. Chromium, nickel and zinc induced histopathological alterations in the liver of Indian common carp *Labeo rohita* (Ham.). *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 15(2): 2011. Doi:10.4314/jasem.v15i2.68517.

Briffa, J., Sinagra, E. and Blundell, R., 2020. Heavy metal pollution in the environment and their toxicological effects on humans. *Heliyon*, 6(9): e04691. Doi:10.1016/j.heliyon.2020.e04691.

Das, A.K., Nanda, P.K., Chowdhury, N.R., Dandapat, P., Gagaoua, M., Chauhan, P. and Lorenzo, J.M., 2021. Application of pomegranate by-products in muscle foods: Oxidative indices, colour stability, shelf life and health benefits. *Molecules*, 26(2): 467. Doi:10.3390/molecules26020467.

Liu, Y., Zhang, S.P. and Cai, Y.Q., 2007. Cytoprotective effects of selenium on cadmium-induced LLC-PK1 cells apoptosis by activating JNK pathway. *Toxicology in Vitro*, 21(4): 677-684. Doi:10.1016/j.tiv.2007.01.015.

Magalhaes, R., Guerreiro, I., Santos, R.A., Coutinho, F., Couto, A., Serra, C.R. and Oliva-Teles, A., 2020. Oxidative status and intestinal health of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles fed diets with different ARA/EPA/DHA ratios. *Scientific Reports*, 10(1): 1-13. Doi:10.1038/s41598-020-70716-5.

Moneim, A.E.A., Dkhil, M.A. and Al-Quraishy, S., 2011. The protective effect of flaxseed oil on lead acetate-induced renal toxicity in rats. *Journal of Hazardous Materials*, 194: 250-255. Doi:10.1016/j.jhazmat.2011.07.097.

Moneim, A.E.A., Metwally, D.M., El-Khadragy, M.F. and Al-Olayan, E.M., 2014. Protective effects of pomegranate (*Punica granatum*) juice on testes against carbon tetrachloride intoxication in rats. *BMC Complementary and Alternative*

[Downloaded from isfj.ir on 2026-02-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.6.8.0]

Medicine, 14(1): 1-9. Doi:10.1186/1472-6882-14-164.

Morittu, V.M., Mastellone, V., Tundis, R., Loizzo, M.R., Tudisco, R., Figoli, A. and Lombardi, P., 2020. Antioxidant, biochemical, and in-life effects of Punica granatum *L*. natural Juice vs. clarified juice by polyvinylidene fluoride membrane. *Foods*, 9(2): 242. Doi:10.3390/foods9020242.

Oladipo, O.O., Ayo, J.O., Ambali, S.F. and Mohammed, B., 2016. Evaluation of hepatorenal impairments in Wistar rats coexposed to low-dose lead, cadmium and manganese: insights into oxidative stress mechanism. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 26(9): 674-684. Doi:10.1080/15376516.2016.1223242.

Rahman, M.M., Rahaman, M.S., Islam, M.R., Rahman, F., Mithi, F.M., Alqahtani, T. and Uddin, M.S., 2021. Role of phenolic compounds in human disease: current knowledge and future prospects. *Molecules*, 27(1): 233. Doi:10.3390/molecules27010233.

Saleh, H., 2015. Effects of natural antioxidant on the immune response, antioxidant enzymes and hematological broilers chickens. *Iranian Veterinary Journal*, 11(3): 67-79. Doi:10.22055/IVJ.2015.11590.

Uddin, M.M., Zakeel, M.C.M., Zavahir, J.S., Marikar, F.M. and Jahan, I., 2021. Heavy metal accumulation in rice and aquatic plants used as human food: A general review. *Toxics*, 9(12): 360. Doi:10.3390/toxics9120360.

Zarban, A., Malekaneh, M. and. Reza Boghrati, M., 2007. Antioxidant properties of pomegranate juice and its scavenging effect on free radicals. *Journal of Birjand University of Medical Sciences*, 14(3): 9-15. Doi:10.1080/15376716.2007.12232452.

Zeghad, N., Ahmed, E., Belkhiri, A., Vander Heyden, Y. and Demeyer, K., 2019. Antioxidant activity of Vitis vinifera, *Punica granatum*, *Citrus aurantium* and *Opuntia ficus* indica fruits cultivated in Algeria. *Heliyon*, 5(4): e01575. Doi:10.1016/j.heliyon.2019.e01575.

Zwolak, I., 2020. Protective effects of dietary antioxidants against vanadium-induced toxicity: A review. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020: 45-70. Doi:10.1155/2020/1490316.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-02-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.6.8.0]

Protective effect of pomegranate peel (*Punica granatum*) ethanolic extract on common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to cadmium

Jafari S.S.[1]; Rahbarian R.[2*]; Noghreie M.[2]

1- Department of Cell and Molecular Biology and Microbiology, Faculty of Biological Science and Technology, University of Isfahan, Isfahan, Iran
2- Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran

Abstract

Cadmium (Cd) is a heavy metal that is considered a strong pollutant due to its long half-life in soil and high solubility in water. This metal is toxic and the main pollutant of aquatic ecosystems. In the present research, the effect of adding pomegranate peel extract in the diet of common carp (*Cyprinus carpio*) on inhibiting oxidative damages caused by experimental poisoning with cadmium has been evaluated. In this study, fish with an average weight of 70 g were randomly divided into five groups of twenty. The first group, without receiving any feed additive was considered as a control. The second group of fish was only exposed to cadmium chloride (5 mg/l). The third, fourth, and fifth groups, in addition to cadmium (5 mg/L), they also received 1, 2, and 4% concentrations of pomegranate peel extract, respectively. After the end of the test period, which was 140 days, the blood collection was taken from the samples. Then, the biochemical parameters in the blood serum of each sample were measured. The evaluation of the activity of enzyme indicators showed that cadmium consumption significantly decreased the activity of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx) and total antioxidant capacity (TAC), while the level of malondialdehyde (MDA) increased significantly (p<0.05). Also, the results showed that the addition of increasing concentrations (1, 2 and 4%) of pomegranate peel extract significantly increased the activity of SOD, GPx, and TAC enzymes, while the MDA level decreased compared to the group treated with cadmium (p<0.05). Therefore, it seems that the use of pomegranate peel extract as a feed supplement can be useful to mitigate the effects of experimental poisoning caused by cadmium in common carp, although more studies are needed in this field.

Keywords: Oxidative damage, Pomegranate extract, Cadmium, Common carp

*Corresponding author

[Downloaded from isfj.ir on 2026-02-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.6.8.0]