

اثر متقابل سلیوم و چربی جیره بر ترکیب اسید چرب بافت

ماهی قزل آلا رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

جعفر کریمزاده*^(۱)؛ عبدالصمد کرامت امیرکلایی^(۲)؛ عبدالمحمد عابدیان کناری^(۳) و

قاسم کریمزاده^(۴)

Karimzadeh_jafar@yahoo.com

۱- دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، نور صندوق پستی: ۳۵۶-۴۶۴۱۴

۲- دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی مازندران، ساری صندوق پستی: ۵۷۸

۳- اداره کل شیلات استان مازندران، معاونت صید و بنادر ماهیگیری، بابلسر

تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۰

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۸۹

چکیده

هدف اصلی این آزمایش تعیین اثر سلیوم در غذای حاوی سطوح بالای چربی بر ترکیب اسیدهای چرب بافت ماهی قزل آلا رنگین کمان بود. در این تحقیق شش غذای آزمایشی با استفاده از دو سطح چربی (۱۵ و ۳۰ درصد) و سه سطح سلیوم (۰/۱، ۰/۱۵ و ۰/۲ میلی گرم در کیلوگرم غذا) در چهارچوب طرح فاکتوریل (۳×۲) ساخته شد. بچه ماهیان قزل آلا با وزن اولیه ۶/۹۹ گرم و تراکم ۲۵ عدد در ۱۸ تانک ۳۰۰ لیتری در شش گروه سه تایی برای هفت هفته با جیره های ساخته شده تغذیه شدند. نتایج حاصله نشان داد با افزایش چربی جیره میزان اسیدهای چرب غیراشباع و میزان اکسیداسیون بافت افزایش می یابد. افزایش سلیوم جیره باعث فعالیت بیشتر آنزیم گلوکوتایون پراکسیداز شده و در جیره های پرچرب (۳۰ درصد چربی) وجود سلیوم بعنوان عامل بازدارنده اکسیداسیون باعث بهبود ترکیب اسیدهای چرب غیراشباع می شود. از سوی دیگر وجود سلیوم بالا (۰/۲ میلی گرم در کیلوگرم) در جیره می تواند اثرات محدود کننده بر اسیدهای چرب غیراشباع مانند آراشیدونیک اسید و EPA داشته باشد. در نتیجه وجود مکمل سلیوم می تواند بعنوان عامل کنترل کننده اکسیداسیون باعث حفظ کیفیت اسیدهای چرب عضله در غذاهای پرچرب شود و براساس تحقیق انجام شده مقدار ۰/۱۵ میلی گرم سلیوم در کیلوگرم غذا برای سطوح بالای چربی پیشنهاد می شود.

لغات کلیدی: اکسیداسیون، قزل آلا رنگین کمان، تغذیه، گلوکوتایون

مقدمه

گسترش صنعت آبزی‌پروری بدون وجود غذای کنسانتره مناسب که تامین کننده تمامی نیازهای گونه پرورشی بوده و رشد بهینه را موجب شود، ممکن نخواهد بود (New & Wijkstroem, 2002). رشد سریع به همراه کاهش هزینه تولید که از مسائل جذاب برای پرورش‌دهنده‌ها می‌باشد، یکی از موارد مرتبط با تغذیه مناسب است. از اینرو تولید غذاهای پرانرژی از راه افزایش درصد چربی غذا بعنوان یکی از راهکارهای شناخته شده برای رشد سریع ماهیان گوشتخوار در مرحله‌پروری در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Hung *et al.*, 1997). از طرفی دیگر، رویکرد جدید در ساخت غذای قزل‌آلا برای افزایش رشد، بهبود ضریب تبدیل غذایی و ایجاد غذای سازگار با محیط زیست، افزایش چربی از ۱۵ درصد به ۳۰ درصد می‌باشد (Chaiyapechara *et al.*, 2003). همچنین مطالعات انجام شده در رابطه با احتیاج چربی آزاد ماهیان نشان داده است که افزایش چربی بیشتر از ۳۰ درصد اثرات رضایت بخشی دارد (Alsted *et al.*, 1995; Weatherup *et al.*, 1997; Einen & Roem, 1997). بنابراین با توجه به موارد ذکر شده افزایش چربی جیره برای گونه‌های گوشتخوار بعنوان یک راه حل اجتناب‌ناپذیر برای افزایش کارایی جیره می‌باشد. این موضوع علاوه بر بهبود پارامترهای رشد سبب تغییر ترکیب اسیدهای چرب بدن ماهی نیز خواهد شد (Klinger *et al.*, 1996; Robin *et al.*, 2003). از آنجایی که اسیدهای چرب بخصوص اسیدهای چرب غیراشباع با چند باند دوگانه (PUFA) مانند EPA و DHA در کنترل بسیاری از بیماری‌ها از جمله بیماری‌های قلبی، عروقی (Harper & Jacobson, 2001; Daviglus *et al.*, 2002) از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند، نیاز به دقت بیشتری در اندازه‌گیری‌ها می‌باشد. بطوریکه تغذیه ماهی با غذای پر چرب حاوی سطوح بالای اسیدهای چرب با تعداد زیاد باند دوگانه (PUFA) که مستعد اکسیداسیون است می‌تواند منجر به افزایش استرس‌های اکسیداتیوی شود که این امر سبب ایجاد شرایط بیماری‌زا (Sakai *et al.*, 1998) و کاهش کیفیت فیله (Chaiyapechara *et al.*, 2003) خواهد شد. و بر سلامتی مصرف کننده اثر می‌گذارد. از این رو استفاده از آنتی اکسیدانت‌ها برای حفظ عملکرد نرمال بدن و کیفیت لاشه از نظر ترکیب اسیدهای چرب در چنین شرایطی امری اجتناب ناپذیر خواهد بود. یکی از این ترکیبات مهم سلنیوم می‌باشد که

بعنوان یک عنصر ترکیبی در آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GSH-Px)، نقش مهمی در فعال سازی آن ایفا می‌کند (Lin & Shiau, 2005) و موجب تقویت سیستم آنتی اکسیدانتی سلولها می‌گردد. این آنزیم با کاهش پراکسیدهای هیدروژن و لیپید در سلول‌های مختلف موجب افزایش مقاومت در برابر آسیب‌های اکسیداتیوی که موجب تخریب اسیدهای چرب می‌شود، خواهد شد. با توجه به موارد ذکر شده آنچه که بعنوان سوال مطرح است، این می‌باشد که میزان نیاز سلنیوم در سطوح بالای چربی برای بهبود کیفیت لاشه چه میزان می‌باشد؟ به عبارت دیگر آیا با افزایش چربی جیره نیاز سلنیومی ماهی افزایش می‌یابد؟ از اینرو این مطالعه برای ارزیابی اثرات سلنیوم آلی بعنوان افزودنی به جیره ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در سطوح متفاوت چربی بر ترکیب اسید چرب بافت ماهی قزل‌آلای رنگین کمان طراحی شد و اهداف زیر را پیگیری کرد:

- تعیین سطح مناسب سلنیوم در سطوح بالای چربی
- تعیین اثرات متقابل سلنیوم و چربی بر فرآیند اکسیداسیون چربی و پروفیل اسید چرب بافت ماهی قزل‌آلا در محیط پرورشی

مواد و روش کار

تحقیق حاضر در دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس در دی ماه ۱۳۸۸ انجام شد. در مدت ۵۶ روز دوره‌ی پرورش، دمای آب ۱۴ درجه سانتیگراد، pH آب ۷/۹، غلظت اکسیژن ۸ میلی‌گرم در لیتر، غلظت آمونیاک در حد صفر و دوره‌ی نوری ۱۴ ساعت روشنایی و ۹ ساعت تاریکی در نظر گرفته شد. ماهیان با وزن متوسط ۶/۹۹ گرم با تراکم ۲۵ عدد در ۱۸ تانک ۳۰۰ لیتری توزیع شدند. یک هفته برای سازگاری با شرایط جدید و هفت هفته برای طول دوره‌ی آزمایش در نظر گرفته شد. طی این مدت ماهیان با جیره‌های آزمایشی که براساس نیاز غذایی ماهیان سردابی با دو سطح چربی ۱۵ و ۳۰ درصد و سه سطح سلنیوم ساخته شده بودند، بصورت دستی و سه وعده در روز (ساعت‌های ۹، ۱۳ و ۱۷) در سطح اشباع غذایی شدند (جدول ۱).

در پایان دوره فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز براساس روش توصیف شده توسط Paglia و Valentine (۱۹۶۷) اندازه‌گیری شد. در این روش آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز

واکنش اکسیداسیون گلوتاتیون (GSH) را توسط کومن هیدروپراکسید کاتالیز می‌نماید. گلوتاتیون اکسید شده (GSSG) در حضور آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز و NADPH، مجدداً به گلوتاتیون احیاء تبدیل می‌شود که این احیاء با اکسیداسیون همزمان NADPH به NADP⁺ همراه است. در این واکنش کاهش جذب نوری در طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان اکسیداسیون بافت با استفاده از تست تیوباربیتوریک اسید (TBASR) مشخص شد. برای این منظور نمونه مورد نظر

بعد از هموژنه کردن با اسید تیکلراستیک ۱۵ درصد و تیوباربیتوریک اسید مخلوط شده و سپس در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه گرم و بعد خنک می‌شود. با رسوب پروتئین بوسیله‌ی عمل سانتریفیوژ، غلظت ترکیب رویی توسط اسپکتوفتومتر فلورسنس محاسبه خواهد شد (Rueda-Jasson *et al.*, 2004).

جدول ۱: ترکیب جیره ساخته شده برای قزل‌آلای رنگین کمان در تیمارهای مختلف برحسب درصد

سطوح چربی (درصد)					
۰/۱	۰/۱۵	۰/۲	۰/۱	۰/۱۵	۰/۲
مواد اولیه (درصد)					
۱۰	۱۰	۱۰	۴	۴	۴
۱۰	۱۰	۱۰	۱۴	۱۴	۱۴
۸	۸	۸	۰	۰	۰
۱۰	۱۰	۱۰	۲۵	۲۵	۲۵
۴۱/۵	۴۱/۵	۴۱/۵	۴۱/۵	۴۱/۵	۴۱/۵
۱۵	۱۵	۱۵	۱۰	۱۰	۱۰
۱	۱	۱	۱	۱	۱
۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
۲	۲	۲	۲	۲	۲
۱	۱	۱	۱	۱	۱
تجزیه تقریبی (درصد)					
۹۲/۶	۹۲/۵	۹۲/۹	۹۳/۲	۹۳/۸	۹۳/۷
۴۶/۶۵	۴۴/۸۸	۴۴/۸۵	۴۳/۱۸	۴۳/۰۵	۴۳/۲۱
۱۴/۹۵	۱۵/۰۳	۱۵/۱۰	۳۰/۴۸	۳۰/۷۰	۳۰/۶۱
۱۱/۷۴	۱۱/۷۷	۱۱/۷۸	۱۰/۹۳	۱۰/۹۷	۱۰/۹۹
۲۱/۲۶	۲۰/۸۲	۲۱/۱۷	۸/۶۱	۹/۰۸	۸/۸۹
۱۶/۵۳	۱۶/۵۳	۱۶/۵۳	۲۰/۷۴	۲۰/۷۴	۲۰/۷۴
انرژی ناخالص (MJ kg ⁻¹)					

۱- تهیه شده از کارخانه خوراک دام و طیور ساحل. ۲- تهیه شده از کارخانه خوراک دام و طیور مازندران. ۳- پودر و روغن ماهی کیلکا، تهیه شده از شهرک صنعتی میرود، کارخانه اتحاد خزر شمال. ۴- سدیم (Sodium chloride): ۱۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا، آهن (Ferrous sulfate): ۱۳ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا، منگنز (Manganese sulfate): ۳۲ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا، روی (Zinc sulfate): ۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا، مس (Copper sulfate): ۷ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا، ید (Potassium iodine): ۸ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا و سلنیوم (سلنیوم آلی با نام تجاری Sel-plex محصول شرکت وتاک که هر کیلوگرم آن حاوی ۱۰۰۰ میلی‌گرم سلنیوم می‌باشد) ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم غذا. ۵- هر کیلوگرم مکمل ویتامین حاوی ویتامین‌های: A=۱۲۰۰۰۰ IU، D₃=۴۰۰۰۰ IU، E=۳۰۰۰ IU، K₃=۱۲۰۰ میلی‌گرم، C=۵۴۰۰ میلی‌گرم، H₂=۲۰۰ میلی‌گرم، B₁=۲۰۰ میلی‌گرم، B₂=۳۳۶۰ میلی‌گرم، B₅=۹۰۰۰ میلی‌گرم، B₆=۲۴۰۰ میلی‌گرم، B₇=۷۲۰۰ میلی‌گرم، B₉=۶۰۰ میلی‌گرم، B₁₂=۴ میلی‌گرم. * همچنین لازم به ذکر است که جیره پایه بدون افزودن مکمل سلنیوم، دارای ۰/۸ میلی‌گرم سلنیوم به ازای کیلوگرم غذا بود.

برای تعیین ترکیب اسید چرب لاشه در ابتدا با استفاده از روش Folch و همکاران (۱۹۵۷) چربی بافت و نمونه استخراج شد. روش کار به این ترتیب بود که ابتدا یک گرم از نمونه با ترازوی دیجیتالی با دقت ده هزارم وزن شده و سپس نمونه به بالون ژوژه ۲۵ انتقال داده می‌شود. در ادامه ۵ میلی‌لیتر متانول اضافه شده و بعد از تکان شدید ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم به آن اضافه می‌گردد. در بالون ژوژه را بسته و به مدت ۲۴ ساعت به آن اجازه داده می‌شود تا نمونه بخوبی حل شود. با گذشت مدت مذکور ۵ میلی‌لیتر آب مقطر به ترکیب حاصل افزوده می‌شود. سپس محلول به دکانتور ۲۵ انتقال و فرصت داده می‌شود تا سه فاز جدا شکل بگیرد. فاز زیرین توسط صافی در ظرف COD جدا شده و در زیر ازت حلال پراکنی می‌گردد. در مرحله دوم چربی استخراج شده بر طبق روش توضیح داده شده Metcalfe و همکاران (۱۹۶۱) استری گردید. برای این منظور به چربی

استخراج شده ۵ میلی‌لیتر سود متانولی دو درصد اضافه گردید و سپس بعد از بستن محکم در ظرف‌ها، به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد. با گذشت زمان مذکور و خنک شدن در دمای اتاق، به ترکیب حاصل ۲/۱۷۴ میلی‌لیتر تری بور فلوراید (BF₃) اضافه گردید. مجدداً ظرف‌ها به مدت ۳ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد و بعد از سپری شدن زمان مذکور و خنک شدن در دمای اتاق، به محلول یک سی‌سی N-هگزان و بعد از تکان دادن، یک میلی‌لیتر نمک اشباع اضافه گردید. بعد از تشکیل دو فاز مجزا فاز رویی برای تعیین ترکیب اسید چرب به دستگاه گاز کروماتوگراف (GC) معرفی گردید. ترکیب پروفیل اسید چرب نمونه با مقایسه با پیک استاندارد و جهت محاسبه سطح زیر پیک از نرم‌افزار Chromatography software version varian star استفاده شد و نتایج بصورت درصد گزارش گردید (جدول ۲).

جدول ۲: پروفیل اسیدهای چرب (درصد از کل اسید چرب) جیره‌های آزمایشی

سطوح چربی (درصد)						سطوح سلنیوم (میلی‌گرم در کیلوگرم غذا)
۰/۱	۰/۱۵	۰/۲	۰/۱	۰/۱۵	۰/۲	
۲/۳۹	۲/۳۹	۲/۳۶	۲/۷۲	۲/۷۲	۲/۷۱	C14:0
۲۰/۱۰	۲۰/۱۵	۱۹/۷۹	۲۰/۰۴	۲۰/۰۵	۲۰/۰۸	C16:0
ND	۱/۶۲	ND	۱/۲۵	۱/۰۹	۰/۸۹	C18:0
۰/۱۱	۰/۱۰	۰/۱۲	۰/۱۲	۰/۱۵	۰/۱۴	C20:0
۰/۱۰	۰/۱۰	۰/۱۰	۰/۱۲	۰/۱۲	۰/۱۲	C14:1n-5
۰/۰۳	۰/۰۳	۳/۴۵	۴/۲۰	۴/۱۷	۴/۱۷	C16:1n-7
۲۶/۹۱	۲۷/۰۵	۲۶/۵۶	۲۸/۱۰	۲۸/۱۳	۲۸/۲۹	C18:1n7
۴/۴۹	۲/۸۸	۴/۴۵	۳/۱۹	۳/۵۳	۳/۳۴	C18:1n9t
۰/۱۶	۰/۱۵	۰/۱۶	۰/۱۸	۰/۰۶	۰/۰۲	C20:1n9
۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۰۲	C18:2n6t
۷/۲۴	۷/۲۳	۷/۱۷	۳/۹۴	۳/۷۴	۳/۷۵	C18:2n6c
۰/۰۳	۰/۱۴	۰/۱۴	۰/۱۵	۰/۱۶	۰/۱۶	C18:3n6
۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۹	۰/۰۹	۰/۰۹	۰/۰۹	C20:3n6
۰/۰۷	۰/۰۷	۰/۰۷	۰/۵۳	۰/۶۳	۰/۶۳	AA (C20:4n6)
۰/۲۹	۰/۲۸	۰/۳۰	۰/۲۷	۱/۳۶	۰/۲۲	C18:3n3
۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۳۲	ND	ND	ND	C20:3n3
۴/۶۹	۴/۸۷	۴/۹۸	۵/۱۹	۵/۳۳	۵/۲۲	EPA
۱۶/۵۸	۱۶/۳۰	۱۶/۴۳	۱۷/۰۹	۱۷/۱۶	۱۷/۰۴	DHA
۳/۵۳	۳/۳۴	۳/۳۲	۳/۲۹	۳/۲۱	۳/۲۶	DHA/EPA

ND = Not Detectable

نتایج

نتایج نشان می‌دهد که میزان سلیوم و سطح چربی جیره اثرات معنی‌دار بر فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز داشته است ($P < 0.01$) بطوری که افزایش سلیوم و چربی جیره هر دو افزایش فعالیت این آنزیم را به دنبال داشته است. معنی‌دار بودن اثر متقابل بین سلیوم و چربی بر فعالیت این آنزیم نشان می‌دهد که افزایش سلیوم هنگامی که چربی جیره بالا است سبب افزایش فعالیت این آنزیم می‌گردد در صورتی که در جیره‌های با چربی پایین تأثیری در فعالیت آن نخواهد گذاشت. بنابراین کمترین میزان فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز در گروهی از ماهیان که از غذای پرچرب و با سلیوم کم تغذیه شدند، رخ داده است (جدول ۳).

براساس نتایج تست تیوباریتوریک اسید مشخص شده است که افزایش چربی جیره سبب افزایش اکسیداسیون بافت می‌شود و برخلاف آن افزایش سلیوم اثری عکس بر اکسیداسیون می‌گذارد ($P < 0.01$). اثر مثبت متقابل چربی و سلیوم بر اکسیداسیون بافت نشان می‌دهد که وجود سلیوم می‌تواند میزان اکسیداسیون چربی ناشی از مصرف غذای پرچرب را در بافت تعدیل کند. بنابراین بیشترین میزان اکسیداسیون در بافت

گروهی از ماهیانی که از جیره ۳۰ درصد چربی و با سلیوم پایین تغذیه شدند، رخ داده است (جدول ۳).

نتایج استخراج اسیدهای چرب جیره نشان می‌دهد که میزان اسیدهای چرب اصلی از جمله لینولئیک ($C18:2n-6$)، لینولنیک ($C20:3n-6$)، آراشیدونیک اسید ($C20:4n-6$)، ایکوزاپنتانویک اسید (EPA) ($C20:5n-3$) و دوکوزاهگزانویک اسید (DHA) ($C22:6n-3$) تحت تأثیر سطوح چربی جیره بوده‌اند ($P < 0.01$). میزان اسیدهای چرب ضروری آراشیدونیک اسید، EPA و DHA در لاشه ماهیانی که از سطوح بالاتر چربی تغذیه نمودند، بیشتر بود ($P < 0.01$). وجود اثر متقابل بین چربی و سلیوم در میزان EPA و آراشیدونیک اسید لاشه بیانگر این واقعیت است که افزایش سلیوم جیره در غذاهای پرچرب می‌تواند بر میزان این دو اسید چرب ضروری در بدن ماهی قزل آلا اثر منفی بگذارد. از طرفی میزان اسیدهای چرب لاشه به استثنای EPA که در سطوح پایین‌تری نسبت به جیره در عضله حضور داشتند و همچنین DHA که دارای افزایش معنی‌داری نسبت به جیره بودند، به مقدار قابل ملاحظه‌ای از مقدار آن در جیره تبعیت می‌کند (جدول ۴).

جدول ۳: اثرات سلیوم در سطوح متفاوت چربی بر فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز، میزان اکسیداسیون بافت و تجمع سلیوم در بافت کبد و عضله قزل‌آلای رنگین‌کمان (میانگین $\pm$ انحراف معیار)

چربی × سلیوم	سلیوم	چربی	سطوح سلیوم (میلی‌گرم در کیلوگرم غذا)		
			۰/۲	۰/۱۵	۰/۱
$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.01$	گلوکاتایون پراکسیداز (GSH-px) (U/ml whole blood)		
			21.7 ± 1.9^a	20.3 ± 0.6^a	21.9 ± 1.6^a
					چربی ۱۵ درصد
			19.5 ± 0.7^a	19.7 ± 0.5^a	13.3 ± 0.5^b
					چربی ۳۰ درصد
$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.01$	تیوباریتوریک اسید (TBASR) (میلی‌گرم بر کیلوگرم)		
			0.01 ± 0.007^c	0.008 ± 0.003^c	0.01 ± 0.002^c
					چربی ۱۵ درصد
			0.03 ± 0.003^b	0.02 ± 0.005^b	0.07 ± 0.005^a
					چربی ۳۰ درصد

– در هر تست گروه‌هایی که حرف مشابه دارند اختلاف معنی‌داری ندارند ($P < 0.01$).

براساس نتایج، ۲۴/۷۳ درصد اسیدهای چرب شناسایی شده در عضله ماهیان تغذیه شده با جیره ۱۵ درصد چربی، مربوط به اسیدهای چرب غیراشباع با تعداد زیاد باند دوگانه (PUFA) می‌باشد که این مقدار برای ماهیانی که با جیره‌ی حاوی ۳۰ درصد چربی تغذیه شدند، ۳۰/۱۴ درصد بوده است. همچنین مشخص شده است که افزایش چربی به استثنای لینولئیک و دی‌هموگاما لینولئیک اسید سبب افزایش معنی‌دار اسیدهای چرب غیراشباع با تعداد زیاد باند دوگانه (PUFA) خواهد شد (جدول ۴).

جدول ۴: ترکیب اسیدهای چرب (درصد از کل اسید چرب) عضله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورش یافته با جیره‌های مختلف آزمایشی (چربی کل از بافت هموزن شده سه ماهی در سه تکرار)

سطوح چربی سطوح سلنیوم	۱۵ درصد			۳۰ درصد			چربی	سلنیوم	چربی × سلنیوم	
	۰/۱	۰/۱۵	۰/۲	۰/۱	۰/۱۵	۰/۲				
C16:0	۱۱/۱۹	۱۸/۹۹	۲۱/۶۳	۱۸/۲۸	۱۷/۶۵	۱۶/۳۴	Ns	S	S	
C18:0	۳/۱۱	۴/۴۳	۵/۰۰	۴/۱۳	۴/۳۳	۳/۵۹	Ns	Ns	S	
C20:0	۰/۱۷	۰/۶۵	۰/۶۹	۱/۰۲	۱/۰۵	۰/۸۳	S	S	S	
C22:0	ND	۰/۴۲	۰/۴۷	۰/۵۰	۰/۵۵	۰/۴۴				
Σ SFAs	۱۴/۴۷	۲۴/۴۹	۲۷/۷۹	۲۳/۹۳	۲۳/۵۸	۲۱/۲				
C16:1n9	۱/۴۹	۱/۹۵	۲/۶۸	۳/۰۸	۳/۰۶	۲/۹۷	S	Ns	Ns	
C18:1n9	۲۱/۳۱	۲۹/۱۳	۲۷/۴۶	۳۰/۶۸	۳۱/۷۱	۲۶/۹۸	Ns	Ns	Ns	
C20:1n9	۰/۷۳	۰/۸۷	۰/۹۲	۰/۷۴	۰/۷۲	۰/۶۴	Ns	Ns	Ns	
Σ MUFAs	۲۳/۵۳	۳۱/۹۵	۳۱/۰۶	۳۴/۵	۳۵/۴۹	۳۰/۵۹				
C18:2n6	۴/۹۰	۸/۴۱	۹/۰۸	۶/۷۳	۷/۲۶	۵/۳۱	Ns	Ns	Ns	
C20:3n6	۰/۱۸	۰/۲۵	۰/۲۱	۰/۲۴	۰/۲۵	۰/۱۶	Ns	S	Ns	
C20:4n6	۰/۱۳	۰/۴۷	۰/۴۶	۰/۶۵	۰/۶۰	۰/۴۲	S	Ns	S	
Σ n6	۵/۲۱	۹/۱۳	۹/۷۵	۷/۶۲	۸/۱۱	۵/۸۹				
C18:3n3	۰/۷۰	۱/۱۰	۱/۱۹	۱/۲۱	۱/۲۷	۱/۰۷	S	Ns	S	
C20:5n3	۱/۵۹	۲/۱۱	۲/۵۶	۳/۵۹	۳/۲۵	۲/۷۵	S	Ns	S	
C22:6n3	۱۴/۸۶	۱۷/۵۱	۱۷/۴۸	۱۸/۵۳	۲۴/۱۶	۲۴/۹۴	Ns	Ns	S	
Σ n3	۱۷/۱۵	۲۰/۷۲	۲۱/۵۳	۲۳/۳۳	۲۸/۶۸	۲۸/۷۶				
Σ PUFAs	۲۲/۳۶	۲۹/۸۵	۳۰/۹۸	۳۰/۹۵	۳۶/۷۹	۳۴/۶۵				
EPA	۱/۵۹	۲/۱۱	۲/۵۶	۳/۵۹	۳/۲۵	۲/۷۵				
DHA	۱۴/۸۶	۱۷/۵۱	۱۷/۴۸	۱۸/۵۳	۲۴/۱۶	۲۴/۹۴				
DHA/EPA	۹/۳۴	۸/۷۷	۶/۸۲	۵/۱۶	۷/۴۳	۹/۰۶				

ND = Not detectable

NS = non significant

S = significant

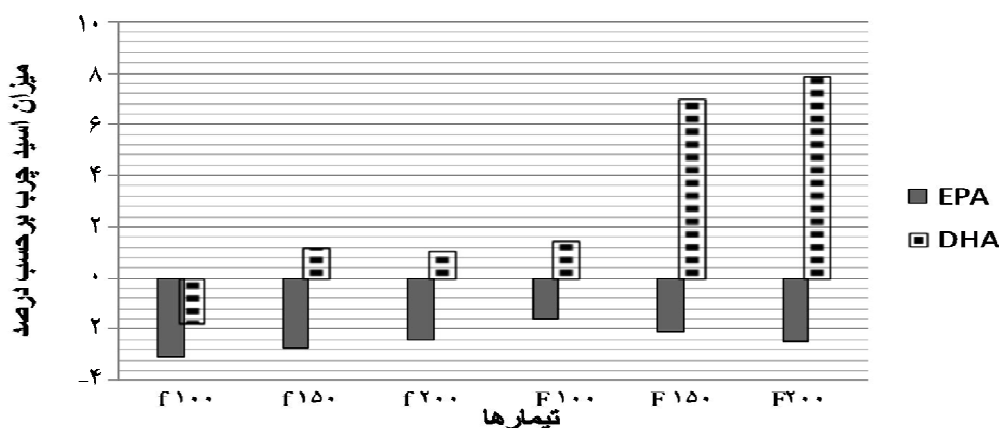
بحث

هدف اصلی این آزمایش تعیین اثر سلنیوم در غذای حاوی سطوح بالای چربی بر ترکیب اسیدهای چرب بافت ماهی قزل آلا رنگین کمان بود. نتایج حاصله از این آزمایش نشان‌دهنده اثر میزان چربی جیره بر پروفیل اسید چرب لاشه است که مشابه نتایج بدست آمده توسط Sargent (۱۹۹۵) می‌باشد. افزایش درصد اسیدهای چرب ضروری آراشیدونیک اسید، EPA و DHA در لاشه ماهیانی که از غذاهای پرچرب تغذیه کرده‌اند، می‌تواند به استفاده بالاتر از روغن ماهی در این جیره‌ها مربوط باشد. روغن ماهی حاوی میزان بالاتری از اسیدهای چرب بلند زنجیره ضروری نسبت به روغن‌های گیاهی می‌باشد (David *et al.*, 2006) و استفاده بیشتر از روغن ماهی در جیره غذایی موجب انتقال بیشتر این اسیدهای چرب ضروری به لاشه و افزایش کیفیت آن می‌شود. از سوی دیگر وجود سلنیوم در جیره‌های پرچرب موجب کاهش غلظت اسیدهای چرب ضروری آراشیدونیک اسید و EPA شد که می‌تواند یک فاکتور منفی در استفاده از سلنیوم بعنوان یک آنتی اکسیدانت باشد. وجود چنین رخدادی ممکن است فرضیه‌های مانند اثر آنتی اکسیدانتی انتخابی گلوکوتایون پراکسیداز یا اثرات سلنیوم در روند ساخته شدن این اسیدهای چرب را مطرح کند. تاکنون گزارشی مبنی بر ارزیابی اثر سلنیوم در سطوح متفاوت چربی بر ترکیب اسید چرب لاشه ماهیان وجود ندارد، از اینرو امکان مقایسه نتایج بدست آمده در این آزمایش با آزمایشات مشابه به راحتی ممکن نخواهد بود. اما براساس نتایج، تست تیوباریتوریک اسید (TBASR) در این گروه از ماهیان، نشان‌دهنده افزایش اکسیداسیون چربی بافت با افزایش چربی جیره می‌باشد ($P < 0.01$). ولی افزایش سلنیوم تنها در غذای پرچرب کاهش معنی‌دار میزان تیوباریتوریک اسید را به دنبال داشته است. رخ دادن چنین فرآیندی بعلت تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانتی بدن در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم گلوکوتایون پراکسیداز می‌باشد (جدول ۳). افزایش فعالیت این آنزیم در نتیجه افزایش سلنیوم جیره مشابه یافته‌های سایر محققین در این زمینه می‌باشد (Bell *et al.*, 1987; Lin & Shiau, 2005; Wang *et al.*, 2007; Zhou *et al.*, 2009). بنابراین ماهیانی که از جیره پرچرب و با سلنیوم کم تغذیه شدند بیشترین میزان اکسیداسیون در بافت آن‌ها رخ داده است و از نظر میزان اسیدهای چرب ضروری (امگا ۳، امگا ۶ و مجموع اسیدهای چرب غیراشباع) در وضعیت نامناسبی نسبت به ماهیانی که از جیره‌هایی با سلنیوم بیشتر تغذیه شدند، قرار

گرفتند (جدول ۴). وجود سلنیوم در غذاهای پرچرب تا سطح ۰/۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا با کاستن از میزان اکسیداسیون می‌تواند اثرات مثبتی بر ترکیب اسیدهای چرب ضروری غذا داشته باشد ولی با افزایش سلنیوم جیره بیشتر از ۰/۱۵ این اثرات مثبت کاهش می‌یابد. کاهش اثر سلنیوم می‌تواند بعلت سمیت این عنصر در غلظت‌های بالا باشد (Hilton *et al.*, 2009) که استفاده گسترده از این عنصر را به عنوان عامل کاهنده اکسیداسیون محدود می‌کند.

نکته‌ی قابل توجه دیگر افزایش معنی‌دار DHA و کاهش محسوس EPA در عضله نسبت به جیره می‌باشد بنحویکه این موضوع موجب تغییر قابل ملاحظه‌ی نسبت DHA به EPA از ۳/۲۱ تا ۳/۵۹ در جیره به ۵/۶۱ تا ۹/۳۴ در لاشه گردید (نمودار ۱). وجود سلنیوم در غذا ممکن است با کاهش اکسیداسیون، روند تبدیل EPA به DHA را سرعت ببخشد. علاوه براین براساس مطالعات انجام شده ماهیان آب شیرین از جمله قزل‌آلا قادر به افزایش طول و ایجاد پیوند دوگانه اسیدهای چرب می‌باشند (Kayama *et al.*, 1963; Owen *et al.*, 1975; Yamada *et al.*, 1980; Henderson & Sargent 1981) که میزان این تولیدسازی و ایجاد پیوند دوگانه وابسته به فاکتورهای تغذیه‌ای مخصوصاً نوع و مقدار چربی جیره می‌باشد (Brenner, 1981; Mandon *et al.*, 1988).

در پایان با توجه به نقش چربی در تامین انرژی، افزایش اسیدهای چرب امگا سه (ω3) و امگا شش (ω6) و کاهش مصرف پروتئین بعنوان منبع تامین انرژی، جیره غذایی آینده حاوی درصد بالاتری از چربی خواهند بود. از آنجایی که این افزایش در چربی با خطر افزایش اکسیداسیون همراه است استفاده از آنتی اکسیدانت‌هایی همچون سلنیوم برای کنترل این خطرات ضروری است. از این رو توجه به نقش و اهمیت سلنیوم در کاستن اکسیداسیون چربی‌ها، افزودن سلنیوم به جیره بر اساس میزان چربی پیشنهاد می‌شود. نتایج این مطالعه نشان داد که وجود سلنیوم در جیره‌های حاوی چربی بالا برای ماهی قزل‌آلا ضروری می‌باشد و می‌تواند اثرات مثبتی بر ترکیب اسید چرب لاشه داشته باشد. با توجه به نتایج حاصله میزان بهینه سلنیوم در جیره به میزان چربی جیره وابسته است و برای جیره پرچرب (حدود ۳۰ درصد چربی) ۰/۱۵ میلی‌گرم در هر کیلوگرم در غذا توصیه می‌شود.



* F=30 درصد چربی، f=15 درصد چربی، 100، 150 و 200 میلی‌گرم به ازای کیلوگرم غذا مکمل Selpelex محصول شرکت وتاک که بترتیب حاوی 0/1، 0/10 و 0/2 میلی‌گرم سلنیوم می‌باشد.

نمودار ۱: درصد تغییر بین گروه‌های اسید چرب بافت بدن نسبت به جیره

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از زحمات آقای مهندس صادق کریم‌زاده و کلیه دوستانی که از لطف و محبت‌شان در انجام این تحقیق بهره‌مند شدیم، از جمله سرکار خانم ماریا نگهدار، جناب آقای کاووسی، جناب آقای کابلی، جناب آقای مهندس نوری، کارشناسان محترم آزمایشگاه‌های دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی آقای کمالی، خانم حق‌دوست، آقای بور، گروه تاسیسات، نگهداری و جناب آقای مهندس اسماعیل نجفی، تقدیر و تشکر می‌نمایم.

منابع

- lipid and vitamin E. *Aquaculture*, 219:715–738.
- Davignul M., Sheeshka J. and Murkin E., 2002. Health benefits from eating fish. *Comments Toxicology*, 8:345–374.
- Einen O. and Roem A.J., 1997. Dietary protein/energy ratios for Atlantic salmon in relation to fish size: Growth, feed utilization and slaughter quality. *Aquaculture Nutrition*, 3:115–126.
- Folch I., Less M. and Stainley G.H., 1957. A simple method for isolation and purification of total lipid from animal tissue. *Journal of Biological Chemistry*, 226:497–509.
- Henderson R.J. and Sargent J.R., 1981. Lipid biosynthesis in rainbow trout, *Salmo gairdneri*, fed diets of differing lipid content. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 69C:31–37.
- Harper C.R. and Jacobson T.A., 2001. The fats of life: The role of omega-3 fatty acids in the prevention of coronary heart disease. *Archives of International Medicine*, 161:2185–2192.
- Hilton J.W., Hodson P.V. and Slinger S.J., 2009. The requirements and toxicity of selenium in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of Nature*, 110:2527–2535.
- Alsted N., Due T., Hjermslet N. and Andreassen A., 1995. Practical experience with high energy diets: FCR, growth and quality. *Journal of Applied Ichthyology*, 11:329–335.
- Bell J.G., Cowey C.B., Adron J.W. and Pirie B.J.S., 1987. Some effects of selenium deficiency on enzyme activities and indices of tissue peroxidation in Atlantic salmon parr (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 65:43–54.
- Brenner R.R., 1981. Nutritional and hormonal factors influencing desaturation of essential fatty acids. *Progress in Lipid Research*, 20:41–47.
- Chaiyapechara S., Castenb M.T., Hardyb R.W. and Dong F.M., 2003. Fish performance, fillet characteristics, and health assessment index of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing adequate and high concentrations of

- Klinger R.C., Blazer V.S. and Echevarria C., 1996.** Effects of dietary lipid on the hematology of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, 147:225-233.
- Kirk R.S. and Sawyer R., 1991.** Pearson's composition and analysis of foods. 9th ed., Longman Scientific and Technical, UK. 640P.
- Kayama M., Tsuchiya Y. and Mead J.F., 1963.** A model experiment of aquatic food chain with special significance in fatty acid conversion. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 29:452-458.
- Lin Y.H. and Shiau S.Y., 2005.** Dietary selenium requirements of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*: *Aquaculture*, 250:356-363.
- Mandon E.C., De Gomez Dumm I.N.T. and Brenner R.R., 1988.** Long-chain fatty acyl-CoA synthetase of rat adrenal microsomes: Effect of ACTH and epinephrine. *Molecular Cell Endocrinology*, 56:123-131.
- Metcalf L.D. and Schmitz A.A., 1961.** The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatography analysis. *Analytical Chemistry*, 33:363-364.
- New M.B. and Wijkstroem U.N., 2002.** Use of fishmeal and fish oil in aquafeeds. Further thoughts on the fishmeal trap. *FAO Fisheries Circular No. 975*, Rome, Italy. 61P.
- Owen J.M., Andron J.W., Middleton C. and Cowey C.B., 1975.** Elongation and desaturation of dietary fatty acids in turbot *Scophthalmus maximus* L., and rainbow trout, *Salmo gairdneri* Rich. *Lipids*, 10:528-531.
- Paglia D.E. and Valentine W.N., 1967.** Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase: *Journal of Laboratory & Clinical Medicine*, 70(1):158-169.
- Robin J.H., Regost C., Arzel J. and Kaushik S.J., 2003.** Fatty acid profile of fish following a change in dietary fatty acid source: Model of fatty acid composition with a dilution hypothesis. *Aquaculture*, 225:283-293.
- Rasmussen R.S., 2001.** Quality of farmed salmonids with emphasis on proximate composition, yield and sensory characteristics. *Aquaculture Research*, 32:767-786.
- Sakai T., Murata H., Endo M., Shimomura T., Yamauchi K., Ito T., Yamaguchi T., Nakajima H. and Fuku-dome M., 1998.** Severe oxidative stress is thought to be a principle cause of jaundice of yellowtail *Seriola quinqueradiata*: *Aquaculture*, 160:205-214.
- Sargent J.R., 1995.** Origins and functions of lipids in fish eggs: nutritional implications. In: (R.R. Bromage and R.R. Roberts), *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*. Blackwell, Oxford. pp.353-372.
- Wang H.L., Zhang J.S. and Yu H.Q., 2007.** Elemental selenium at nano size possesses lower toxicity without compromising the fundamental effect on selenoenzymes: comparison with selenomethionine in mice. *Free Radical Biology & Medicine*, 42:1524-1533.
- Weatherup R.N., McCracken K.J., Foy R., Rice D., McKendry J. and Mairs R.J., 1997.** The effects of dietary fat content on performance and body composition of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 151:173-184.
- Yamada K., Kobayashi K. and Yone Y., 1980.** Conversion of linolenic acid to n-3 highly unsaturated fatty acids in marine fishes and rainbow trout. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 46:1231-1233.
- Zhou X., Wang Y., Gu Q. and Li W., 2009.** Effects of different dietary selenium sources (selenium nanoparticle and selenomethionine) on growth performance, muscle composition and glutathione peroxidase enzyme activity of crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). *Aquaculture*, 291:78-81.

Interactions of dietary selenium and fat on fatty acid compositions of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) tissues

Karimzadeh J.*⁽¹⁾; Keramat A.⁽²⁾; Abedian Kenari A.⁽³⁾ and Karimzadeh G.⁽⁴⁾

Karimzadeh_jafar@yahoo.com

1,3- Faculty of Natural Resources and Marine Science, , Tarbiat Modares University, P.O.Box: 46414-356 Noor, Iran

2- Agricultural Sciences and Natural Resources of Mazandaran University, P.O.Box: 578 Sari, Iran

4- Deputy of Fishing and Fishing Ports, Main Office of Fisheries of Mazandaran Province, Babolar, Iran

Received: February 2011

Accepted: January 2012

Keywords: Oxidation, Rainbow trout, Diet, Glutathione

Abstract

The main objective of this study was to determine the interactive effects of dietary selenium and fat on fatty acid compositions of rainbow trout tissues. We formulated six experimental diets by addition of two fat levels (15 and 30%) and three selenium levels (0.1, 0.15 and 0.2mg/kg) to a basal diet, according to a 3x2 factorial design. Juvenile rainbow trout with initial weights of 6.99g were assigned to 18 tanks with 300L capacity each containing 25 fish, with three replicates for each diet. The result showed that unsaturated fatty acid and tissue oxidation rate increased with an increase in fat content of the diets. Addition of dietary selenium increased enzyme of Glutathione (GSH-Px) activity and at high-fat diet (30% fat), selenium addition improved polyunsaturated fatty acid compositions by depression of oxidation rate. However, inclusion of high dose of selenium (0.2mg/kg) had a negative impact on the Arachidonic and Eicosapentaenoic acids. In conclusion, dietary selenium supplementation can preserve fatty acid quality by controlling fatty acid oxidation at high-fat diet. The results obtained from the current study suggest that rainbow trout at high-fat diet requires 0.15mg/kg selenium to reduce oxidation level.

*Corresponding author