

اثر متقابل سلنیوم و چربی جیره بر ترکیب اسید چرب بافت

ماهی قزل آلای 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: ۴۶۴۱۴-۳۵۶

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: بهمن ۱۳۸۹

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۰

چکیده

هدف اصلی این آزمایش تعیین اثر سلنیوم در غذای حاوی سطوح بالای چربی بر ترکیب اسیدهای چرب بافت ماهی قزل آلای رنگین کمان بود. در این تحقیق شش غذای آزمایشی با استفاده از دو سطح چربی (۱۵ و ۳۰ درصد) و سه سطح سلنیوم (۰/۱۵، ۰/۰ و ۰/۲ میلی گرم در کیلو گرم غذا) در چهار چوب 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 میزان اسیدهای چرب غیراشباع و میزان اکسیداسیون بافت افزایش می یابد. افزایش سلنیوم جیره باعث فعالیت بیشتر آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز شده و در جیره های پر چرب (۳۰ درصد چربی) وجود سلنیوم عنوان عامل بازدارنده اکسیداسیون باعث بهبود ترکیب اسیدهای چرب غیراشباع می شود . از سوی دیگر وجود سلنیوم بالا (۰/۲ میلی گرم در کیلو گرم) در جیره می تواند اثرات محدود کننده بر اسیدهای چرب غیراشباع مانند آراسیدونیک اسید و EPA داشته باشد. در نتیجه وجود مکمل سلنیوم می تواند عنوان عامل کنترل کننده اکسیداسیون باعث حفظ کیفیت اسیدهای چرب عضله در غذاهای پر چرب شود و براساس تحقیق انجام شده مقدار ۰/۱۵ میلی گرم سلنیوم در کیلو گرم غذا برای سطوح بالای چربی پیشنهاد می شود.

لغات کلیدی: اکسیداسیون، قزل آلای رنگین کمان، تغذیه، گلوتاتیون

*نویسنده مسئول

4 مقدمه

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 کااهش 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 عنوان 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 عنوان 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 قزل‌آلای 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 سرداشی با دو سطح چربی ۱۵ و ۳۰ درصد و سه سطح سلنیوم ساخته شده بودند، بصورت دستی و سه‌بعدی در روز (ساعت‌های ۹، ۱۳ و ۱۷) در سطح اشیاع غذاده 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

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 (Wijkstroem, 2002) که از مسائل جذاب برای پرورش دهنده‌ها می‌باشد، یکی از موارد مرتبه با تغذیه مناسب است. از اینرو تولید غذاهای پرانرژی از راه افزایش درصد چربی غذا عنوان یکی از راهکارهای شناخته شده برای رشد سریع ماهیان گوشتخوار در مرحله پرورای در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Hung *et al.*, 1997). از طرفی دیگر، رویکرد جدید در ساخت غذای قزل‌آلای 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 عنوان یک راه حل اجتناب‌ناپذیر برای افزایش کارایی چیره 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) اسیدهای چرب غیراشباع با چند بند 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 بند دوگانه (PUFA) که مستعد اکسیداسیون است می‌تواند منجر به افزایش استرس‌های اکسیدانیوی 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

بعد از هموژنه کردن با اسید تیکلر استیک ۱۵ درصد و تیوباربیتیوریک 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، غلاظت ترکیب رویی توسط اسیکتوفتومتر فلورسنس محاسبه خواهد شد (Rueda-Jasson et al., 2004).

واکنش اکسیداسیون گلوتاتیون (GSH) را توسط کومن هیدروپراکسید کاتالیز می‌نماید. گلوتاتیون اکسید شده (GSSG) در حضور آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز و NADPH، مجددأً به گلوتاتیون احیاء تبدیل می‌شود که این احیاء با اکسیداسیون همزمان NADP+ به NADPH می‌گذرد. این واکنش کاهش جذب نوری در طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

میزان اکسیداسیون بافت با استفاده از تست تیوباربیتومیریک اسید (TBARS) مشخص شد. برای این منظور نمونه مورد نظر

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

سطوح چربی (درصد)						سطوح سلنیوم (میلی گرم در کیلو گرم غذا)
۳۰	۱۵	۰/۲	۰/۱۵	۰/۱	۰/۲	
مواد اولیه (درصد)						
۴	۴	۴	۱۰	۱۰	۱۰	آرد گندم
۱۴	۱۴	۱۴	۱۰	۱۰	۱۰	گلوتون گندم ^۱
۰	۰	۰	۸	۸	۸	ذرت ^۲
۲۵	۲۵	۲۵	۱۰	۱۰	۱۰	روغن ماهی ^۳
۴۱/۵	۴۱/۵	۴۱/۵	۴۱/۵	۴۱/۵	۴۱/۵	پودر ماهی ^۴
۱۰	۱۰	۱۰	۱۵	۱۵	۱۵	پودر سویا ^۱
۱	۱	۱	۱	۱	۱	مکمل معدنی ^۴
۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	مکمل ویتامینی ^۲
۲	۲	۲	۲	۲	۲	بایندر ^۵
۱	۱	۱	۱	۱	۱	منو کلسیم فسفات ^۲
تجزیه تقریبی (درصد)						
۹۳/۷	۹۳/۸	۹۳/۲	۹۲/۹	۹۲/۵	۹۲/۶	ماده خشک
۴۳/۲۱	۴۳/۰۵	۴۳/۱۸	۴۴/۸۵	۴۴/۸۸	۴۴/۶۰	پروتئین
۳۰/۶۱	۳۰/۷۰	۳۰/۴۸	۱۵/۱۰	۱۵/۰۳	۱۴/۹۰	چربی
۱۰/۹۹	۱۰/۹۷	۱۰/۹۳	۱۱/۷۸	۱۱/۷۷	۱۱/۷۴	خاکستر
۸/۸۹	۹/۰۸	۸/۶۱	۲۱/۱۷	۲۰/۸۲	۲۱/۲۶	کربوهیدرات
۲۰/۷۴	۲۰/۷۴	۲۰/۷۴	۱۶/۵۳	۱۶/۵۳	۱۶/۵۳	انرژی ناخالص ($MJ\ kg^{-1}$)

۱- تهیه شده از کارخانه خوارک دام و طیور مازندران. ۲- پودر و روغن ماهی کیلکا، تهیه شده از شهرک صنعتی میرود، کارخانه اتحاد خزر شمال. ۴- سدیم (Sodium chloride): ۱۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم غذا، آهن (Ferrous sulfate): ۱۳ میلی گرم در کیلوگرم غذا، منگنز (Manganese sulfate): ۳۲ میلی گرم در کیلوگرم غذا، روی (Zinc sulfate): ۶۰ میلی گرم در کیلوگرم غذا، مس (Copper sulfate): ۷ میلی گرم در کیلوگرم غذا، ید (Potassium iodin): ۸ میلی گرم در کیلوگرم غذا و سلنیوم (Selenium آبی به نام تجاری Sel-plex محصول شرکت وتاک که هر کیلوگرم آن حاوی ۱۰۰۰ میلی گرم سلنیوم می باشد). ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم غذا. ۵- هر کیلوگرم مکمل ویتامین حاوی ویتامین های: A = A₁ ۱۲۰۰۰ میلی گرم، B₁ = B₁ ۲۰۰ میلی گرم، B₂ = B₂ ۳۳۶۰ میلی گرم، C = C ۴۰۰ میلی گرم، D₃ = D₃ ۱۲۰۰۰ میلی گرم، E = E ۴۰۰۰ میلی گرم، IU ۳۰۰۰ = IU ۴۰۰۰ میلی گرم، K₃ = K₃ ۱۰۰۰ میلی گرم، H₂ = H₂ ۵۴۰۰ میلی گرم، B₅ = B₅ ۹۰۰۰ میلی گرم، B₆ = B₆ ۲۴۰۰ میلی گرم، B₇ = B₇ ۷۲۰۰ میلی گرم، B₉ = B₉ ۶۰۰ میلی گرم، B₁₂ = B₁₂ ۴ میلی گرم.

* همچنین لازم به ذکر است که جیره پایه بدون افزودن مکمل سلنیوم، دارای ۰/۸ میلی‌گرم سلنیوم به ازای کیلو گرم غذا بود.

استخراج شده ۵ میلی لیتر 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 میلی لیتر 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 سی سی N-هگزان و بعد از تکان دادن، یک میلی لیتر 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 نرم افزار Chromatography software version varian star نتایج بصورت درصد گزارش گردید (جدول ۲).

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 می شود. در ادامه ۵ میلی لیتر متانول اضافه شده و بعد از تکان شدید ۱۰ میلی لیتر کلروفورم به آن اضافه می گردد. در بالون ژوژه را بسته و به مدت ۲۴ ساعت به آن اجازه داده می شود تا نمونه بخوبی حل شود. با گذشت مدت مذکور ۵ میلی لیتر آب مقطر به ترکیب حاصل افزوده می شود. سپس محلول به دکانتور ۲۵ انتقال و فرستت داده می شود تا سه فاز جدا شکل بگیرد. فاز زیرین توسط صافی در ظرف COD جدا شده و در زیر ازت حلal پراکنی می گردد. در مرحله دوم چربی استخراج شده بر طبق روش توضیح داده شده Metcalfe و همکاران (۱۹۶۱) استری گردید. برای این منظور به چربی

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

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

ND = Not Detectable

نتایج

گروهی از ماهیانی که از جیره ۳۰ درصد چربی و با سلنیوم 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)، لینولئیک (C20:3n-6)، آراشیدونیک اسید (C20:4n-6)، ایکوزپینتانوئیک اسید (EPA) (C20:5n-3) و دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) (C22:6n-3) تحت تاثیر سطوح چربی جیره بوده‌اند ($P<0.01$). میزان اسیدهای چرب ضروری آراشیدونیک اسید، EPA و DHA در لشه ماهیانی که از سطوح بالاتر چربی تغذیه نمودند، بیشتر بود ($P<0.01$). وجود اثر متقابل بین چربی و سلنیوم در میزان EPA و آراشیدونیک اسید لشه بیانگر این واقعیت است که افزایش سلنیوم 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 لشه 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 سلنیوم در سطوح متفاوت چربی بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز، میزان اکسیداسیون بافت و تجمع سلنیوم در بافت کبد و عضله قزل آلای رنگین کمان (میانگین \pm انحراف معیار)

چربی × سلنیوم	سلنیوم	چربی	سطح سلنیوم (میلی‌گرم در کیلوگرم غذا)		
			۰/۲	۰/۱۵	۰/۱
$P<0.01$	$P<0.01$	$P<0.01$	گلوتاتیون پراکسیداز (U/ml whole blood) (GSH-px)		
			21.7 ± 1.9^a	20.3 ± 0.6^a	21.9 ± 1.6^a
$P<0.01$	$P<0.01$	$P<0.01$	چربی ۱۵ درصد		
			19.5 ± 0.7^a	19.7 ± 0.5^a	12.3 ± 0.5^b
$P<0.01$	$P<0.01$	$P<0.01$	تیوباریتوريک اسید (TBASR) (میلی‌گرم بر کیلوگرم)		
			0.01 ± 0.007^c	0.008 ± 0.0003^c	0.01 ± 0.002^c
$P<0.01$	$P<0.01$	$P<0.01$	چربی ۳۰ درصد		
			0.03 ± 0.003^b	0.02 ± 0.0005^b	0.07 ± 0.005^a

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

مشخص شده است که افزایش چربی به استثنای لینولئیک و دی‌هموگاما لینولنیک اسید سبب افزایش معنی‌دار اسیدهای چرب غیراشبع با تعداد زیاد باند دوگانه (PUFA) خواهد شد (جدول ۴).

براساس نتایج، ۲۴/۷۳ درصد اسیدهای چرب شناسایی شده در عضله ماهیان تغذیه شده با جیره ۱۵ درصد چربی، مربوط به اسیدهای چرب غیراشبع 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

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

سطوح سلنیوم	چربی × سلنیوم	چربی	۳۰ درصد				۱۵ درصد			سطوح چربی سطوح سلنیوم
			۰/۲	۰/۱۵	۰/۱	۰/۲	۰/۱۵	۰/۱	۰/۱	
S	S	Ns	۱۶/۳۴	۱۷/۶۵	۱۸/۲۸	۲۱/۶۳	۱۸/۹۹	۱۱/۱۹	C16:0	
S		Ns	۳/۰۹	۴/۳۳	۴/۱۳	۵/۰۰	۴/۴۳	۳/۱۱	C18:0	
S	S	S	۰/۸۳	۱/۰۵	۱/۰۲	۰/۶۹	۰/۶۵	۰/۱۷	C20:0	
			۰/۴۴	۰/۰۵	۰/۰۰	۰/۴۷	۰/۴۲	ND	C22:0	
			۲۱/۲	۲۳/۵۸	۲۳/۹۳	۲۷/۷۹	۲۴/۴۹	۱۴/۴۷	Σ SFAs	
Ns	Ns	S	۲/۹۷	۳/۰۶	۳/۰۸	۲/۶۸	۱/۹۵	۱/۴۹	C16:1n9	
Ns	Ns	Ns	۲۶/۹۸	۳۱/۷۱	۳۰/۶۸	۲۷/۴۶	۲۹/۱۳	۲۱/۳۱	C18:1n9	
Ns	Ns	Ns	۰/۶۴	۰/۷۲	۰/۷۴	۰/۹۲	۰/۸۷	۰/۷۳	C20:1n9	
			۳۰/۵۹	۳۵/۴۹	۳۴/۵	۳۱/۰۶	۳۱/۹۵	۲۳/۵۳	Σ MUFA	
S	Ns	Ns	۵/۳۱	۷/۲۶	۶/۷۳	۹/۰۸	۸/۴۱	۴/۹۰	C18:2n6	
Ns	S	Ns	۰/۱۶	۰/۲۵	۰/۲۴	۰/۲۱	۰/۲۵	۰/۱۸	C20:3n6	
S	Ns	S	۰/۴۲	۰/۶۰	۰/۶۵	۰/۴۶	۰/۴۷	۰/۱۳	C20:4n6	
			۵/۸۹	۸/۱۱	۷/۶۲	۹/۷۵	۹/۱۳	۵/۲۱	Σ n6	
S	Ns	S	۱/۰۷	۱/۲۷	۱/۲۱	۱/۱۹	۱/۱۰	۰/۷۰	C18:3n3	
S	Ns	S	۲/۷۵	۳/۲۵	۳/۰۹	۲/۵۶	۲/۱۱	۱/۰۹	C20:5n3	
Ns	Ns	S	۲۴/۹۴	۲۴/۱۶	۱۸/۵۳	۱۷/۴۸	۱۷/۰۱	۱۴/۸۶	C22:6n3	
			۲۸/۷۶	۲۸/۶۸	۲۳/۳۳	۲۱/۵۳	۲۰/۷۲	۱۷/۱۵	Σ n3	
			۳۴/۶۵	۳۶/۷۹	۳۰/۹۰	۳۰/۹۸	۲۹/۸۵	۲۲/۳۶	Σ PUFAs	
			۲/۷۵	۳/۲۵	۳/۰۹	۲/۵۶	۲/۱۱	۱/۰۹	EPA	
			۲۴/۹۴	۲۴/۱۶	۱۸/۵۳	۱۷/۴۸	۱۷/۰۱	۱۴/۸۶	DHA	
			۹/۰۶	۷/۴۳	۵/۱۶	۶/۸۲	۸/۷۷	۹/۳۴	DHA/EPA	

ND = Not detectable

NS = non significant

S = significant

بحث

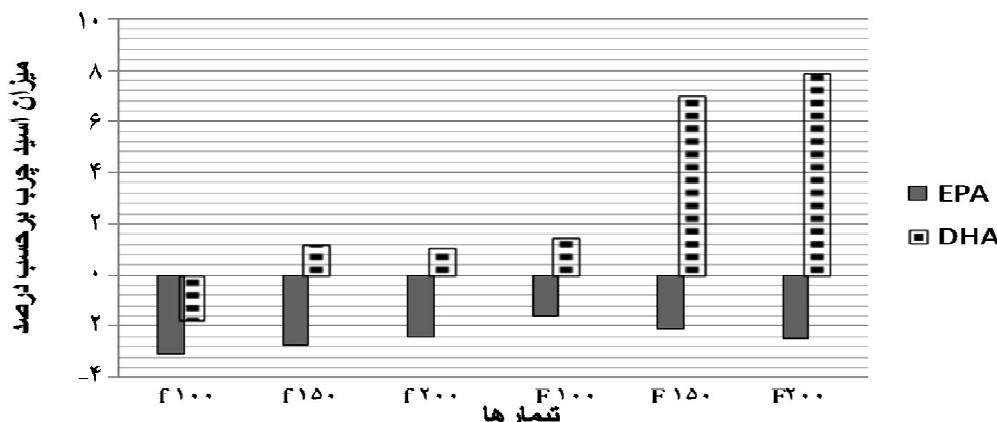
گرفتند (جدول ۴). وجود سلنیوم در غذاهای پرچرب تا سطح ۰/۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا با کاستن از میزان اکسیداسیون می‌تواند اثرات مثبتی بر ترکیب اسیدهای چرب ضروری غذا داشته باشد ولی با افزایش سلنیوم جیره بیشتر از ۰/۱۵ این اثرات مثبت کاهش می‌یابد. کاهش اثر سلنیوم می‌تواند بعلت سمتی این عنصر در غلظت‌های بالا 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 بر این براساس مطالعات انجام شده ماهیان آب شیرین از جمله قزل‌آلآ قادر به افزایش طول و ایجاد پیوند دوگانه اسیدهای چرب می‌باشند (Kayama *et al.*, 1963; Owen *et al.*, 1975; Yamada *et al.*, 1980; Kayama *et al.*, 1981; Henderson & Sargent 1981) که میزان این طویل‌سازی 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 خواهد 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 قزل‌آلآ 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.

هدف اصلی این آزمایش تعیین اثر سلنیوم در غذا حاوی سطوح بالای چربی بر ترکیب اسیدهای چرب بافت ماهی قزل‌آلای 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 DHA درصد اسیدهای چرب ضروری آرشیدونیک 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 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 آرشیدونیک اسید و EPA شد که می‌تواند یک فاکتور منفی در استفاده از سلنیوم عنوان یک آنتی اکسیدانت باشد. وجود چنین رخدادی ممکن است فرضیه‌های مانند اثر آنتی اکسیدانتی انتخابی گلوتاتیون 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 غذا پرچرب کاهش معنی‌دار میزان تیوباریتوریک اسید را به دنبال داشته است. رخدادن چنین فرایندی بعلت تقویت سیستم آنتی اکسیدانتی بدن در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون 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



* = درصد چربی، $F = 15$ درصد چربی، $100 = 100$ میلیگرم به ازای کیلوگرم غذا مکمل Selplex محصول شرکت وناک که پرتبی حاوی $0/1$ و $0/2$ میلیگرم سلنیوم می‌باشد.

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

- lipid and vitamin E. Aquaculture, 219:715–738.
- Daviglus 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.
- 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، نگهبانی و جناب آقای مهندس اسماعیل نجفی، تقدیر و تشکر می‌نماییم.
- ## تشرک و قدردانی
- منابع
- Alsted N., Due T., Hjermitsley N. and Andreasen 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., Hardy 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 Shiao 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.
- Metcalfe 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