شیلات، مجله منابع طبیعی ایران

دوره ۷۱، شماره ۱، بهار ۱۳۹۷

صفحات ۱۰۲-۹۳

بررسی ترکیبات بیوشیمیایی و کلاسه‌های چربی ناپلی و بیومس *Artemia franciscana* غنی‌شده با لسیتین سویا

هادی جمالی[۱]، نصرالله احمدی فرد[۲]، فرزانه نوری[۳]، ناصر آق[۴]، انریک گیسبرت[۵]*

۱. دانشجوی دکتری، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۲. استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۳. استادیار گروه آرتمیا، پژوهشکده آرتمیا و آبزی پروری، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۴. دانشیار گروه آرتمیا، پژوهشکده آرتمیا و آبزی پروری، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۵. موسسه تحقیقات غذا و کشاورزی (IRTA)، تاراگونا، اسپانیا.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱/۲۹ تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۳/۲۱

چکیده

لسیتین به‌عنوان منبع غنی از فسفولیپید برای افزایش کارایی رشد، تولیدمثل و تکامل ماهیان و سخت پوستان محسوب می‌شود. با توجه به عدم تولید کافی فسفولیپیدها در بدن آبزی، این پژوهش برای بررسی تاثیر لسیتین سویا بر میزان غنی‌سازی ناپلی و بیومس *Artemia franciscana* انجام شد. در مرحله اول ناپلی آرتمیا با تراکم ۲۰۰ هزار عدد در لیتر به مدت ۲۴ ساعت با لسیتین سویا (با ۷۴/۴۲ درصد فسفولیپید) غنی‌سازی شد. امولسیون غنی‌سازی (با نسبت ۱۰ میلی لیتر از آب و ۱ گرم پودر لسیتین) به میزان ۳ میلی لیتر در ۲ زمان صفر (ابتدای غنی‌سازی) و ۱۲ ساعت به ظروف غنی‌سازی اضافه شد. برای غنی سازی آرتمیای بالغ (۱۴ روزه و طول ۸/۵۰ میلی‌متر) با تراکم ۳۰۰۰ عدد در لیتر همانند مرحله اول از امولسیون غنی‌سازی در زمان صفر و ۳ ساعت به مقدار ۳ میلی لیتر استفاده شد و بعد از مدت زمان ۶ ساعت آرتمیای غنی شده برداشت شدند. ماده خشک و پروتئین خام در ناپلی و بیومس آرتمیای غنی شده و غنی نشده تفاوت معنی داری را نشان ندادند ($P>0/05$). غنی‌سازی با لسیتین در هر دو مرحله ناپلی و بیومس، سبب افزایش معنی‌دار در میزان چربی خام (در ناپلی از ۱۷/۶۲ به ۲۱/۳۹ درصد و در بیومس از ۱۶/۰۵ به ۱۹/۶۹ درصد) شد. میزان فسفاتیدیل کولین، فسفاتیدیل سرین + فسفاتیدیل اینوزیتول به‌طور معنی‌داری در ناپلی‌های غنی‌شده بیشتر از ناپلی‌های غنی نشده بود ($P<0/05$). در آرتمیای بالغ غنی‌شده میزان فسفاتیدیل اتانول آمین و لیزوفسفاتیدیل کولین با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری داشتند. همچنین غنی‌سازی ناپلی و بیومس آرتمیا باعث افزایش معنی دار در میزان چربی قطبی کل (۱۲/۹۶ و ۴۳/۷۲ درصد) و تری گلیسرید (۵۳/۳۵ و ۹/۷۹ درصد) شد. در مجموع می‌توان بیان کرد که استفاده از ۰/۶ گرم در لیتر لسیتین سویا باعث افزایش گروه‌های فسفولیپیدی و همچنین میزان چربی کل در ناپلی و بیومس آرتمیا می‌شود.

واژگان کلیدی: آرتمیا، فسفولیپید، غنی‌سازی، چربی قطبی، تری گلیسرید.

* نویسنده مسئول: تلفن: ۰۰+۹۸۹۱۲۴۵۴۹۷ ایمیل: n.ahmadifard@urmia.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

۱. مقدمه

در سال های اخیر دستورالعمل‌های غنی‌سازی غذاهای زنده‌ی مورد استفاده در آبزی‌پروری به منظور ارتقاء کیفیت ترکیبات مغذی آن‌ها توسعه پیدا کرده است (Guinot *et al.*, 2013a). در بین انواع مختلف غذاهای زنده، آرتمیا (*Artemia*) به‌دلیل داشتن درصد بالایی از پروتئین و چربی، اسیدهای چرب ضروری و آنزیم‌های آمیلاز و تریپسین، کوتاه بودن سن بلوغ، هم-آوری نسبتاً زیاد و تراکم‌پذیری آن در زمان پرورش، مورد توجه است (Lavens and Sorgeloos, 2000). همچنین تفریخ ساده و آسان ناپلی آرتمیا دستیابی راحت به غذای زنده‌ی را برای آبزی‌پروری ممکن می‌سازد (Lavens and Sorgeloos, 2000). از طرف دیگر ناپلی آرتمیا طی فرآیند غنی‌سازی، می‌تواند به عنوان حامل مواد مختلفی نظیر انواع واکسن‌ها (Campbell *et al.*, 1993)، انواع ترکیبات مغذی (Tonheim *et al.*, 2000, Hafezieh *et al.*, 2010)، عوامل ضد میکروبی (Jamali *et al.*, 2015) مورد استفاده قرار گیرد. این عمل به منظور انتقال این ترکیبات به جانور شکارچی و بهبود کیفیت لارو، افزایش بازماندگی و مقاومت آن در برابر تنش‌های محیطی و بیماری‌های مختلف صورت می‌گیرد (Bell *et al.*, 2002). اگرچه امروزه آرتمیا به‌عنوان یک غذای مناسب در آبزیان به‌ویژه در مرحله ناپلیوسی به دلیل محتویات نسبتاً پایین اسیدهای چرب ضروری و فسفولیپید آن زیرسوال رفته است. اکثر تحقیقات صورت گرفته برای حل کیفیت آرتمیا بیشتر در زمینه ارتقاء اسیدهای چرب آرتمیا بوده است (Tocher, 2010) و تحقیقات محدودی روی افزایش فسفولیپید آرتمیا صورت گرفته است (Monroig *et al.*, 2006, 2007; Guinot *et al.*, 2013 a, b).

لسیتین به‌عنوان یکی از منابع پایدار با قابلیت بالای زیستی فسفولیپید در سخت پوستان و ماهیان شناخته شده است. لسیتین یک واژه کلی برای گروهی از چربی‌های زرد مایل به قهوه‌ای می‌باشد که در بافت‌های گیاهی و جانوری و در زرده تخم مرغ وجود دارد و از اسید فسفریک، کولین، اسیدهای چرب، گلیسرول، گلیکولیپید، تری گلیسرید و فسفولیپیدهایی مانند فسفاتیدیل کولین (PC)، فسفاتیدیل اتانول آمین (PE) و فسفاتیدیل اینوزیتول (PI) و فسفاتیدیل سرین (PS) تشکیل شده است (Thompson *et al.*, 2003). لسیتین نقش تعاملی در جذب روده‌ای کلسترول دارد که رشد و بقای گونه‌های مختلف آبزیان را بهبود می‌بخشد (ADM Specialty Ingredients, 2003). همچنین لسیتین یک منبع مناسبی از میواینوزیتول است که در اغلب گونه‌های آبزی-پروری به عنوان کوفاکتور در فعالیت آنزیم‌های خاص (کولین استراز و ترانس آمیناز) نقش دارد. به عنوان یک جاذب غذایی شیمیایی، لسیتین می‌تواند نیاز به پودر ماهی و روغن ماهی را به عنوان منابع چربی در جیره کاهش دهد. لسیتین همچنین می‌تواند به عنوان یک جاذب غذایی در فرمولاسیون غذایی آبزیان به کار رود (ADM Specialty Ingredients, 2003). اهمیت لسیتین به‌ویژه در جیره‌های آبزیان جوان محسوس‌تر است. دستگاه گوارش در حال تکامل این موجودات جوان در ساختن مقادیرکافی از فسفولیپید توانایی محدودی دارد (ADM Specialty Ingredients, 2003). فسفولیپیدها از جمله لسیتین به عنوان امولسی‌فایر در روده (Koven *et al.*, 1993) بوده و جذب اسیدهای چرب بلند زنجیر را بهبود می‌بخشند همچنین برای حفظ ساختار و عملکرد غشای سلول حائز اهمیت هستند (Tocher *et al.*, 2008). علاوه بر این لسیتین می‌توانند در بهبود کیفیت جیره غذایی و فراهم کردن مواد مغذی ضروری مانند اسید چرب ضروری، فسفر، کولین و اینوزیتول نقش داشته باشند (Halver, 2002; Lall, 2002; Tocher 1995; Tocher *et al.*, 2008; Zhao *et al.*, 2013). مطالعات نشان می‌دهد لسیتین باعث کاهش از دست رفتن مواد مغذی محلول در آب (Couttenu *et al.*, 1997)، ایجاد خاصیت آنتی اکسیدانی (Saito and Ishihara, 1997)، افزایش هضم چربی‌ها در بچه ماهیان به دلیل عدم تکامل دستگاه گوارش (Kasper and Brown, 2003)، انتقال چربی‌ها از انتروسیت‌های روده با دخالت در تشکیل لیپوپروتئین‌ها (Liu *et al.*, 2002) و کاهش ناهنجاری‌های اسکلتی (Cahu *et al.*, 2003) می-شوند. همچنین جیره حاوی لسیتین مقاومت در برابر

Archive of SID

www.SID.ir

استرس را افزایش داده و واکنش‌های آنتی اکسیدانی را تحریک کرده و از اندام‌ها در برابر صدمات اکسیداتیوی حفاظت می‌کند (Gao *et al.*, 2014). Koven و همکاران (۱۹۹۳) بیان کردند که لسیتین می‌توانند به عنوان ماده جاذب در جیره عمل کنند و این خاصیت لسیتین را می‌توان به بخش قطبی آن نسبت داد. Orthoefer و همکاران (۱۹۹۵) گزارش کردند که لسیتین در سنتز غشاها، بهبود بخشیدن به هضم و جذب چربی‌های جیره غذایی، افزایش ترکیب و مطلوب شدن پلت‌های غذایی، کاهش تراوش مواد غذایی در آب و به‌عنوان یک ماده شیمیایی جاذب در جیره مطرح می‌باشد. از آنجا که لسیتین به عنوان منبع غنی از فسفولیپیدها و دیگر ترکیبات می باشد و تاکنون مطالعه‌ای در خصوص تاثیر لسیتین سویا بر میزان غنی‌سازی آرتمیا صورت نگرفته است. بنابراین در تحقیق حاضر ترکیبات بیوشیمیایی و کلاسه‌های چربی ناپلی و بیومس *Artemia franciscana* غنی شده با لسیتین سویا به منظور بهبود کیفیت آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. تهیه مواد اولیه و غنی سازی آرتمیا

این مطالعه در پژوهشکده آرتمیا و آبزی‌پروری دانشگاه ارومیه با هدف بررسی اثر لسیتین سویا بر میزان غنی‌سازی ناپلی و بیومس آرتمیا با مطالعه ترکیب بیوشیمیایی و کلاسه‌های چربی آن‌ها در دو مرحله اجرا شد. سیست‌های آرتمیا مورد استفاده در این تحقیق از پژوهشکده آرتمیا و آبزی‌پروری دانشگاه ارومیه تهیه شد. سیست‌های آرتمیا براساس روش‌های استاندارد ضدعفونی و پوسته‌زدایی شده و در دمای ۲۸ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد و شوری ۳۳ در هزار تخم گشایی شدند (Sorgeloos *et al.*, 2001). برای تهیه امولسیون غنی‌سازی، طبق روش استاندارد (Guinot *et al.*, 2013a) مقدار ۱ گرم لسیتین با ۷۴/۴۲ درصد فسفولیپید به ۱۰ میلی لیتر آب با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و شوری ۳۳ گرم در لیتر افزوده شد و به مدت ۱۰ دقیقه با همزن الکتریکی مخلوط گردید تا به‌صورت کاملاً همگن درآیند. ذرات چربی امولسیون‌های آماده شده توسط یک میکروسکوپ نوری مجهز به میکرومتر چشمی و لام مدرج اندازه‌گیری شد تا اطمینان شود که قطر ذرات چربی کوچکتر از ۳۰ میکرومتر هستند. در مرحله اول ناپلی های تخم گشایی شده بعد از جداسازی با آب شور استریل شسته شده و تعداد ۶۰۰ هزار ناپلی به سه ظرف شیشه ای مخروطی با ظرفیت یک لیتر آب شور استریل (۲۰۰ هزار/ یک لیتر آب) منتقل شدند. سپس امولسیون غنی‌سازی آماده شده به میزان ۶ میلی لیتر در ابتدای غنی‌سازی و ۱۲ ساعت پس از شروع غنی‌سازی (سه میلی لیتر در شروع غنی سازی و ۳ میلی‌لیتر ۱۲ ساعت پس از غنی‌سازی) به ظروف غنی‌سازی ناپلی‌های تازه تخم‌گشایی شده اضافه شد. عمل غنی‌سازی به‌مدت ۲۴ ساعت ادامه یافت (Coutteau *et al.*, 1997).

در مرحله دوم ناپلی‌های تخم‌گشایی با تراکم ۵۰۰ عدد در لیتر در تانک های فایبرگلاسی (حاوی ۸۰۰ لیتر آب با شوری ۵۰ گرم در لیتر) و دمای ۲۶ درجه سانتیگراد به مدت ۱۴ روز با مخلوطی از جلبک های *Nannochloropsis oculata*، *Dunaliella salina*، *Dunaliella tertiolecta* و سبوس گندم به میزان سیری تغذیه شدند. در روز ۱۴ آرتمیاها با طول ۸/۵۰ میلی متر با کمک یک توری با چشمه ۵۰۰ میکرون برداشت شده و با آب شور استریل به خوبی شسته شدند. آرتمیاهای برداشت شده به مدت ۱۸ ساعت در داخل ظرف های حاوی آب شور استریل بدون تغذیه نگه داشته شدند (در این مدت زمان دو سوم دستگاه گوارش آرتمیا خالی شده بود در حالی که آرتمیا گرسنه نبوده و ترکیب بدنی خود را حفظ می‌کند). سپس آرتمیا ها با تراکم ۳۰۰۰ عدد در هر لیتر به ظروف شیشه‌ای مخروطی جدید حاوی آب شور استریل منتقل شدند. امولسیون غنی‌سازی مانند مرحله اول تهیه و به ظروف غنی‌سازی اضافه شد و در انتها بعد از ۶ ساعت آرتمیاهای غنی شده با کمک الک جدا شده و بعد از انتقال به میکروتیوب های ۵ میلی لیتری تا زمان آنالیز در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Coutteau *et al.*, 1997). از ناپلی‌های تازه تفریخ شده و بیومس آرتمیای غنی نشده با لسیتین سویا به‌عنوان نمونه‌های شاهد استفاده گردید (جدول ۱).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- ترکیب فسفولیپید لسیتین سویا (میانگین ± انحراف معیار).

فسفاتیدیل کولین	۳۲/ ۵۳±۰/۷۰
فسفاتیدیل اتانول آمین	۱۶/۷۲±۰/۲۱
فسفاتیدیل سرین + فسفاتیدیل اینوزیتول	۱۶/۸۴±۰/۳۴
لیزوفسفاتیدیل کولین	۱/۳۹ ±۰ /۱۴
چربی قطبی کل	۷۴/۴۲±۰/۲۴

۲.۲. تجزیه تقریبی و آنالیز شیمیایی

آنالیز تقریبی شامل تعیین ماده خشک، چربی خام، پروتئین خام هر یک از آرتمیاها طبق روش AOAC (۱۹۹۰) تعیین شد. نمونه ها پس از توزین به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد در آون کاملاً خشک شدند و درصد رطوبت و ماده خشک آن‌ها از طریق وزن‌سنجی محاسبه شدند. از مادهٔ خشک به دست آمده برای بررسی سایر ترکیبات استفاده شد. پروتئین خام با استفاده از روش میکروکلدال و با تعیین مقدار نیتروژن کل و تبدیل آن به پروتئین خام بر اساس ۱۶ درصد نیتروژن، مطابق رابطه پروتئین خام = ازت کل به دست آمده × ۶/۲۵ تعیین شد. چربی خام مطابق روش سوکسله از طریق استخراج چربی به وسیلهٔ اتر و خاکستر نیز از طریق سوزاندن در کوره با ۵۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۶ ساعت تعیین شد (Sorensen *et al.*, 2005).

۳.۲. آنالیز کلاسه های چربی

آنالیز کلاسه‌های چربی به روش Olsen و Henderson (۱۹۸۹) با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گاز-مایع (GLC) انجام شد. برای این منظور ابتدا صفحه سیلیکونی یک روز قبل از سنجش کلاسه های چربی در محلول کلروفورم-متانول شستشو داده و سپس در دستگاه دسیکاتور جهت خشک شدن قرار داده شد. صفحه خشک شده در آون ۱۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه مجدداً جهت سرد شدن در داخل دسیکاتور منتقل شد. سپس صفحه سلیکونی خط کشی شده و با سرنگ مخصوص یک میکرو لیتر نمونه چربی بر روی نقاط نشانه گذاری شده تزریق شد. صفحه سلیکونی ابتدا در محلول تهیه شده جهت ظهور چربی های قطبی (متیل استات، ایزوپروپانول، کلروفرم، متانول، KCl) قرار داده شد تا محلول به نقطه ۵/۵ سانتی‌متری صفحه برسد. بعد از قرار دادن صفحه در دسیکاتور به مدت ۱۵ دقیقه به داخل محلول ظهور چربی های خنثی (هگزان، دی اتیل اتر، استیک اسید) منتقل شدند تا محلول به نقطه ۹ سانتی‌متر برسد و پس از آن مجدداً صفحه سیلیکونی به دسیکاتور به مدت ۱۵ دقیقه منتقل شد. سپس با محلول فیوستر (آب، ارتو فسفوریک اسید، استات مس) تمام سطح صفحه خیس شد و بمدت ۲۰ دقیقه در آون ۱۶۰ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. پس از خنک شدن صفحه سلیکونی توسط دستگاه دانسیتومتر اسکن شد و پس از شناسایی باندهای کلاسه‌های چربی غلظت آن‌ها به کمک دستگاه مشخص گردید.

۴.۲. تجزیه و تحلیل آماری

نرمال بودن داده با استفاده از آزمون کولموگراف- اسمیرنوف بررسی و تجزیه و تحلیل آماری داده های به دست آمده در ارتباط با آنالیز ترکیب بیوشیمیایی و کلاسه‌های چربی در هر دو مرحله ناپلی و بیومس آرتمیا به صورت جداگانه با استفاده از آنالیز T-test، و با استفاده از نرم‌افزار SPSS-21 در سطح ۰/۰۵ انجام گرفت. داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده است.

۳. نتایج

براساس نتایج (جدول ۲) اختلاف معنی‌داری در میزان ماده خشک، پروتئین خام و خاکستر ناپلی *Artemia franciscana* غنی شده با لسیتین سویا و غنی نشده مشاهده نشد ($P>0/05$) اما بیشترین میزان چربی خام (۲۱/۳۹ درصد) به‌طور معنی‌داری در ناپلی آرتمیاهای غنی شده با لسیتین سویا به‌دست آمد ($P<0/05$). در بیومس آرتمیا، غنی سازی با لسیتین سویا باعث تغییر معنی‌داری در میزان خاکستر شد به‌طوری که میزان خاکستر از ۲۰/۶۴ درصد در گروه شاهد به ۱۷/۰۴ درصد در تیمار غنی شده کاهش یافت. همچنین افزایش معنی‌دار در میزان چربی خام

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- آنالیز تجزیه بیوشیمیایی ناپلی و بیومس *A. franciscana* غنی شده با لسیتین سویا (میانگین ± انحراف معیار).

گروههای مورد بررسی		ماده خشک	پروتئین خام	چربی خام	خاکستر
ناپلی	غنی نشده	۱۳/۶۵±۰/۹۸	۵۰/۱۴±۲/۰۳	۱۷/۶۲±۱/۲۶^{b}	۱۳/۵۶±۱/۳۰
	غنی شده	۱۲/۸۴±۰/۴۱	۴۸/۲۳±۱/۸	۲۱/۳۹±۱/۴۵^{a}	۱۱/۸۷±۱/۶۹
بیومس	غنی نشده	۱۲/۰۸±۰/۸۳	۵۱/۰۸±۱/۹۴	۱۶/۰۵±۲/۲۶^{b}	۲۰/۶۴±۱/۵۲^{a}
	غنی شده	۱۰/۶۵±۰/۹۲	۵۰/۱۶±۲/۵۹	۱۹/۶۹±۱/۰۸^{a}	۱۷/۰۴±۳/۲۰^{b}

مقایسه درون گروهی بوده و حروف لاتین متفاوت در هر گروه نشانه معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

جدول ۳- آنالیز تجزیه فسفولیپید ناپلی و بیومس *A. franciscana* غنی شده با لسیتین سویا (میانگین ± انحراف معیار).

ترکیب فسفولیپید	ناپلی		بیومس	
	غنی نشده	غنی شده	غنی نشده	غنی شده
فسفاتیدیل کولین	۵/۵۹±۰/۴۷^{b}	۶/۷۴±۰/۰۴^{a}	۱۷/۱۷±۱/۸۳	۱۸/۱۰±۰/۵۴
فسفاتیدیل اتانول آمین	۴/۶۹±۰/۱۷	۴/۳۰±۰/۱۴	۱۰/۸۵±۱/۲۴^{b}	۱۳/۸۹±۰/۶۳^{a}
فسفاتیدیل سرین + فسفاتیدیل اینوزیتول	۰/۷۵±۰/۲۱^{b}	۱/۸۸±۰/۰۶^{a}	۷/۶۳±۰/۱۸	۷/۳۲±۰/۰۸
لیزوفسفاتیدیل کولین	-	-	۲/۶۷±۰/۰۴^{a}	۱/۲۳±۰/۱۴^{b}
لیزوفسفاتیدیل اتانول آمین	-	-	۲/۷۱±۰/۳۵	۲/۵۰±۰/۶۵
چربی قطبی کل	۱۱/۰۴±۰/۵۴^{b}	۱۲/۹۶±۰/۲۳^{a}	۳۹/۲۴±۲/۰۱^{b}	۴۳/۷۲±۱/۲۷^{a}

مقایسه درون گروهی بوده و حروف لاتین متفاوت در هر گروه نشانه معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

جدول ۴- آنالیز تجزیه چربی‌های غیر قطبی ناپلی و بیومس *A. franciscana* غنی شده با لسیتین سویا (میانگین ± انحراف معیار).

کلاسه چربی	ناپلی		بیومس	
	غنی نشده	غنی شده	غنی نشده	غنی شده
کلسترول	۵/۹۴±۰/۱۲	۵/۰۸±۰/۱۱	۲۳/۸۴±۱^{a}	۱۹/۳۷±۰/۵۷^{b}
اسیدهای چرب آزاد	۳۷/۳۵±۲/۲۶^{a}	۱۵/۲۲±۰/۴۰^{b}	۲۱/۸۶±۱/۳۷	۲۰/۹۲±۰/۱۸
تری گلیسرید	۳۲/۲۹±۱/۲۳^{b}	۵۳/۳۵±۰/۱۶^{a}	۷/۷۷±۱/۲۶^{b}	۹/۷۹±۰/۹۲^{a}
واکس + استرول استر	۳/۳۲±۱/۶۴	۴/۶۸±۰/۱۷	۷/۲۹±۰/۲۰^{a}	۶/۲۰±۰/۳۷^{b}

مقایسه درون گروهی بوده و حروف لاتین متفاوت در هر گروه نشانه معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

از ۱۶/۰۵ درصد (در گروه شاهد) به ۱۹/۶۹ درصد (در بیومس آرتمیای غنی شده) مشاهده شد. اختلاف معنی‌داری در میزان ماده خشک و پروتئین خام بین بیومس آرتمیای غنی شده و غنی نشده مشاهده نشد ($P>0/05$) اگر چه در گروه‌های غنی شده کاهش اندکی یافت شد.

آنالیز ترکیب فسفولیپید ناپلی و بیومس *A. franciscana* غنی شده با لسیتین سویا در جدول ۳ آورده شده است. براساس نتایج غنی‌سازی ناپلی آرتمیا با لسیتین سویا باعث افزایش معنی‌دار در میزان چربی قطبی کل (۱۲/۹۶ درصد)، فسفاتیدیل کولین (۶/۷۴ درصد)، و فسفاتیدیل‌سرین + فسفاتیدیل اینوزیتول (۱/۸۸ درصد) شد ($P<0/05$). در بیومس آرتمیا، میزان چربی قطبی کل (۴۳/۷۲ درصد) و فسفاتیدیل اتانول آمین (۱۳/۸۹ درصد) در گروه غنی-شده افزایش یافت اما میزان لیزوفسفاتیدیل کولین (۱/۲۳ درصد) به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P<0/05$).

نتایج مربوط به آنالیز چربی‌های غیر قطبی ناپلی و بیومس *A. franciscana* غنی شده با لسیتین سویا در جدول ۴ آورده شده است. غنی‌سازی ناپلی آرتمیا با لسیتین سویا به‌طور معنی‌داری باعث افزایش میزان تری گلیسرید (۵۳/۳۵ درصد) و کاهش میزان اسیدهای چرب آزاد (۱۵/۲۲ درصد) شد. میزان کلسترول و واکس + استرول استر در ناپلی‌های آرتمیا اختلاف معنی‌داری را در دو گروه شاهد و غنی شده نشان نداد ($P>0/05$). در بیومس آرتمیا، غنی‌سازی با لسیتین سویا به‌طور معنی‌داری باعث افزایش تری گلیسرید (۹/۷۹ درصد) و کاهش میزان کلسترول (۱/۲۳ درصد) و واکس + استرول استر (۶/۲۰ درصد) شد.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

در کارگاه‌های پرورش میگو، ماهیان آب شیرین،

Archive of SID

www.SID.ir

دریایی و زینتی، از تمامی مراحل رشد (ناپلی، متاناپلی و بیومس) آرتمیا به‌عنوان یک غذای زنده با ارزش استفاده می‌شود. آرتمیا با داشتن یک رفتار تغذیه‌ای غیر انتخابی از طریق فرایند بیوکپسوله شدن می‌تواند تبدیل به یک غذای مناسب برای تامین احتیاجات آبزی شود (Dhert, 1991; Lim *et al.*, 2003). براساس مطالعات گذشته آرتمیا به‌طور فعال توانایی انتقال ترکیبات چربی از طریق غنی‌سازی را دارد (Guinot *et al.*, 2013a,b; Monroig *et al.*, 2003; Monroig *et al.*, 2006; Ando and Narukawa, 2002). در این مطالعه چربی کل ناپلی و بیومس آرتمیا بعد از غنی‌سازی با لسیتین سویا افزایش نشان داد در حالی که اختلاف معنی‌داری در میزان ماده خشک و پروتئین مشاهده نشد. در مطالعه‌ای مشابه غنی‌سازی ناپلی یا بیومس آرتمیا با روغن‌های مختلف (۸۰ میلی گرم بر لیتر) به‌مدت ۱۲ ساعت باعث افزایش میزان چربی کل آرتمیا شد (Hafezieh *et al.*, 2010). همچنین Akbar و همکاران (۲۰۱۴) افزایش محتویات چربی و پروتئین ناپلی یا بیومس آرتمیا غنی شده با روغن سویا (۰/۵ میلی لیتر بر لیتر) به مدت ۲۴ ساعت را گزارش کردند. Ando و Oomi (۲۰۰۱) عنوان کردند که غنی‌سازی ناپلی آرتمیا فرانسیسکانا به‌مدت ۱۸ ساعت با اتیل استر DHA باعث افزایش محتویات چربی و تری‌گلیسرید ناپلی می‌شود. Marentes-Montes و همکاران (۲۰۱۵) دریافتند که میزان غنی‌سازی آرتمیا با روغن‌های مختلف بستگی به تشکیل لیپوزوم‌های ساده و قابل تشکیل در آب و همچنین ذخیره در بدن آرتمیا دارد. برای مثال آرتمیا قابلیت پایینی برای غنی‌شدن با لیپوزوم‌های متیونین دارد چون خود آرتمیا این ماده را با سرعت بالایی مورد مصرف قرار می‌دهد (Tonheim *et al.*, 2000).

در مطالعه حاضر غنی‌سازی ناپلی و بیومس آرتمیا با لسیتین سویا باعث افزایش محتویات فسفاتیدیل کولین و فسفاتیدیل سرین + فسفاتیدیل اینوزیتول ناپلی و فسفاتیدیل اتانول آمین بیومس شد. مطالعات نشان داده است که فسفوتیدیل کولین باعث خوش‌خوراکی جیره غذایی شده و به‌عنوان یک جاذب پذیرش غذا توسط آبزی را افزایش می‌دهد (Harada *et al.*, 1987; Koven *et al.*, 1993; Uyan *et al.*, 2009). همچنین چربی‌های قطبی به‌عنوان منبع فسفولیپید تامین کننده انرژی، اسیدهای چرب ضروری، کولین و اینوزیتول می‌باشند. کولین و اینوزیتول به‌عنوان جزئی از ویتامین گروه B برای سوخت و ساز چربی‌ها و جلوگیری از ذخیره شدن چربی در کبد و تحریک ساخت سلول‌های روده، استخوان و غشاء سلول های چشم ضروری می‌باشد (Majumder and Biswas, 2006; Zeisel and Da Costa, 2009). فسفاتیدیل اتانول آمین که بخشی از فسفولیپیدها بوده و معمولاً ۲۵ درصد فسفولیپید غشاء سلولی را تشکیل می‌دهد جزء ضروری بخش سفید مغز و نخاع می‌باشد (Vance and Tasseva, 2013). در این مطالعه غنی‌سازی ناپلی و بیومس آرتمیا باعث افزایش میزان چربی‌های قطبی از ۱۱/۰۴ به ۱۲/۹۶ درصد در ناپلی و از ۳۹/۲۴ به ۴۳/۷۲ درصد در بیومس آرتمیا شد. همچنین در مطالعه‌ی دیگر Coutteau و Mourente (۱۹۹۷) غنی‌سازی ناپلی آرتمیا با اتیل استر باعث افزایش چربی کل از ۲۰۰ به ۲۸۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک، میزان تری‌گلیسرید از ۸۲ به ۱۵۷ میلی گرم بر گرم وزن خشک و میزان چربی‌های قطبی از ۷۱ به ۷۴ میلی گرم بر گرم وزن خشک شد. این محققین گزارش کردند که افزایش چربی قطبی مربوط به فسفاتیدیل اتانول آمین می باشد و تغییری در میزان فسفاتیدیل کولین، فسفاتیدیل سرین و اینوزیتول مشاهده نشد. چربی های غیرقطبی از جمله تری گلیسرید، اسیدهای چرب آزاد و واکس ها معمولاً منبع تامین کننده انرژی هستند. اگرچه کلسترول و استرول استرها معمولاً چربی‌های غیرقطبی ساختاری هستند. تری گلیسرید و واکس‌ها قابلیت ذخیره سازی در بافت‌ها از جمله کبد را دارا هستند در حالی که اسیدهای چرب آزاد به سرعت برای تامین انرژی مورد مصرف قرار می‌گیرند. همچنین استرول استرها در کاهش و تنظیم کلسترول‌های با تراکم پایین (LDL) نقش دارند (Anderson *et al.*, 1990). غنی‌سازی ناپلی و بیومس آرتمیا با لسیتین سویا باعث افزایش تری گلیسرید در ناپلی و بیومس و کاهش اسیدهای چرب آزاد در ناپلی و کلسترول در بیومس آرتمیا شد. کاهش اسیدهای چرب آزاد احتمالاً به دلیل مصرف خود آرتمیا در زمان غنی‌سازی است که در مدت زمان غنی

Archive of SID

www.SID.ir

سازی با هیچ ماده مغذی دیگری تغذیه نشده بودند. McEvoy و همکاران (۱۹۹۶) گزارش کردند که غنی-سازی ناپلی آرتمیا با سوپرسلکو باعث افزایش چربی کل از ۱۲/۳ به ۱۶/۸ درصد و تری گلیسرید از ۷/۲ به ۱۱/۴ درصد شد. Wouters و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که از بین چربی ها، فسفولیپیدها و تری گلیسرید چربی‌های مهم محسوب شده و از چربی‌های اصلی برای تکامل تخمدان محسوب می‌شوند. تری گلیسرید برای تامین انرژی در طی تکامل تخمک، تفریخ و رشد لاروها و فسفولیپیدها به‌عنوان محرک رشد و بخش ساختاری غشاء سلولی مورد نیاز می‌باشند (Palacios *et al.*, 1998). محققین گزارش کردند که تفاوت در جمعیت آرتمیا، زمان برداشت آرتمیا، دوره گرسنگی قبل از غنی سازی، نوع پروتکل غنی‌سازی، طول مدت غنی‌سازی، غلظت و نوع ماده غنی‌سازی و شرایط فیزیکی و شیمیایی علت اصلی تفاوت در محتویات بیوشیمیایی آرتمیا مانند چربی، پروتئین و اسیدهای چرب می باشد (Ando and Oomi, 2001).

Koven و همکاران (۱۹۹۳) گزارش کردند که برای لاروهای ماهی با دستگاه گوارش تکامل نیافته چربی‌های قطبی مهمتر از چربی‌های غیرقطبی هستند به این دلیل که اسیدهای چرب ضروری توسط این چربی راحت‌تر در اختیار لارو قرار می‌گیرند. همچنین Olsen و همکاران (۱۹۹۱) عنوان کردند که احتیاجات لاروها و ماهیان جوان به چربی‌های قطبی بالاتر از چربی‌های غیرقطبی است به این دلیل که قابلیت هضم چربی‌های قطبی برای تامین انرژی و اسیدهای چرب ضروری بالاتر می‌باشد. از سوی دیگر فسفولیپیدها کارایی استفاده از اسیدهای چرب ضروری در جیره را افزایش می دهند (Geurden *et al.*, 1997). بنابراین مقدار بالاتر چربی‌های قطبی آرتمیا باعث افزایش استفاده از اسیدهای چرب توسط آبزی هدف می‌شوند. در مجموع می‌توان بیان کرد که استفاده از ۰/۶ گرم در لیتر لسیتین سویا باعث افزایش گروه‌های فسفولیپیدی و همچنین میزان چربی کل در ناپلی و بیومس آرتمیا می‌شود. به‌طوری‌که فسفولیپیدها منبع مناسبی برای افزایش کارایی رشد و تولیدمثل لارو و مولدین سخت پوستان و ماهیان می باشند.

References

ADM Specialty Ingredients. 2003. Lecithin in Aquaculture. P.O. Box 2, 1540 AA Koog aan de Zaan, Netherlands, feedingredients@admworld.com.

Akbar, I., Radhakrishnan, D.K., Venkatachalam, R., Sathrajith, A.T., Sureshkumar, S., 2014. Standardization of the bioencapsulation of probiotics and oil emulsion in *Artemia parthenogenetica*. *International Journal of Research in Fisheries and Aquaculture* 4(3), 122-125.

Anderson, A.J., Arthington, A.H., Anderson, S., 1990. Lipid classes and fatty acid composition of the eggs of some Australian fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry* 96(2), 267-270.

Ando, Y., Narukawa, K., 2002. Regiospecific distribution of highly unsaturated fatty acids in triacylglycerols of *Artemia* nauplii enriched with marine oils. *Journal of Oleo Science* 51(9), 615-620.

Ando, Y., Oomi, Y., 2001. Positional distribution of highly unsaturated fatty acids in triacyl-sn-glycerols of *Artemia* nauplii enriched with docosahexaenoic acid ethyl ester. *Lipids* 36(7), 733-740.

AOAC., 1990. Official Methods of Analyses, 15th edition. In: W. Horwitz (Ed.), Association of Official Analytical Chemists Inc., Arlington, VA. 445 p.

Azewedo P.A., Leeson S., Cho C.Y., Bureau D.P., 2004. Growth and feed utilization of size rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*) reared in freshwater: diet and species effects, and responses over time. *Aquqculture Nutrition* 10, 401-411.

Bell, J.G., Henderson, R.J., Tocher, D.R., McGhee, F., Dick, J.R., Porter, A., Smullen, R.P., Sargent, J.R., 2002. Substituting fish oil with crude palm oil in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects muscle fatty acid composition and hepatic fatty acid metabolism. *The Journal of nutrition* 132(2), 222-230.

Cahu, C.L., Jambonino Infante, J.L., Barbosa, V., 2003. Effect of dietary phospholipid level and phospholipid: neutral lipid value on the development of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae fed a compound diet. *British Journal of Nutrition* 90, 21-28.

Campbell, R., Adams, A., Tatner, M.F., Sorgeloos, P., 1993. Uptake of *Vibrio anguillarum* vaccine by *Artemia salina* as a potential oral delivery system to fish fry. *Fish and Shellfish Immunology* 3(6), 451-459.

Coutteau, P., Mourente, G., 1997. Lipid classes and their content of n-3 highly unsaturated fatty acids (HUFA) in *Artemia franciscana* after hatching, HUFA-enrichment and subsequent starvation. *Marine Biology* 130(1), 81-91.

Archive of SID

www.SID.ir

Couttenu, P., Geurden, I., Camara, M.R., Bergot, P., Sorgeloos, P., 1997. Review on the dietary effects phospholipids in fish and crustacean larviculture. *Aquaculture* 155, 149-164.

Dhert, P., 1991. Bottle-necks in larviculture. Improved Use of *Artemia* in the Larviculture of the Tropical Fish *Lates calcarifer* (Bloch) and *Siganus guttatus* (Bloch). PhD Thesis, University of Ghent, Gent, Belgium. pp. 18-33.

Gao, J., Koshio, S., Nguyen, B.T., Wang, W.M., Cao, X.J., 2014. Effects of dietary phospholipid levels on growth performance, fatty acid composition and antioxidant responses of Dojo loach *Misgurnus anguillicaudatus* larvae. *Aquaculture* 426-427, 304-309.

Geurden, I., Coutteau, P., Sorgeloos, P., 1997. Effect of a dietary phospholipid supplementation on growth and fatty acid composition of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) and turbot (*Scophthalmus maximus* L.) juveniles from weaning onwards. *Fish Physiology and Biochemistry* 16(4), 259-272.

Guinot, D., Monroig, O., Hontoria, F., Amat, F., Varó, I., Navarro, J.C., 2013a. Enriched on-grown *Artemia* metanauplii actively metabolise highly unsaturated fatty acid-rich phospholipids. *Aquaculture* 412–413, 173–178.

Guinot, D., Monroig, O., Navarro, J.C., Varó, I., Amat, F., Hontoria, F., 2013b. Enrichment of *Artemia* metanauplii in phospholipids and essential fatty acids as a diet for common octopus (*Octopus vulgaris*) paralarvae. *Aquaculture Nutrition*19 (5), 837-844.

Hafezieh, M., Kamarudin, M.S., Saad, B., Rose, C., Sattar, A., Kamal, M., Agh, N., Valinassab, T., Sharifian, M., Hosseinpour, H., 2010. Effects of enriched *Artemia urmiana* with HUFA on growth, survival, and fatty acids composition of the Persian sturgeon larvae (*Acipenser persicus*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 9(1), 61-72.

Halver, J.E., 2002. The vitamins, In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), Fish Nutrition, 3rd ed Academic Press, San Diego, pp. 61-141.

Harada, K., Eguchi, A., Kurosaki, Y., 1987. Feeding attraction activities in the combinations of amino acids and other compounds for abalone, oriental weatherfish and yellowtail. *Nippon Suisan Gakk* 53(8), 1483-1489.

Jamali, H., Imani, A., Abdollahi, D., Roozbehfar, R., Isari, A., 2015. Use of probiotic *Bacillus* spp. in rotifer (*Brachionus plicatilis*) and Artemia (*Artemia urmiana*) enrichment: Effects on growth and survival of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, Larvae. *Probiotics and Antimicrobial Proteins* 7(2), 118-125.

Kasper, C.S., Brown, P.B., 2003. Growth improved in juvenile Nile tilapia fed phosphatidylcholine. *North American Journal of Aquaculture* 65, 39-43.

Koven, W.M., Kolkovski, S., Tandler, A., Kissii, G.W., Sklan, D., 1993. The effect of dietary lecithin and lipase, as a function of age, on n-9 fatty acid incorporation in the tissue lipids of *Sparus aurata* larvae. *Fish Physiology and Biochemistry* 10, 357-364.

Lall, S.P., 2002. The minerals, In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), Fish Nutrition, 3rd ed. Academic Press, San Diego, pp. 259–308.

Lavens, P., Sorgeloos, P., 2000. The history, present status and prospects of the availability of *Artemia* cysts for aquaculture. *Aquaculture* 181(3-4), 397-403.

Lim, L.C., 2003. Recent developments in the application of live feeds in the freshwater ornamental fish culture. *Aquaculture* 21, 319-331.

Liu, J., Caballero, M.J., Izquierdo, M., Ali, E-S.T., Hernandez-Cruz, M., Valencia, A., Fernandez-Palacios, H., 2002. Necessity of dietary lecithin and eicosapentaenoic acid for growth, survival, stress resistance and lipoprotein formation in gilthead sea bream Sparus aurata. *Fisheries Science* 68, 1165-1172.

Majumder, A.L., Biswas, B.B. eds., 2006. Biology of inositols and phosphoinositides (Vol. 39). Springer Science & Business Media. 339 p.

Marentes-Montes, M.E., Ponce Palafox, J.T., Castillo-Vargasmachuca, S., Martínez-Rodríguez, I.E., Castro Mejia, J., García-Ulloa, M., Seidavi, A., 2015. Enrichment of Adult *Artemia* Biomass and Squid Mantle Muscle, *Dosidicus gigas*, with Different Ascorbic Acid (L-Ascorbyl-2-Monophosphate-Na/Ca) Concentrations. *Journal of the World Aquaculture Society* 46(2), 219-227.

McEvoy, L.A., Navarro, J.C., Hontoria, F., Amat, F., Sargent, J.R., 1996. Two novel Anemia enrichment diets containing polar lipid. *Aquaculture* 144(4), 339-352.

Monroig, O., Navarro, J.C., Amat, F., Gonzalez, P., Hontoria, F., 2007. Oxidative stability and changes in the particle size of liposomes used in the *Artemia* enrichment. *Aquaculture* 266, 200-210.

Monroig, O., Navarro, J.C., Amat, F., González, P., Bermejo, A., Hontoria, F., 2006. Enrichment of *Artemia* nauplii in essential fatty acids with different types of liposomes and their use in the rearing of Gilthead Sea bream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture* 251, 491–508.

Monroig, Ó., Navarro, J.C., Amat, I., González, P., Amat, F., Hontoria, F., 2003. Enrichment of *Artemia* nauplii in PUFA, phospholipids, and water-soluble nutrients using liposomes. *Aquaculture International*, 11(1-2), 151-161.

Olsen, R.E., Henderson, R.J., 1989. The rapid analysis of neutral and polar marine lipids using double-development HPTLC and scanning densitometry. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 129(2), 189-197.

Olsen, R.E., Henderson, R.J., Pedersen, T., 1991. The influence of dietary lipid classes on the fatty acid composition of small cod *Gadus morhua* L. juveniles reared in an enclosure in northern Norway. *Journal of Experimental*

Archive of SID

www.SID.ir

Marine Biology and Ecology 148(1), 59-76.
Orthoefer, F.T., Gurkin, S.U., Fisk, J.D., 1995. The use of soy lecithin in aquaculture. In: (C. Lim & D.J. Sessa eds.), Nutrition and utilization technology in aquaculture. AOCS Press, Champaign, IL, pp. 114-129.
Palacios, H., Izquierdo, M.S., Gonzalez, M., Robaina, L., Valencia, A., 1998. Combined effect of dietary α-Tocopherol and n-3 HUFA on egg quality of gilthead seabream broodstock *Sparus aurata*. *Aquaculture* 161, 475-476.
Saito, H., Ishihara, K., 1997. Antioxidant activity and active sites of phospholipids as antioxidant. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 74, 139-146.
Sorensen M., Storebakken T., Shearer K.D., 2005. Digestibility, growth and nutrient retention in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets extruded at two different temperatures. *Aquaculture Nutrition* 11, 251 256.
Sorgeloos, P., Dhert, P., Candreva, P., 2001. Use of the brine shrimp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture. *Aquaculture* 200(1), 147-159.
Thompson, K.R., Muzinic, L.A., Christian, T.D., Webster, C.D., Manomaitis, L., Rouse, D.B., 2003. Lecithin requirements of juvenile Australian red claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Aquaculture Nutrition* 9, 223-230.
Tocher, D.R., 1995. Glycerophospholipid metabolism. In: Hochachka, P.W., Mommsen, T.P. (Eds.), *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes* 4, 119-157.
Tocher, D.R., 2010. Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. *Aquaculture Research* 41(5), 717-732.
Tocher, D.R., Bendiksen, E.Å., Campbell, P.J., Bell, J.G., 2008. The role of phospholipids in nutrition and metabolism of teleost fish. *Aquaculture* 280(1), 21-34.
Tonheim, S.K., Koven, W., Rønnestad, I., 2000. Enrichment of *Artemia* with free methionine. *Aquaculture* 190(3-4), 223-235.
Uyan, O., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S., Uyan, S., Ren, T., Hernandez, L.H.H., 2009. The influence of dietary phospholipid level on the performances of juvenile amberjack, *Seriola dumerili*, fed non-fishmeal diets. *Aquaculture Nutrition* 15(5), 550-557.
Vance, J.E., Tasseva, G., 2013. Formation and function of phosphatidylserine and phosphatidylethanolamine in mammalian cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids* 1831(3), 543-554.
Wouters, R., Piguave, X., Bastidas, L., Calderon, J., Sorgeloos, P., 2001. Ovarian maturation and haemolymphatic vitellogenin concentration of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed increasing levels of total dietary lipids and HUFA. *Aquaculture Research* 32(7), 573-582.
Zeisel, S.H., Da Costa, K.A., 2009. Choline: an essential nutrient for public health. *Nutrition Reviews* 67(11), 615-623.
Zhao, J.Z., Ai, Q.H., Mai, K.S., Zuo, R.T., Luo, Y.W., 2013. Effects of dietary phospholipids on survival, growth, digestive enzymes and stress resistance of large yellow croaker, *Larmichthys crocea* larvae. *Aquaculture* 410-411.

Archive of SID

www.SID.ir