

تأثیر عصاره اتانولی چای سبز (*Camellia sinensis*) بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی و وضعیت اکسیداتیو در ماهی قرمز (*Carassius auratus*)

• نجمه شیخ زاده

دانشیار، گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

• شلاله موسوی (نویسنده مسئول)

استادیار، گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳-۰۹-۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: ۱۶-۱۰-۱۳۹۷

Email: Shalaleh.mousavi@tabrizu.ac.ir



چکیده

در مطالعه حاضر اثرات عصاره اتانولی چای سبز (*Camellia sinensis*) بر برخی فراسنجه‌های بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی در ماهی قرمز (*Carassius auratus*) مورد بررسی قرار گرفت. ماهی‌ها (با میانگین وزن $9/1 \pm 0/5$ گرم) به صورت تصادفی و به تعداد ۹۰ ماهی در نه تانک (با سه تانک برای هر گروه) توزیع شدند. در گروه تیمار، ماهی‌ها با مقادیر ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم عصاره اتانولی چای سبز در کیلوگرم خوراک پایه به مدت دو ماه تغذیه شدند و در گروه کنترل جیره پایه بدون افزودن چای سبز مورد استفاده قرار گرفت. نتایج نشان داد پروتئین تام در هر دو گروه تیمار افزایش یافت. آنزیم‌های متابولیکی سرم شامل آلکالین فسفاتاز (ALP) و آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) در بین گروه‌های مختلف تغییری نداشت. از طرف دیگر، محصول ناشی از پراکسیداسیون لیپیدها در دو گروه تیمار کاهش یافت. فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز (SOD) نیز متعاقب استفاده از عصاره اتانولی چای سبز در هر دو گروه تیمار نسبت به گروه کنترل افزایش یافت. تحت شرایط آزمایشگاهی در این مطالعه، میزان مناسب استفاده از عصاره اتانولی چای سبز ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بود که بر برخی فراسنجه‌های بیوشیمیایی و وضعیت آنتی‌اکسیدان در ماهی قرمز تأثیرات مثبت داشت.

کلمات کلیدی: ماهی قرمز، عصاره چای سبز، رشد، فراسنجه‌های بیوشیمیایی، سیستم آنتی‌اکسیدان

- Veterinary Researches & Biological Products No 124 pp: 118-123

Effects of green tea (*Camellia sinensis*) ethanolic extract on biochemical parameters and oxidative status in gold-fish (*Carassius auratus*)

By: Sheikhzadeh, N., Department of Food Hygiene and Aquatic Animals, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran. and Mousavi, Sh., (Corresponding Author) Department of Food Hygiene and Aquatic Animals, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

Received: 2018-12-04

Accepted: 2019-01-06

Email: Shalaleh.mousavi@tabrizu.ac.ir

In this study, effects of ethanolic green tea (*Camellia sinensis*) extract on some biochemical and antioxidant parameters in gold fish (*Carassius auratus*) were evaluated. The fish (average mean weight 9.1 ± 0.5 grams) were randomly distributed at density of 90 fish in nine tanks (with three tanks for each group). In treatment groups, fish fed ethanolic green tea extract at 50 and 100 mg kg⁻¹ for a period of two months where as in control group, basal diet without any additive was used. Results showed that total protein increased in both treatment groups. Serum metabolic enzymes including alkaline phosphatase (ALP) and aspartate aminotransferase (AST) did not change between different groups. On the other hand, lipid peroxidation product decreased in both treatment groups. Similarly, antioxidant enzyme activity of superoxide dismutase (SOD) increased following the administration of green tea in both groups compared to the control group. Under the present experimental condition, the optimal supplementary level of ethanolic green tea extract was 50 mg kg⁻¹ with potential to positively influence some biochemical parameters and antioxidant status in gold fish.

Keyword: gold fish, green tea extract, growth, biochemical parameters, antioxidant system

(۱۹). چای سبز با نام علمی *Camellia sinensis*، به عنوان منبع اصلی فلاونوئیدها، دارای خواص ضد سرطانی، ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی، ضد پرولیفریتیو، ضد باکتریایی، ضد ویروسی و ضد انگلی در انسان و حیوانات آزمایشگاهی می‌باشد (۷،۴). در برخی مطالعات، اثرات مثبت چای سبز بر روی رشد، سیستم ایمنی، مقاومت در برابر استرس و محافظت در برابر عوامل بیماری‌زا و فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون گونه‌های مختلف ماهی و آبزیان بررسی شده است (۲۴،۲۱،۱۵،۱۲،۱۱،۱۰،۸،۵،۲،۱). از طرفی استرس اکسیداتیو نمایانگر عدم توازن میان رادیکال‌های فعال اکسیژن (ROS) و سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی بدن بوده و می‌تواند باعث اختلال در مکانیسم طبیعی سیگنال‌های سلولی شود (۱۸،۳) و مالون‌دی‌آلدئید (MDA) محصول کوچک اما پایدار پراکسیداسیون لیپیدی است و از تجزیه پراکسیدهای ناپایدار اسیدهای چرب غیراشباع ایجاد می‌شود که سنجش آن در سرم، شاخص مناسبی جهت بررسی پراکسیداسیون لیپیدها محسوب می‌شود (۱۴). مهره‌داران برای مقابله با تولید مداوم گونه‌های واکنشگر اکسیژن حاصل از متابولیسم هوازی سلول‌ها و بافت‌ها، حاوی یک مجموعه از آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی می‌باشند. آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD) و گلوکوتیونپراکسیداز (GPX) از جمله آنزیم‌های مهم آنتی‌اکسیدانی محسوب می‌شوند که با جلوگیری از تشکیل رادیکال‌های آزاد و افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی با آسیب‌های ایجاد شده مقابله می‌کنند (۳).

مقدمه

امروزه نگهداری ماهیان زینتی به یکی از سرگرمی‌ها در جهان تبدیل شده است. ماهی قرمز از پرطرفدارترین ماهیان زینتی محسوب می‌شود و از طرفی مکرراً برای اهداف مختلف آزمایشی مورد مطالعه قرار می‌گیرد (۱۳). از آنجا که تکثیر و پرورش این ماهی به طور متراکم انجام می‌گیرد، لذا در استخرهای پرورش متراکم، امکان بروز بیماری‌های گوناگون تشدید می‌یابد و تداوم پرورش ماهی توسط بیماری‌های باکتریایی، ویروسی، انگلی و تغییر پارامترهای محیطی به خطر می‌افتد (۱۷). استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و دیگر داروهای شیمیایی جهت پیشگیری و درمان در سیستم‌های آبی‌پروری متراکم به صورت گسترده‌ای به علت تأثیرات منفی آن‌ها مانند تجمع زیستی در بافت‌ها و ایجاد مقاومت دارویی نفي شده است (۶). واکنش‌ها نیز با درجات مختلفی از موفقیت در سال‌های اخیر توسعه یافته که میزان تأثیر آن‌ها با توجه به وسعت سیستم‌های پرورش ماهی محدود می‌باشد (۶). بنابراین نیازی ضروری برای جلوگیری از بیماری‌ها با افزایش دامنه تحمل ماهیان زینتی وجود دارد. روشی که در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است شامل استفاده از ترکیبات طبیعی با اثرات مثبت بر سیستم ایمنی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. ترکیبات مختلف، شامل بتاگلوکان، کیتین، عصاره‌های گیاهی و پلی‌ساکاریدهای باکتریایی در گونه‌های مختلف ماهی سبب بهبود رشد، تقویت سیستم ایمنی و آنتی‌اکسیدان گردیده است

سنجش فراسنجه‌های خونی

به طور خلاصه، اندازه‌گیری پروتئین تام سرم توسط کیت پارس آزمون، مطابق با روش بیوره و در طول موج ۵۴۵ نانومتر، انجام گرفت که در آن پروتئین‌ها در محیط قلیایی با یون‌های مس و تارتارت تشکیل کمپکس رنگی می‌دهند (۲۳). اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدی با روش تیوباریتوریک اسید انجام گرفت که به‌طور خلاصه به نمونه، ۲/۵ میلی لیتر TCA بیست درصد اضافه و در دور $1500 \times g$ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. ۲/۵ میلی لیتر اسید سولفوریک $0.5/0$ و ۲ میلی لیتر تیوباریتوریک اسید $2/0$ به رسوب حاصل از سانتریفیوژ اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری جوش قرار گرفت؛ سپس چهار میلی لیتر n بوتانول به محلول اضافه و سانتریفیوژ گردید و پس از خنک شدن، میزان جذب نوری محلول رویی در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت شد (۲۲). سنجش آلکالین فسفاتاز، توسط کیت پارس آزمون انجام گرفت که پارانیتروفنیل فسفات بی‌رنگ تحت تاثیر آلکالین فسفاتاز به فسفات معدنی و پارانیتروفیل که ترکیب زرد رنگی است تبدیل می‌شود و جذب نوری در طول موج ۴۰۵ نانومتر قرائت شد (۲۳). جهت اندازه‌گیری آنزیم آسپارات آمینوترانسفراز از کیت پارس آزمون استفاده شد که اساس تست بر تشکیل اگزوالوات و ال-گلوتامات در حضور آنزیم آسپارات آمینوترانسفراز است که در مرحله بعد اگزوالوات در حضور آنزیم مالات دهیدروژناز به ال-مالات تبدیل شده و کاهش جذب نوری واکنش رفت در طول موج ۳۴۰ نانومتر قرائت شد (۲۳). از کیت راندوکس جهت اندازه‌گیری آنزیم سوپراکسیددیسموتاز استفاده شد که اساس آزمایش بر ممانعت از تولید رادیکال‌های سوپراکساید توسط آنزیم سوپراکسیددیسموتاز بر اثر فعالیت آنزیمی گزانتین اکسیداز و تولید رنگ فورمازین در طول موج ۵۰۵ نانومتر است (۱۵). اندازه‌گیری آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در طول موج ۳۴۰ نانومتر و توسط کیت راندوکس انجام گرفت. اساس آزمایش بر اکسیداسیون گلوتاتیون پراکسیداز و احیاء آن توسط گلوتاتیون-ردوکتاز، اکسیداسیون NADPH و تولید $NADP^+$ استوار است (۱۵).

تحلیل آماری

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۹،۰ با استفاده از تحلیل آماری واریانس یک طرفه (A A) مورد سنجش قرار گرفته و با استفاده از روش LSD مقایسه بین گروه‌ها انجام شد. ($p < 0.05$) نیز سطح معنی‌دار تلقی شد.

نتایج

بر اساس نتایج بدست آمده در این مطالعه، میزان پروتئین تام سرمی در دو گروه تیمار افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان داد (جدول ۱). مقادیر آلکالین فسفاتاز و آسپارات آمینوترانسفراز در گروه‌های تیمار و کنترل تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول ۱). از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بررسی شده، سوپراکسیددیسموتاز در دو گروه تیمار افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل داشت در حالی‌که تفاوت مقادیر آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در دو گروه تیمار و گروه کنترل معنی‌دار نبود (جدول ۲). میزان پراکسیداسیون لیپیدی سرم در دو گروه تیمار کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت (جدول ۲).

با توجه به اثر مثبت چای سبز بر سیستم ایمنی و فراسنجه‌های بیوشیمیایی در علم پزشکی و دامپزشکی، به نظر می‌رسد این ترکیب نقش مشابهی در ماهی قرمز ایفا کند. با این پیش فرض، این مطالعه برای نخستین بار به منظور بررسی اثرات این ترکیب بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی در ماهی قرمز انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

جیره آزمایشی

غذای تجاری پایه مورد استفاده در این مطالعه، مربوط به شرکت بیومار فرانسه بود. جیره مورد استفاده با افزودن 50 mg kg^{-1} و 1 mg kg^{-1} از عصاره اتانولی چای سبز (شرکت سها جیسا، سلمان شهر، ایران) به غذای تجاری پایه به‌دست آمد. مبنای انتخاب دوز بر اساس مطالعات قبلی (۱، ۱۵) بود. جیره‌های تهیه شده در دو گروه تیمار مورد استفاده قرار گرفت به طوری‌که عصاره چای سبز، با اسپری کردن ۲۰ میلی لیتر روغن ماهی به ازای هر کیلوگرم غذا افزوده شد (۱۵). در گروه کنترل نیز خوراک پایه فاقد عصاره چای سبز مورد مصرف قرار گرفت. جهت یکسان‌سازی، به خوراک گروه کنترل تنها ۲۰ میلی لیتر روغن ماهی به ازای هر کیلوگرم غذای پایه اسپری گردید. غذای تهیه شده تا زمان استفاده در بسته‌های پلاستیکی هواگیری شده و در دمای ۱۰ - ۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

شرایط نگهداری ماهی‌ها

این مطالعه در مزرعه پرورش ماهیان آکواریومی در آمل انجام گرفت. در مجموع ۹۰ قطعه ماهی (91 ± 0.5 گرم) به صورت تصادفی و مساوی در نه تانک شیشه‌ای ($60 \times 35 \times 25$ سانتی‌متر) قرار گرفتند. هوادهی در تانک‌ها با استفاده از سنگ هوا و تعویض روزانه آب تانک‌ها (۷۰٪) با آب تازه انجام می‌گرفت. دمای آب و اکسیژن محلول در آب و pH در طول دوره دو ماهه به ترتیب 25.1 ± 0.5 درجه سانتی‌گراد، $7.1 \pm 0.2 \text{ mg l}^{-1}$ و 7.5 ± 0.1 بود. پس از دو هفته آدپتاسیون با جیره پایه، تغذیه با مقادیر مورد آزمایش چای سبز در این مطالعه، در گروه‌ها (با سه تکرار) به مدت دو ماه انجام گرفت. غذاهای در ۲ نوبت در ساعات ۹ و ۱۶ انجام می‌گرفت.

نمونه‌برداری از ماهی

در انتهای دوره دو ماهه، پنج قطعه ماهی از هر تانک به صورت تصادفی انتخاب و در حمام عصاره گل میخک ($50 \text{ } \mu\text{l l}^{-1}$) (۱۵) بیهوش شدند. پس از خون‌گیری از ساقه دم، نمونه‌های خونی به منظور جداسازی سرم به لوله‌های فاقد هپارین ریخته شد. پس از لخته شدن خون، سرم موجود در لوله‌های فاقد هپارین با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ (دور $\times g$ ۳۰۰۰ به مدت پنج دقیقه) جمع‌آوری شده به میکروتیوب منتقل گردید. میکروتیوب‌های حاوی سرم در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد به منظور انجام آزمایش‌های مختلف نگهداری شدند. فراسنجه‌های بیوشیمیایی شامل پروتئین تام، پراکسیداسیون لیپیدی، آنزیم‌های متابولیکی شامل آسپارات آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز، به همراه دو آنزیم مهم در فعالیت آنتی‌اکسیدان شامل سوپرا-اکسیددیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز مورد ارزیابی قرار گرفتند.

جدول ۱- وضعیت پروتئین تام و آنزیم‌های متابولیکی در سرم ماهی قرمز پس از پایان دوره تغذیه با عصاره چای سبز. اعداد با حروف متفاوت نسبت به یکدیگر معنی دار می باشند ($p < 0/05$).

عصاره چای سبز	Total Protein (g dl ⁻¹)	ALP (U l ⁻¹)	AST (U l ⁻¹)
۰ mg kg ⁻¹	۴/۴۴±۰/۲۱ ^a	۵۹/۷۴±۴/۱۶	۱۱۹/۱۲±۴۸/۸۷
۵۰ mg kg ⁻¹	۵/۳۸±۰/۲۱ ^b	۶۱/۳۱±۳/۰۶	۱۱۸/۵۲±۴۹/۵۹
۱۰۰ mg kg ⁻¹	۵/۳۲±۰/۲۷ ^b	۶۲/۰۳±۴/۴۴	۱۱۸/۷۶±۷۶/۲۵

جدول ۲- وضعیت آنتی‌اکسیدانی در سرم ماهی قرمز پس از پایان دوره تغذیه با عصاره چای سبز. اعداد با حروف متفاوت نسبت به یکدیگر معنی دار می باشند ($p < 0/05$).

عصاره چای سبز	MDA (1-nmol L)	GPX (U mL ⁻¹)	SOD (U mL ⁻¹)
۰ mg kg ⁻¹	۶۵/۹۰±۴/۲۰ ^a	۱۵/۴۸±۱/۰۹	۲/۰۹ ± ۰/۲۰ ^a
۵۰ mg kg ⁻¹	۵۴/۰۴±۲/۸۱ ^b	۱۵/۲۷±۰/۶۱	۳/۲۰ ± ۰/۱۵ ^b
۱۰۰ mg kg ⁻¹	۵۵/۸۶±۳/۸۱ ^b	۱۶/۴۲±۰/۸۳	۳/۴۰ ± ۰/۲۵ ^b

مکانیسم‌های احتمالی افزایش پروتئین تام سرمی ممکن است افزایش تولید پروتئین‌های حاصل از تحریک سیستم ایمنی باشد. در تأیید نتیجه مطالعه حاضر، عبدال تواب و همکاران (۲۰۱۰)، نشان دادند که افزودن ۱ g kg⁻¹ و ۰/۲۵ و ۲ g kg⁻¹ برگ چای سبز به جیره غذایی ماهی تیلاپیا سبب افزایش پروتئین تام سرم می‌گردد (۱). در مطالعه انجام شده توسط خدادادی و رنجبر (۱۳۹۵) افزودن پودر چای سبز به میزان ۱/۵٪ به جیره ماهی کپور معمولی، سبب افزایش معنی‌دار پروتئین تام و ایمونوگلوبولین سرمی گردید. در مطالعه دیگری که توسط ژو و همکاران (۲۰۱۶) انجام گرفت، ماهیان کپور علفخوار تغذیه شده با چای سبز، پروتئین تام، آلبومین و گلوبولین سرمی بالاتری نسبت به گروه شاهد داشتند (۲۵). لذا در این مطالعه نیز افزایش پروتئین تام سرمی می‌تواند ناشی از افزایش پروتئین‌های مرتبط با سیستم ایمنی در سرم ماهی قرمز باشد.

در مطالعه حاضر میزان دو آنزیم آلکالین فسفاتاز و آسپارات آمینوترانسفراز در دو گروه تیمار تفاوت معناداری با گروه کنترل نشان نداد. اندازه‌گیری فعالیت این دو آنزیم شاخص مهمی برای بررسی اثرات سمی ترکیبات مورد استفاده بر کبد محسوب می‌شود و افزایش آنها می‌تواند بیانگر

بحث

داروهای گیاهی مشتق شده از عصاره‌های گیاهی برای درمان طیف وسیعی از بیماری‌های بالینی به طور فزاینده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرند. فلاونوئیدها گروهی از ترکیبات پلی‌فنولی هستند که در میوه‌ها و سبزیجات، چای و کاکائو به وفور یافت می‌شوند (۲۶). چای سبز به عنوان منبع اصلی فلاونوئیدها می‌باشد که شامل گروه بزرگی از مواد تحت عنوان کاتچین‌ها است که این ترکیب به دلیل خواص ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی و ضد سرطانی خود به‌شدت مورد توجه قرار گرفته است (۲۶، ۲۳، ۱۹، ۴). ترکیبات پلی‌فنولی چای سبز می‌توانند به عنوان دهنده‌های الکترون عمل کنند و به دو روش آنزیمی و غیر آنزیمی، تأثیرات آنتی‌اکسیداتیو و آنتی‌پراکسیدانی از خود نشان دهند (۷).

در مطالعه حاضر پروتئین تام سرم در دو گروه تیمار دریافت‌کننده عصاره چای سبز افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت. پروتئین تام سرم از جمله شاخص‌هایی است که جهت بررسی فعالیت سیستم ایمنی مورد ارزیابی قرار می‌گیرد که شامل آلبومین و گلوبولین سرم است. یکی از

سبز منجر به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در ماهی قرمز گردید که تأییدی است بر مطالعات دیگری که به بررسی اثر این گیاه بر روی گونه‌های دیگر ماهی‌ها پرداخته‌اند. تحت شرایط آزمایشگاهی در این مطالعه، میزان مناسب استفاده از عصاره آتانولی چای سبز ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بود که با نتایج به دست آمده در مطالعه عبدل‌تواب و همکاران (۲۰۱۰) همخوانی دارد (۱).

نتیجه‌گیری کلی

تیمار با عصاره آتانولی چای سبز منجر به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در ماهی قرمز گردید که تأییدی است بر مطالعات دیگری که به بررسی اثر این گیاه بر روی گونه‌های دیگر ماهی‌ها پرداخته‌اند. توصیه می‌شود اثرات چای سبز بر روی تعداد بیشتری از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و در فواصل زمانی مختلف بررسی گردد تا مطالعه دقیق‌تری از اثر چای سبز بر سیستم آنتی‌اکسیدانی بدست آید.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز انجام گرفته است.

منابع مورد استفاده

1. Abdel-Tawwab, M., M.H. Ahmad, M.E.A. Seden and S.F.M. Sakr. 2010. Use of green tea, *Camellia sinensis* L., in practical diet for growth and protection of *Nile tilapia*, *Oreochromis niloticus* (L.), against *Aeromonas hydrophila* infection. *The Journal of the World Aquaculture Society* 41: 203-213.
2. Al-Ngada, R.S., A.M. Abdelwahab and S.M. El-Bahr. 2017. Effect of Dietary Supplementation of Green Tea (*Camellia Sinensis*) on Growth, Body Composition and Serum Biochemistry of the Asian Seabass, *Lates calcarifer* Fingerlings. *Journal of Aquaculture Research and Development* 8(11): 518-522.
3. Budanov, A.V. 2011. Stress-Responsive Sestrins Link p53 with Redox Regulation and Mammalian Target of Rapamycin Signaling. *Antioxidants & Redox Signaling* 15(6): 1679-1690.
4. Cabrera, C.; R. Artacho and R. Gimenez. 2006. Beneficial effects of green tea—A review. *Journal of the American College of Nutrition* 25: 79-99.
5. Cho, S.H.; S.M. Lee, B.H. Park, S.C. Ji, J. Lee, J. Bae and S.Y. Oh. 2007. Effect of dietary inclusion of various sources of green tea on growth, body composition and blood chemistry of the juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Fish Physiology and Biochemistry* 33: 49-57.
6. Christybabita, D., M. Divyagnaneswari and R. Dinakaran Michael. 2007. Oral administration of *Eclipta alba* leaf aqueous extract enhances the non-specific immune responses and disease resistance of *Oreochromis mossambicus*. *Fish & Shellfish Immunology* 23(4):

تخریب غشای سلولی باشد که موجب نشت این آنزیم‌ها از سیتوزول سلول‌های کبد به جریان خون می‌شود (۲)، لذا می‌توان نتیجه‌گیری کرد که عصاره چای سبز در دوزهای مورد استفاده در این مطالعه سمیتی در کبد ایجاد نمی‌کند. در مطالعاتی که بر روی سمیت چای سبز در ماهی و پستانداران انجام گرفته نتایجی مشابه مطالعه حاضر به دست آمده که تأییدی بر عدم سمیت چای سبز در مقادیر مورد استفاده بر بافت کبد می‌باشد. شکر فروش و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند تزریق داخل صفاقی 50 mg kg^{-1} ، 100 mg kg^{-1} و 200 mg kg^{-1} عصاره الکلی چای سبز به رت وistar مسموم شده با تیواستامید سبب کاهش معنی‌دار آنزیم‌های آسپارات آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز می‌گردد (۲۳). در مطالعه انجام شده توسط ال-قدا و همکاران (۲۰۱۷) میزان آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز و آسپارات آمینوترانسفراز سرم ماهیان باس‌دریائی آسیایی تغذیه شده با 10 g kg^{-1} و 20 g kg^{-1} چای سبز تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نداشت (۲).

از طرفی مالون‌دی‌آلدئید محصول ثانویه پراکسیداسیون لیپیدها بوده که به صورت مستقیم می‌تواند درجه پراکسیداسیون لیپید و به صورت غیر مستقیم سطح آسیب به سلول را نشان دهد. پراکسیداسیون لیپیدها منجر به کاهش سیالیت غشاء و از بین رفتن ساختمان و عملکرد آن می‌شود که در پاتوژنز بسیاری از بیماری‌ها دخالت دارد (۱۶). در مطالعه حاضر، میزان پراکسیداسیون لیپیدی سرم در هر دو گروه تیمار کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان داد. در تطابق با کاهش مقدار پراکسیداسیون لیپیدی، فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در هر دو گروه تیمار به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود. اثرات ضدپراکسیداسیون لیپیدی و آنتی‌اکسیدانی چای سبز در مطالعات بسیاری تأیید شده است که به عوامل مختلفی مانند تأثیر فلاونوئیدها در پاکسازی رادیکال‌های آزاد و از طرفی اپی‌کاتچین‌ها در شلاته کردن یون‌های فلزات به خصوص آهن و مس مربوط می‌باشد (۲۴). نوتاش و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند چای سبز در دوز 100 mg kg^{-1} سبب کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدی سرم و افزایش آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌گردد (۱۵). شریفی و همکاران (۲۰۱۵) به بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی چای سبز در موش‌های نر مسموم شده با تیواستامید و اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و مالون‌دی‌آلدئید در سرم این موش‌ها پرداختند و نشان دادند چای سبز سبب افزایش معنی‌دار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدی سرم می‌گردد (۲۰). در این مطالعه میزان آنزیم گلوکوتائون پراکسیداز در دو گروه تیمار تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نشان نداد. عدم کاهش این آنزیم می‌تواند به این دلیل باشد که یافته‌ها نشان داده‌اند که تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در زمان‌ها و بافت‌های مختلف از الگوی متفاوتی پیروی می‌کنند (۱۶) و در مطالعات دیگر نیز استفاده از ترکیبات مختلف در جیره غذایی ماهی‌ها در زمان‌های مختلف سبب افزایش برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گردیده در حالی‌که بر روی برخی دیگر آنزیم‌ها بی‌تأثیر بوده است. (۲۴، ۱۶، ۱۱، ۹). بنابراین اندازه‌گیری میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در فواصل زمانی مختلف پس از استفاده از چای سبز جهت بررسی بیشتر این موضوع توصیه می‌شود.

همان‌طور که در مطالعه حاضر مشاهده شد، تیمار با عصاره آتانولی چای

840-852.

7. Crespy, V and G. Williamson. 2004 . A review of the health effects of green tea catechins in in vivo animal models. *American Society of Nutrition Science* 134: 3431-3440.
8. Ebrahimi, V., A.P. Salati, H.M. Azarm and S. Hasanpour. 2015 . Effects of dietary green tea (*Camellia sinensis L*) on acute stress responses in sturgeon hybrid (Huso huso♂ × Acipenser ruthenus ♀). *Aquaculture Research*. 1–6. doi:10.1111/are.12908.
9. Han, D., S. Xie, M. Liu, X. Xiao, H. Liu, X. Zhu and Y. Yang. 2011. The effects of dietary selenium on growth performances, oxidative stress and tissue selenium concentration of gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). *Aquaculture Nutrition* 17(3): 741-749.
10. Harikrishnan, R.; C. Balasundaram and M.S. Heo. 2011 . Influence of diet enriched with green tea on innate humoral and cellular immune response of kelp grouper (*Epinephelus bruneus*) to *Vibrio carchariae* infection. *Fish and Shellfish Immunology* 30: 972-979.
11. Harikrishnan, R., C. Balasundaram, S. Javahir and M.S. Heo. 2011. Solanum nigrum enhancement of the immune response and disease resistance of tiger shrimp, *Penaeus monodon* against *Vibrio harveyi*. *Aquaculture* 318(1-2): 67-73.
12. Hwang, J.H.; S.W. Lee, S.J. Rha, H.S. Yoon, E.S. Park, K.H. Han and S.J. Kim. 2013 . Dietary green tea extract improves growth performance, body composition, and stress recovery in the juvenile black rockfish, *Sebastes schlegeli*. *Aquaculture International* 21:525-538.
13. Kuang, Y.K., X.H. Zheng, C.Y. Li, X.M. Li, D.C. Cao, G.H. Tong, W.H. LV, W. Xu, Y. Zhou, X.F. Zhang, Z.P. Sun, S. Mahboob, K.A. Al-Ghanim, J.T. Li and X.W. Sun. 2016. The genetic map of goldfish (*Carassius auratus*) provided insights to the divergent genome evolutions in the Cyprinidae family. *Scientific Reports* 6 34849, doi:10.1038/srep34849
14. Mendes, R.O., C. Cardoso and C. Pestana. 2009. Measurement of malondialdehyde in fish: A comparison study between HPLC methods and the traditional spectrophotometric test. *Food Chemistry* 112(4): 1038-1045.
15. Nootash, S.; N. Sheikhzadeh, B. Baradaran, A. Khani Oushani, M.R. Maleki Moghadam, K. Nofouzi, A. Monfaredan, L. Aghebati, F. Zare and S. Shabanzadeh. 2013 . Green tea (*Camellia sinensis*) administration induces expression of immune relevant genes and biochemical parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology* 35: 1916-1923.
16. Peng, S.H., Y. Xing, L. Riu and C. Jain Ping. 2010. Effects of nitrobenzene on liver antioxidant defence system of *Carassius auratus*. *Chemical Research in Chinese Universities* 26(2): 204-209.
17. Sasmal, D., C.S. Babu and T.J. Abraham. 2005. Effect of garlic (*Allium sativum*) extract on the growth and disease resistance of *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758). *Indian Journal of Fisheries* 52(2): 207-214.
18. Schneider, C.D., J. Barp, J.L. Ribeiro, K.A. Bello and A.R. Oliveira. 2005. Oxidative stress after three different intensities of running. *The Canadian Journal of Applied Physiology* 30: 723-734.
19. Sharangi, A.B. 2009 . Medicinal and therapeutic potentialities of tea (*Camellia sinensis*) – A review. *Food Research International* 42: 529-535.
20. Sharifi, A., N. Naghsh and N. Razmi. 2015. Evaluation of the Antioxidant Effects of Green Tea (*Camellia sinensis*) on Male Albino Mice Poisoned with Thioacetamide. *Tabari Journal of Preventive Medicine* 1(1): 19-28.
21. Sheikhzadeh, N.; K. Nofouzi, A. Delazar and A. Khani Oushani. 2011 . Immunomodulatory effects of green tea (*Camellia sinensis*) on the immune system of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology* 31: 1268-1269.
22. Sheikhzadeh, N., H. Tayefi-Nasrabadi, A. Khani Oushani and M.H. Najafi Enferadi. 2012. Effects of Haematococcus pluvialis supplementation on antioxidant system and metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry* 38: 413-419.
23. Shekarforoush, S.H., H. Aghababa, M. Azizi, S. Changizi-Ashtiyani, A. Zarei, A. Rezai and H. Yarmahmudi. 2014 . Comparative Study on the Effects of Glutathione and Green Tea Extract (*Camellia sinensis L.*) on Thioacetamide-induced Hepatotoxicity in Male Adult Wistar Rats. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences* 16(12): 15-18.
24. Tkachenko, H., N. Kuyhaluk and J. Grudniewska. 2014. Oxidative stress biomarkers in different tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to Disinfectant-CIP formulated with peracetic acid and hydrogen peroxide. *The Archives of Polish Fisheries* 22: 207-219.
25. Zhou, J., Y. Lin, H. Ji and H.Yu. 2016 . The Effect of Green Tea Waste on Growth and Health of Grass Carp (*Ctenopharyngodon idellus*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 16: 679-689.
26. Yuk Man, L., E.C. Ho Yin, H. Yu and C, Zhen Yu. 2007. Green tea catechins upregulate superoxide dismutase and catalase in fruit flies. *Molecular Nutrition and Food Research* 51: 546-554.

