Archive of SID

مروری بر اهمیت استفاده ازآنزیم فیتاز در جیره آبزیان

عابدی، س. ز.[۱،*]؛ یگانه، س.[۱]؛ مرادیان کوچکسرایی، ف.[۲]؛ اورجی، ح.[۱]

[۱] دانشجوی دکتری تکثیر و پرورش آبزیان ، گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
[۲] گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
[۳] گروه علوم پایه، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
Email: abedi10629@yahoo.com

پودرماهی یکی از منابع پروتئینی مهم در تغذیه آبزیان به خصوص گونه‌های ماهیان گوشتخوار است. افزایش تقاضا و منابع ناپایدار و قیمت بالای پودرماهی همراه با توسعه آبزی‌پروری ضرورت تحقیق برای یافتن منابع پروتئینی جایگزین را خاطر نشان می‌سازد. استفاده از پروتئین‌های گیاهی (مثل پودر سویا، کنسانتره پروتئینی سویا) به منظور جایگزینی پودرماهی در جیره آبزیان یکی از مباحث مهم در آبزی‌پروری است. دانه‌های غلات و سایر مواد و پروتئین‌های گیاهی که بخش عمده خوراک دام و طیور را تشکیل می‌دهند به طور کامل توسط جامعه هدف قابل استفاده نمی‌باشند. تمام مواد گیاهی که برای تغذیه حیوانات به کار می‌روند حاوی فسفر به شکل اسیدفیتیک یا فیتات هستند که برای حیوانات تک‌معده‌ای قابل استفاده نمی‌باشد. با این تفاسیر با محدودیت استفاده از پروتئین‌های گیاهی در جیره آبزیان روبرو هستیم، برای رفع این مشکل ازآنزیم فیتاز که زیر خانواده‌ای از فسفاتازها هستند در جیره آبزیان استفاده می‌گردد. این آنزیم‌ها با خنثی‌کردن اثر منفی فیتات بر روی پروتئین و مواد مغذی موجود در جیره حیوانات تک‌معده‌ای، میزان جذب فسفر را افزایش می‌دهند. بنابراین با توجه به اهمیت موضوع مقاله حاضر به لزوم استفاده از این آنزیم در جیره آبزیان می‌پردازد.

کلمات کلیدی: پودر ماهی، پروتئین گیاهی،آنزیم فیتاز، جیره، آبزیان

مقدمه:

یکی از راهکارهای کاهش قیمت غذا، افزایش درصد جایگزینی پروتئین های گیاهی در جیره می باشد، امروزه هر کیلو پودر ماهی ۶۰۰۰ تا ۷۰۰۰ تومان در بازار عرضه می شود. در حالیکه پروتئین های گیاهی ۱۰۰۰ تا ۲۰۰۰ تومان می باشد. اما جایگزینی تا سطح ۳۵ درصد در منابع اشاره شده. ماهیان چون دچار کمبود یا فقدان آنزیم فیتاز هستند بخاطر همین نمیتوانند فسفر جیره که به شکل فیتات می باشد را مورد استفاده قرار دهند، بنابراین باید به جیره آنزیم فیتاز اضافه نمود. اما استفاده از آنزیم‌ها قیمت خوراک را افزایش می‌دهد علاوه بر این یک راه حل کوتاه‌مدت برای حل مشکل است. یک راه حل مناسب که ممکن است بتواند چندین هدف را تأمین کند، ساخت پروبیوتیکی با قابلیت تجزیه فیتات است. این مقاله به اهمیت فسفر و دلایل جایگزینی پروتئین های گیاهی و اهمیت استفاده از آنزیم فیتاز می‌پردازد.

بالا بودن قیمت پودرماهی:

پودرماهی یکی از منابع پروتئینی مهم در تغذیه آبزیان به خصوص گونه‌های ماهیان گوشتخوار است و حاوی بهترین منابع مواد غذایی ضروری از قبیل آمینواسیدهای ضروری، اسیدهای چرب آزاد ضروری، ویتامین‌ها، موادمعدنی، جاذب‌ها و فاکتورهای رشد

www.SID.ir

Archive of SID

ناشناخته است *(7)*. افزایش تقاضا و منابع ناپایدار و قیمت بالای پودرماهی همراه با توسعه آبزی‌پروری ضرورت تحقیق برای یافتن منابع پروتئینی جایگزین را خاطر نشان می‌سازد. *(5)*

افزایش میزان پروتئین گیاهی جیره به منظور کاهش هزینه تهیه غذا:

در میان عواملی که پتانسیل جایگزینی را دارند، اجزاء گیاهی بهترین کاندید می‌باشد .*(6)* استفاده از پروتئین‌های گیاهی (مثل پودر سویا، کنسانتره پروتئینی سویا) به منظور جایگزینی پودرماهی در جیره آبزیان یکی از مباحث مهم در آبزی‌پروری است *(14)*.جایگزینی پودرماهی با پروتئین‌های گیاهی مشکلاتی از قبیل کیفیت و میزان پروتئین در منابع گیاهی داشته و نسبت به پودرماهی نامرغوتر است. اما قیمت پایین و قابلیت آسان تهیه و جایگزینی پروتئین‌های گیاهی در مقایسه با پودرماهی در اولویت است و قیمت مناسب آنها اجازه پردازش غلات برای افزایش دادن ارزش غذایی در غذای ماهیان را می‌دهد *(14)*.

اهمیت فسفر در تغذیه آبزیان :

فسفر یکی از مواد معدنی مهم برای ماهی و از ترکیبات اصلی نوکلئیک اسید، غشای سلول و استخوان می‌باشد. محتوای کم فسفر در آبهای طبیعی موجب جذب کمتر فسفر از آب توسط ماهی می‌شود. همچنین عبور فسفر هضم‌نشده از دستگاه گوارش حیوانات مشکلات آلودگی زیست‌محیطی و آب‌های سطحی را ایجاد می‌کند. بنابراین ماهی فسفر را عمدتا از غذا تأمین می‌کند *(25)* .

اهمیت استفاده از آنزیم فیتاز:

فیتات به عنوان منبع فسفر به مقدار زیاد در حیوانات تک‌معده‌ای وجود دارد ولی به علت کمبود آنزیم‌های تجزیه‌کننده، این ماده به عنوان منبع فسفر مورد استفاده قرار نمی‌گیرد. از سوی دیگر فسفر هضم‌نشده با عبور از دستگاه گوارش حیوانات، مشکلات آلودگی زیست‌محیطی و آب‌های سطحی را ایجاد می‌کند. تک معده‌ای‌ها مانند ماکیان، ماهی و انسان به دلیل فقدان یا مقدار ناکافی آنزیم‌های تجزیه‌کننده فیتات در دستگاه گوارش قادر به استفاده از این شکل آلی فسفر نیستند*(15)*.

فیتات یا فیتیک‌اسید که یکی از منابع فسفر گیاهی به شمار می‌رود، در جدول زیر منابع فسفر فیتاته گیاهی و درصد آن درج گردیده است (جدول ۱).

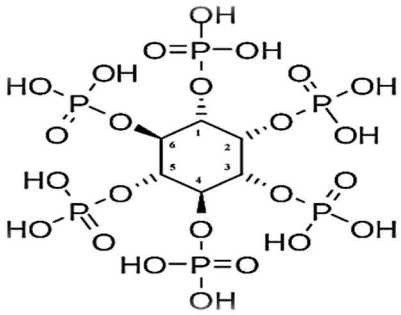
جدول ۱. میزان فسفر فیتاته در گیاهان و محصولات آنها*(19)*

	Total P (g/kg)	Phytate-P (g/kg)	Proportion (%)
Cereals			
Wheat grain	3.07	2.19	71.6
Oat	3.60	2.10	59.0
Corn grain	2.62	1.88	71.6
Barley grain	3.21	1.96	61.0
Sorghum grain	3.01	2.18	72.6
Rye	3.05	1.95	63.9
Oilseed meals			
Canola meal	9.72	6.45	66.4
Cottonseed meal	10.02	7.72	77.1
Corn glutton meal	4.24	2.67	63.0
Rapeseed meal	9.60	6.34	66.0
Soybean meal	6.49	3.88	59.9
By-products			
Rice bran	17.82	14.17	79.5
Wheat bran	10.96	8.36	76.3

www.SID.ir

Archive of SID

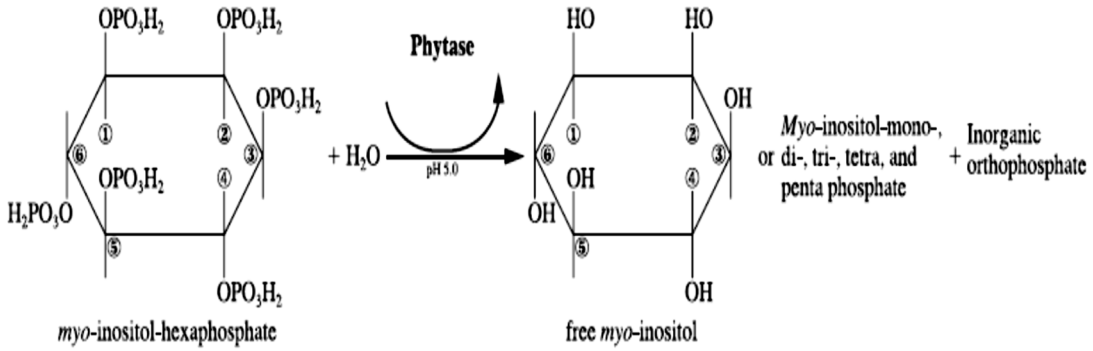
فیتات در اصل یک فاکتور ضدتغذیه‌ای است چرا که دارای اثرات منفی بر قابلیت هضم پروتئین به خصوص درحیوانات تک‌معده‌ای می‌باشد *(11)*. اسیدفیتیک (میو اینوزیتول هگزا کای فسفات) یکی از ترکیبات اصلی همه دانه‌های گیاهی بوده بطوریکه این ترکیب محتوای ۷۰-۶۰ درصد کل فسفر گیاه را شامل می‌شود *(23)* .ساختار فضایی اسیدفیتیک به جهت حضور شش گروه فسفات که دوازده بار منفی را حمل می‌کنند (شکل ۱) ، به شکل مؤثری می‌تواند با کاتیون‌ها، باندهای یگانه، دوگانه و یا سه‌گانه ایجاد کند *(21)* .این کمپلکس‌های تشکیل شده در *pH* فیزیولوژیکی نامحلول می‌باشند و این مسئله مهم‌ترین دلیل عدم جذب مواد معدنی در روده می‌باشد. اسیدفیتیک در روده حیوانات تک‌معده‌ای از قبیل جوجه و ماهی به عنوان شلات‌کننده قوی یون‌های فلزی از قبیل *P* ، *Ca2+*، *Zn2+*، *Fe2+*، *Mg2+* عمل می‌کند *(1)* .



شکل ۱. اسیدفیتیک (میو اینوزیتول هگزا کای فسفات)

همچنین اسیدفیتیک، بازدارنده آنزیم‌های تریپسین، تیروزیناز و پپسین می‌باشد *(17)*. فیتات با کاهش فعالیت آنزیم‌های هضمی موجب کاهش کارایی، فعالیت و هضم پروتئین و ویتامین‌ها می‌شود.*(16)* (شکل ۲)

نقش زیستی آنزیم‌ها در بهبود کیفیت محصولات غذایی، دارویی و بهداشتی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. فیتاز از جمله آنزیم‌های پرکاربرد در صنایع می‌باشد. فیتازها *(myo-inositol hexakisphosphate phosphohydrolase)*زیر خانواده ای از فسفاتازها هستند که فیتیک‌اسید را به اجزا کوچکتر مونو، دی، تترا و پنتا فسفات تجزیه می‌کنند (شکل ۱). همچنین این آنزیم‌ها با خنثی‌کردن اثر منفی فیتات بر روی پروتئین و مواد مغذی موجود در جیره حیوانات تک‌معده‌ای، میزان جذب فسفر را افزایش می‌دهند *(24)* استفاده از فیتاز همچنین اشتها را تحریک می‌کند و بنابراین رشد را به طور مستقیم از طریق افزایش مصرف غذا افزایش می‌دهد .*(9)* اثرات فیتاز بر قابلیت هضم به دامنه‌ای از عوامل جیره مانند منبع و غلظت فیتات در جیره، منبع و غلظت پروتئین در جیره، قابلیت هضم پروتئین، میزان مواد معدنی، مقدار کلسیم، فسفر و مقدار فیتاز مصرفی بستگی دارد *(22)*



شکل ۲: مکانیسم فعالیت فیتاز *(13)*

www.SID.ir

Archive of SID

فعالیت فیتاز تحت تأثیر فاکتورهای زیادی مثل pH ، دما، فعال‌کننده‌ها و بازدارنده‌ها می‌باشد.
فیتاز مانند سایر آنزیم‌ها جهت فعالیت آنزیمی نیازمند pH و دمای بهینه می‌باشد. به طور معمول pH بهینه ۴/۵-۶ و دمای مطلوب نیز ۴۵-۶۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. فیتاز نسبت به دما و فشار بالا حساس می‌باشد. دمای بهینه برای فیتاز میکروبی حدود ۵۶ درجه سانتی‌گراد می‌باشد *(20)*. بخش عمده فعالیت فیتاز در معده و بخش‌های ابتدایی یا بالایی روده کوچک می‌باشد. در ماهیان معده‌دار فیتاز در معده فعالیت می‌نماید. فعالیت فیتاز عمدتا در pH پایین و دمای بالا صورت می‌گیرد. بنابراین چنین فرض می‌شود که برای ایجاد اثر معنی‌دار در ماهیان سردآبی نسبت به ماهیان گرمابی نیاز به استفاده از مقدار بیشتری فیتاز می باشد*(4)*.

منابع تولید کننده فیتاز:

فیتازها به شکل طبیعی در گیاهان و میکروارگانیسم‌ها و بعضی از حیوانات یافت می‌شوند. گونه‌های مختلفی از میکروارگانیسم ها از جمله باکتری، مخمر و قارچها دارای توانایی تولیدآنزیم فیتاز می‌باشند *(18)*. تحقیقات نشان داده‌اند که تولید فیتاز میکروبی از نظر اقتصادی بسیار قابل توجه بوده و در صنعت کاربرد بسیاری دارد.

خصوصیات بیولوژیکی فیتاز ایده ال:

از خصوصیات بیولوژیکی مهم برای یک فیتاز ایده‌آل، می‌توان به مؤثربودن در آزادسازی فسفر فیتاته در دستگاه گوارش، مقاومت به غیرفعال شدن در برابر حرارت طی فرآوری خوراک، ذخیره و ارزان بودن تولید آن اشاره نمود*(12)*
با توجه به این خصوصیات، تولید صنعتی آنزیم فیتاز تنها با استفاده از میکروارگانیسم‌ها مقرون به صرفه می‌باشد، زیرا استحصال آنزیم از گیاهان و جانوران تراریخته بسیار پرهزینه و وقت‌گیر خواهد بود. از اینرو، پژوهشگران سویه‌های مختلفی از باکتری‌ها، قارچها و مخمرها را جهت تولیدآنزیم فیتاز مؤثر بر هیدرولیز اسیدفیتیک مورد آزمایش قرار دادند. در مطالعات پیشین مشخص شد که بهترین فیتاز تولید شده مربوط به دو سویه قارچی آسپرژیلوس فیکوم و آسپرژیلوس نایجر می‌باشد*(26)*. فیتازهای قارچی دارای فعالیت قابل توجهی در pH اسیدی معده می‌باشند، اما پایداری حرارتی مناسبی نداشتند *(8)* .فعالیت فیتازی در انواع مختلف باکتری‌ها نیز شناسایی شده‌اند که از جمله آن سویه‌های سودوموناس، باسیلوس سابتیلیس، باسیلوس آمیلولیکوفاسین*(B.amyloliquefaciens)* ، سویه‌های کلبسیلا، ایکولای و انترباکترها را می‌توان نام برد *(27)* .
استفاده ازآنزیم فیتاز در خوراک پلت زمانی مؤثر خواهد بود که آنزیم تحمل دمای ۶۰-۷۰ درجه سانتی‌گراد را داشته باشد. از طرفی میکروارگانیسم‌های پروکاریوت مانند باکتری‌ها، رشد سریعتری نسبت به میکروارگانیسم‌های یوکاریوت دارند و سبب کاهش چشمگیر هزینه‌های تولید می‌شوند *(3)*. جنس باسیلوس به جهت تولید خارجی به عنوان بخش اعظم آنزیم‌های صنعتی، مورد توجه پژوهشگران زیادی قرار گرفته است. یک نوع فیتاز که قابلیت فعالیت در pH قلیایی را داشت از باکتری باسیلوس سابتیلیس توسط *Kerovuo*و همکاران *(10)* جدا سازی شد. گزارشات زیادی مبنی بر تولید طبیعیآنزیم فیتاز از باکتری باسیلوس سابتیلیس وجود دارد *(4)* با این حال افزایش فعالیت آنزیم و همچنین تولید بیشترآنزیم (کاهش هزینه‌های تولید) از مهمترین اهداف پژوهشگران مختلف در این زمینه می‌باشد. بدست آوردن بیشترین سطح بیان آنزیم با بیشترین فعالیت اختصاصی، مؤثرترین راه ممکن در جهت کاهش هزینه‌ها می‌باشد.

نتیجه گیری کلی:

قیمت فسفات‌های معدنی بصورت جهانی رو به افزایش است. این مواد جهت تأمین فسفر خوراک در اشکال دی و منوکلسیم فسفات به خوراک تک‌معده‌ای‌ها اضافه می‌گردد که البته ۱۵-۲۰ درصد آن بصورت غیرقابل هضم برای حیوان است. بنابراین برای تأمین منبع فسفر جیره از مکمل‌های معدنی استفاده می‌شود یا اینکه از آنزیم‌های سنتتیک تجاری موجود در بازار باید استفاده

www.SID.ir

Archive of SID

شود. اما استفاده از آنزیم‌ها قیمت خوراک را افزایش می‌دهد علاوه بر این یک راه حل کوتاه‌مدت برای حل مشکل است. یک راه حل مناسب که ممکن است بتواند چندین هدف را تأمین کند، ساخت پروبیوتیکی با قابلیت تجزیه فیتات است. انواع مختلفی از میکروآلگ‌ها (تتراسلمیس)، مخمرها (دباریومایسس، فافیا و ساکارومایسس)، باکتری‌های گرم‌مثبت (باسیلوس، لاکتوباسیلوس و انتروکوکوس) و باکتری‌های گرم‌منفی (آئروموناس، سودوموناس و ویبریو) به عنوان پروبیوتیک بررسی شده‌اند.

منابع:

1. *Bedford, M.R., Schulze, H. (1998). Exogenous enzymes for pigs and poultry. Nutr. Res. Rev, 11, 91–114.*
2. *Cho, J., Lee, C., Kang, S., Lee, J., Lee, H., Bok, J., Woo, J., Moon, Y., Choi, Y.,(2005). Molecular cloning of a phytase gene (phy M) from Pseudomonas syringae MOK1. Current microbiology, 51, 11-15.*
3. *Choi, YM., Suh, HJ., Kim, J.M. (2001). Purification and Properties of Extracellular Phytase from Bacillus sp. KHU-10. Journal of Protein Chemistry, 4, 287-292.*
4. *Dersjant-Li, L., Awati, A., Schulze, H., and Partridge, G. (2014). Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors. Journal of the Science of Food and Agriculture, pp, 878-896.*
5. *Esfandiari, M. (2011). Effects of phytase and alternative sources of vegetable protein (Pvdrsvya and corn gluten) instead of fish meal on growth, survival, carcass quality and blood biochemical parameters Kutum (Rutilus frisii kutum). M.Sc. Thesis. Gorgan University Of Agricultural Sciences & Natural Resources.12-13.*
6. *Fontainhas-Fernandes, A., Gomes, E., Reis-Henriques, M.A., Coimbra J. (1999). Replacement of fish meal by plant protein in the diet of Nile tilapia: digestibility and growth performance. Aquaculture international, 7, 57-67.*
7. *Hardy, R.W., and Tacon, A.G.J. (2002). Fish meal–historical uses, production trends and future outlook for sustainable supplies. Pages 311-325 in Stickney R.R., and J.P.McVey, eds. Sustainable Aquaculture. CABI Publishing Co, Oxford, United Kingdom.*
8. *Han, Y., Lei, X.G. (1999). Role of glycosylation in the functional expression of an Aspergillus niger phytase (phyA) in Pichia pastoris. Archives of Biochemistry and Biophysics, 364, 83-90.*
9. *Hauler,R.C., and Carter,C.G. (1997). Phytase stimulates appetite in Atlantic salmon (Salmo salar) parr fed soybean meal.Proc.Nutr.Soc.Aust, 21, 139-145.*
10. *Kerovuo, J., Lauraeus, M., Nurminen, P., Kalkkinen, N., Apajalahti, J. (1998). Isolation, Characterization, Molecular Gene Cloning, and Sequencing of a Novel Phytase from Bacillus subtilis. Applied and Environmental Microbiology, 2, 2079–2085.*
11. *Hossain, M.A., and Jauncey, K. (1993). The effects of varying dietary phytic acid,calcium and magnesium levels on the nutrition of common carp (Cyprinus carpio).In: Fish Nutrition in Practice (Kaushik,S.J. and Luquet,P.eds),pp,705-715. Proceedings of theFourth International Symposium in Fish Nutrition and Feeding (Les colloques,no.61). Institute National de la Recherche Agronomique (INRA),Paris.*
12. *Lei, XG., Stahl, C.H. (2001). Biotechnological development of effective phytases for mineral nutrition and environmental protection. Applied Microbiology and Biotechnology, 57, 474-481.*
13. *Liu, B.L., Rafiq, A., Tzeng, Y.M., Rob, A. (1998). The induction and characterization of phytase and beyond. Enzyme and Microbial Technology, 22, 415-424.*
14. *Mabahinzireki, G.B., Dabrowski, K., Lee, K.-J., El-Saidy, D., Wisner, E.R. (2001). Growth, fed utilization and body composition of tilapia (Oreochromis) fed with cottonseed meal-based diets in a recirculating system. Aquaculture Nutrition, 7, 189–200.*

www.SID.ir

Archive of SID

15. *Mittal, A., Singh, G., Goyal, V., Yadav, A., RaiAneja, K., KumarGautam, S., et al. (2012). Isolation and biochemical characterization of acido-thermophilic extracellular phytase producing bacterial strain for potential application in poultry feed. Jundishapur J Microbiol, 4(4):-.*
16. *Nie, G.X., Li, X.J., Qiao, Z.G. (1999). Phytase and its application in fish feed. Guangdong Feed, 6, 36-38.*
17. *Niewiadomski, H. (1990). Nutritional value of rapeseed meal. In H. Niewiadomski (Ed.), Rapeseed chemistry and technology (pp.397–428). Amsterdam, The Netherlands: PWN-Polish Scientific Publishers,Warszawa and Elsevier Science Publishers.*
18. *Noureddini, H., Dang, J. (2008). Degradation of phytase in Distillers' grains and gluten feed by Aspergillus niger phytase. Appli Biochem and Biotechnol, 8, 362-5.*
19. *NRC (National Research Council,USA). (1993). Nutrient Requirements of fish.National Academy of Sciences,Washington.*
20. *Qi, Y.X., Chen, Y.L. (2004). Mechanism and the factors that influence the activity of phytase phytase. Feed Exposition, 7,10-12.*
21. *Reddy, N.R., Pierson, M.D., Sathe, S.K., Salunkhe, D.K. (1989). Phytates in cereals and legumes.Boca Raton, CRC Press, Inc.*
22. *Sugiura, S.N., Labuadan, J., Dong, F.M. (2001). Dietary microbial phytase supplementation and the utilization of phosphorus, trace minerals and protein by rainbow and soybean meal-based diets. Aquaculture Research, 32, 583-592.*
23. *Torres, J., Dominguez ,S., Cerda, M.F., et al. (2005). Solution behavior of myo-inositol hexakisphosphate in the presence of multivalent cations. Prediction of a neutral pentainagnesium species under cytosolic/nuclear conditions. J. Inorg. Biochem, 99,828-840.*
24. *Vats, P., Bhushan, B., Banerjee, U.C. (2009). Studies on the dephosphorylation of phytic acid in livestock feed using phytase from Aspergillus niger van Teighem. Biores Technol, 100, 287-291.*
25. *Wu, G.B., Shi, X.G. (2011). Phytase application in feed of channel catfish and tilapia. Feed industry, 32, 47-50.*
26. *Xuan, N.T., Hang, M.T., Thanh, V.N. (2009). Cloning and over Expression of an Aspergillus niger XP Phytase Gene (phyA) in Pichia pastoris. Engineering and Technology, 56, 750-753.*
27. *Zamudio, M., Gonza´ lez, A., and Medina, J.A., (2001). Lactobacillus plantarum phytase activity is due to nonspecific acid phosphatase.Lett. Appl. Microbiol, 32,181-189.*

www.SID.ir