

مقایسه ترکیبات شیمیایی آرتیما ارومیانا غنی شده با منابع و سطوح مختلف اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره (HUFA) در زمانهای مختلف

محمود حافظیه^{(۱)*}؛ صالح کامارودین^(۲)؛ چی رز بن سعد^(۳)؛ مصطفی کمال عبد ستار^(۴)؛ ناصر آق^(۵) و حمیرا حسین پور^(۶)

jhafezieh@yahoo.com

۱ - موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران صندوق پستی: ۱۴۱۵۵-۶۱۱۶

۲ ، ۳ و ۴ - دانشکده کشاورزی دانشگاه پوترای مالزی، شماره ۴۳۴۰۰، سردانگ، سلانگور، مالزی

۵ - مرکز تحقیقات آرتیما و سایر آبزیان دانشگاه ارومیه، صندوق پستی: ۵۷۱۵۲-۱۶۵

۶ - اداره کل آموزش و پرورش منطقه ۵ تهران، صندوق پستی: ۱۴۱۵۶-۱۴۳۵

تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۸۷ تاریخ دریافت: آذر ۱۳۸۸

چکیده

کیفیت غذایی سویه‌های تجاری آرتیما از نظر میزان آراشیدونیک اسید ARA، ایکوزاپنتانوئیک اسید EPA و مخصوصاً دکوزاهاکزانوئیک اسید DHA نسبتاً فقر می‌باشد و لازم است این غذاهای زنده با کمک امولسیونها یا روغن‌های خاص غنی شوند.

به منظور بهبود در محتوای DHA، EPA، نسبت ARA/DHA/EPA و ARA ناپلیوس آرتیما ارومیانا، امولسیون تجاری ICES30/4 ساخت بلازیک، روغن بذر کتان بعنوان روغن گیاهی، روغن کبد ماهی کاد و روغن تخدمان ماهی خاویاری بعنوان دو روغن حیوانی که در آنها میزان EPA بترتیب ۵/۲۹، ۰/۰۳، ۱۱/۳۹ و ۷/۵۵ و میزان DHA بترتیب ۲۰/۹۰، ۰/۰۰ و ۷/۶۴ و ۲/۷۶ میلی گرم در لیتر وزن خشک می‌باشد با سه غلظت (۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ واحد در میلیون) در دو زمان مختلف (۱۲ و ۲۴ ساعت) بعنوان ماده غنی ساز مورد ارزیابی قرار گرفتند.

نتایج نشان دادند که امولسیون روغن گیاهی در سطوح و زمانهای مختلف تاثیر چندانی در افزایش محتوای اسیدهای چرب فوق غیراشباع و نسبت DHA/EPA ندارند ولی روغن‌های حیوانی و امولسیون در غنی‌سازی این اسیدها تاثیر مثبت داشته، روغن تخدمان ماهی خاویاری ضعیفترین نسبت DHA/EPA (۰/۰۰ در سطح ۳۰۰ واحد در میلیون و زمان ۲۴ ساعت) و امولسیون تجاری بهترین نسبت DHA/EPA (۱/۰۰ در سطح ۳۰۰ واحد در میلیون و زمان ۲۴ ساعت) را سبب شدند. روغن کاد (۰/۵۳ در سطح ۱۰۰ واحد در میلیون و زمان ۲۴ ساعت) بهترین روغن می‌باشد که با توجه به قیمت و قابلیت دستیابی می‌تواند برای بهبود نسبت جایگزین امولسیون تجاری گردد. بطور کلی میزان HUFA در سطح ۲۰۰ واحد در میلیون و زمان ۲۴ ساعت افزایش یافت. همچنین تمام روغن‌های مورد استفاده باعث افزایش درصد پروتئین و چربی در ناپلیوس آرتیما ارومیانا گردیدند.

لغات کلیدی: HUFA، غنی سازی، آرتیما ارومیانا، ترکیبات شیمیایی

* نویسنده مسئول

مقدمه

به عنوان یک ماده پیش ساز ایکوزانوئید ها شناخته شده است (Estevez *et al.*, 1994; Castell *et al.*, 1994).

در این مطالعه ناپلیوس آرتمیا ارومیانا با یک نوع امولسیون تجاری، یک نوع روغن گیاهی و دو نوع روغن حیوانی و به منظور بهبود محتوای اسیدهای چرب غیراشبع و همچنین نسبت DHA/EPA آن که از دید بسیاری از محققین شاخص غذایی Lavens *et al.*, 1993; Dhert *et al.*, 1993 بسیار مناسبی است (Lavens *et al.*, 1995a,b).

در سطوح و زمانهای مختلف غنی شده و مورد آنالیز ترکیبات شیمیایی قرار گرفت تا سهم هر ماده، سطح و زمان مورد استفاده در فرآیند غنی سازی در افزایش پروفایل اسیدهای چرب، پروتئین و چربی کل مشخص شود. همچنین به مقایسه منابع HUFA داخلی با امولسیون تجاری وارداتی پرداخته شد تا امکان جایگزینی آنها معین گردد.

نسبت DHA/EPA شاخص مناسبی برای رشد و بقا بهتر لارو ماهیان و همچنین آرشیدونیک اسید. پیش ماده ساخت محصولات ایکوزانوئیدها می‌باشد که در بهبود رشد لاروی و فرآیند رنگدانه‌ای ماهیان دریایی مفید باشد و لازم بر آنها تاکید شود.

مواد و روش کار

سیستم *Artemia urmiana* تحت شرایط استاندارد (25 درجه سانتیگراد، ۳۰ درصد شوری و ۱۵۰۰ لوکس شدت نور) (Sargent, 1995) تفریخ گردید. ناپلیوس تازه تفریخ شده جمع‌آوری، شسته و پوسته‌های خالی از آن جدا گردید. مواد غنی ساز شامل امولسیون تجاری ICES30/4 و F1CES30/4 و روغن‌های موجود در داخل کشور، روغن تخمدان ماهی خاویاری فیل ماهی، روغن کبد ماهی کاد و روغن بذر کتان مورد استفاده قرار گرفتند.

در ۷۵ تانک ۶۰ لیتری با حجم آبگیری ۴۰ لیتر تعداد ۲۵۰ ناپلیوس آرتمیا به ازای هر لیتر تحت شرایط هوادهی شدید قرار داده شد و پس از تهیه ماده غنی ساز، ۲۴ تیمار هر یک با سه تکرار و یک گروه کنترل ناپلیوس آرتمیا غنی نشده، در طرح کاملاً نصادرفی چیده شدند.

به ازای هر ۵ میلی لیتر روغن، ۱/۵ گرم صمغ گزانیوم (عنوان امولسیفار) در ۱۰۰ میلی لیتر آب دریاچه اضافه و بخوبی مخلوط گردید. سپس ۱۰ میلی لیتر از این مخلوط به ازای

تاکنون جایگزین مناسبی بعنوان غذاهای فرموله شده برای آرتمیا بدست نیامده است و از این منظر آرتمیا همچون سایر غذاهای زنده منحصر بفرد خواهد بود. استفاده از غذاهای زنده برای تغذیه مراحل لاروی آبزیان بشدت در مراکز و سالنهای تکثیر رایج است و حجم استفاده آنها هر روز بیشتر می‌گردد. در میان غذاهای زنده موجود که مراحل لاروی در تکثیر و پرورش استفاده می‌شود، میگویی آب شور یا آرتمیا، دامنه وسیعی از استفاده را بخود اختصاص داده است.

لارو اغلب ماهیان دریایی بدلیل دهان بسیار کوچک و سیستم گوارشی ابتدایی فاقد برخی آنزیمهای قادر به دریافت هر اندازه غذا و هر کیفیت غذایی نمی‌باشند. به همین دلیل لازم و ضروری است که نه تنها تولید غذاهای زنده بلکه استراتژی تغذیه‌ای به بهترین شکل تکوین یافته باشد (Lavens *et al.*, 1995a). سیستم آرتمیا بطور مستقیم کپسول زدایی شده و ناپلیوس تازه خارج شده براحتی به تغذیه لارو آبزیان می‌رسد و از آنجا که غنی سازی آن با فیتوپلانکتونهای مغذی یا فرآوردهای تجاری براحتی امکان‌پذیر است بیشترین اطلاعات در زمینه غنی سازی در مراحل دو یا سه لاروی آن موجود می‌باشد (Danielson; Dhert *et al.*, 1993; Sorgeloos *et al.*, 1986) (et al., 1995).

همچنین کمتر مورد غنی سازی قرار گرفته است.

بنظر می‌رسد پروفایل اسیدهای چرب بخصوص PUFA یا اسیدهای چرب غیر اشباع چند باندی با زنجیره‌های بلند از جمله 20:5n-3 و 22:6n-3 نقش مهمی در کیفیت تغذیه‌ای مراحل لاروی نیز داشته باشند. در این خصوص، فیتوپلانکتونهای امولسیون‌های تجاری یا امولسیون‌هایی با روغن‌های ویژه که در آزمایشگاهها ساخته می‌شوند از طریق غذای زنده بعنوان ناقل و به منظور بهبود وضعیت پروفایل اسیدهای چرب به سیستم گوارش لارو ماهیان وارد می‌شوند. فعالیت و اهمیت دو اسید چرب ضروری ایکوزاپنتاتونیک اسید (EPA) و دیکوزا هگزانوئیک اسید (DHA)، در پرورش ماهیان دریایی، بویژه در پرورش لارو Watanabe, آنها سوالات زیادی را به همراه داشته است (1991). اسید ارشیدونیک (ARA- 20:4n-6) نیز در بهبود رشد و فرآیند رنگدانه دار شدن چندین گونه از ماهیان کاربرد داشته و

در مخازن نیتروژن مایع ۸۰ درجه سانتیگراد قرار داده شدند و تا زمان آنالیزهای آزمایشگاهی به منظور تعیین میزان ترکیبات شیمیایی شامل چربی کل (Bligh & Dyer, 1959) و اسیدهای چرب غیر فوق اشباع در شرایط انجماد نگهداری شدند.

هر لیتر محیط غنی ساز که در بر دارنده ۲۰ ناپلیوس آرتیما بود، استفاده گردید. غلظتهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ واحد در میلیون و زمانهای ۱۲ و ۲۴ برای غنی سازی مورد آزمایش قرار گرفتند. پس از غنی سازی ناپلیوس‌ها کاملاً شستشو داده شد و بلا فاصله

جدول ۱: میزان چربی کل (درصد) و اسیدهای چرب (میلی گرم در گرم وزن خشک) در امولسیون ICES30/4 و روغن تخدمان ماهی

روغن کتان	روغن کبد کاد	روغن تخدمان ماهی	روغن تخدمان ماهی	ICES 30/4
۵۰	۵۵	۵۴	۶۰	چربی کل
۰/۰۰	۷/۶۱	۰/۰۰	۰/۷۸	C20:4n6(ARA)
۰/۳۰	۱۱/۳۹	۷/۰۰	۷/۲۹	C20:5n3(EPA)
۰/۰۰	۷/۶۴	۲/۷۶	۲۰/۹۰	C22:6n3(DHA)
۰/۰۰	۰/۶۷	۰/۳۶	۳/۳۲	DHA/EPA
۲۵/۶۹	۲۷/۱۳	۲۸/۸۰	۳۲/۱۷	مجموع اسیدهای چرب اشباع
				مجموع اسیدهای چرب غیر اشباع
۲۰/۱۷	۳۵/۹۳	۴۱/۲۸	۲۱/۸۷	با یک باند دو گانه
۰/۰۰	۷/۶۱	۰/۰۰	۰/۷۸	مجموع اسیدهای چرب امگا ۶
۰/۳۰	۱۹/۰۳	۱۰/۳۱	۲۷/۱۹	مجموع اسیدهای چرب امگا ۳
-	۲/۴۰	۲/۰۶	۳۴/۸۵	۰-۳/۰-۶

یافته‌اند که با امولسیون تجاری ICES30/4 غنی شده‌اند و ارزش عددی نسبت DHA/EPA در تیمار روغن کبد ماهی کاد از نظر کمیت بالا در رتبه بعد قرار می‌گیرند (جدول ۲). نتایج بررسی میزان EPA و ARA نشان می‌دهد اختلاف معنی‌داری بین روغن گیاهی و حیوانی در افزایش میزان این اسید‌ها در ناپلیوس آرتیما ارومیانا وجود دارد ($P<0.05$). روغن بذر کتان به هیچ میزان باعث افزایش نرخ DHA/EPA نگردیده (۰/۰۰ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) و با توجه به میزان ارشیدونیک اسید در گروه کنترل (۰/۰۱ میلی‌گرم در گرم وزن خشک)، افزایش قابل توجهی را نیز در تیمار مربوطه باعث نگردید (۰/۰۶۸ میلی‌گرم در گرم وزن خشک). از طرف دیگر روغن‌های تخدمان ماهی خاویاری و کبد ماهی کاد اختلاف معنی‌داری را در افزایش درصد چربی و میزان EPA، ARA و DHA نشان نمی‌دهند در حالی که نسبت DHA/EPA بین این دو روغن اختلافاتی را نشان می‌دهند ($P<0.05$).

سطوح مختلف مواد غنی‌ساز و زمانهای مختلف غنی‌سازی در افزایش درصد چربی و بروتئین و میزان DHA، EPA، ARA و

از هر تکرار دو نمونه تصادفی انتخاب و طبق روش Metacafe and Schmitz (1961) پروفایل اسیدهای چرب آنها استخراج گردید. از اسید چرب ۱۹ کربنیه بعنوان استاندارد داخلی استفاده گردید. بعد از استریفیکاسیون و ساپونیفیکاسیون عصاره‌های استخراجی با روش FAMES متیل استر اسیدهای چرب به دستگاه گروماتوگرافی گازی (مدل واریان کانادا) تزریق گردید. از گاز هلیوم بعنوان گاز انتقالی و با سرعت ۱ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده گردید. به مدت ۷ دقیقه دما توسط آون روی ۱۸۰ درجه سانتیگراد و سپس به مرور و طی ۷۱ دقیقه به ۴۰ درجه سانتیگراد شیب افزایش دمایی در هر سه دقیقه یک درجه رسانده شد (شیب افزایش دمایی در SPSS نرم‌مال شدن و به منظور تجزیه و تحلیل آماری نتایج، از آنالیز واریانس یکطرفه (One way- ANOVA)، تست دانکن و در سطح ۹۵ درصد استفاده گردید).

نتایج

بالاترین درصد چربی و بیشترین محتوای DHA، EPA و متعاقب آنها نسبت DHA/EPA، در ناپلیوس‌هایی تجمع

آرتمیا ارومیانا نشان داد ($P<0.05$). زمانهای مختلف در افزایش میزان EPA آرتمیا با استفاده از 30/4 ICES ($P=0.02$) و روغن کبد ماهی کاد ($P=0.01$) اختلاف نشان داد.

بالاترین میزان آرشیدونیک اسید بترتیب در اثر غنی سازی با روغن کبد ماهی کاد ($1/51\pm 0/18$) ۱۰۰ ppm -۲۴h (۱۰۰ ppm -۱۲h) و زن خشک)، ($1/50\pm 0/17$) ۱۰۰ ppm -۱۲h (۱۰۰ ppm -۲۴h) میلی گرم در گرم وزن خشک)، ($1/48\pm 0/14$) ۲۰۰ ppm -۲۴h (۲۰۰ ppm -۱۲h) میلی گرم در گرم وزن خشک). بر طبق جداول ۴ و ۵، سطوح غنی سازی کلیه روغن های

تنهای اختلاف معنی دار از نظر تاثیر سطح در افزایش آرشیدونیک اسید در آرتمیا، مربوط به استفاده از روغن کبد ماهی کاد ($P=0.01$) و از نظر تاثیر زمان در افزایش این اسید، تنها استفاده از 30/4 ICES ($P=0.00$) و روغن تخدمان ماهی خاویاری ($P=0.04$) بعنوان غنی ساز اختلاف نشان می دهد.

منابع و سطوح مختلف روغن های مورد استفاده طی زمانهای مختلف بر افزایش DHA اثر داشته اند و بالاترین میزان DHA بترتیب در اثر استفاده از ICES 30/4 (300 ppm -۲۴h) (200 ppm -۲۴h) ($5/99\pm 0/10$ میلی گرم در گرم وزن خشک)، ($4/22\pm 0/10$ میلی گرم در گرم وزن خشک) می اشد. اختلافات معنی دار از نظر تاثیر سطح در افزایش DHA آرتمیا، مربوط به استفاده از ICES 30/4 ($P=0.01$) و روغن تخدمان ماهی خاویاری ($P=0.00$) و از نظر تاثیر زمان در افزایش این اسید مربوط به استفاده از ICES 30/4 ($P=0.01$) و روغن کبد ماهی کاد ($P=0.00$) می باشد.

نمودارهای ۱ تا ۴ بترتیب نوسانات درصد چربی، میزان آرشیدونیک اسید، ایکوزاپنتاتونیک اسید و دیکوزا هگزانوئیک اسید را در تیمارهای مختلف نشان می دهدند.

و همچنین نسبت DHA/EPA اختلافات معنی دار نشان داد ($P<0.05$). (جدول ۳).

براساس نتایج بدست آمده، درصدهای چربی در روغن تخدمان ماهی خاویاری با غلظت 100 ppm و زمان 24 ساعت، (300 ppm -۱۲h) ICES 30/4 می باشند ولی اختلاف معنی داری با سایر غلظتها و زمانهای این دو روغن و تیمارهای روغن کاد و بذر کتان نشان نمی دهند.

بر طبق جداول ۴ و ۵، سطوح غنی سازی کلیه روغن های مورد استفاده اختلافات معنی داری را در افزایش چربی آرتمیا ارومیانا نشان می دهد ولی زمانهای مختلف همچنانچه را درخصوص افزایش چربی کل نشان نمی دهند ($P>0.05$). بالاترین میزان چربی در آرتمیا در اثر غنی سازی با ICES 30/4 (200 ppm -۱۲h) (ppm $20/87$ درصد) بدست آمد. درصدهای چربی آرتمیا غنی شده با روغن تخدمان ماهی خاویاری ($12h$) (300 ppm -۱۹/۱۵) (۱۹/۴۵) (۳۰۰ ppm -۱۲h) ICES 30/4 و (200 ppm -۱۲h) (300 ppm -۱۹/۴۵) (۳۰۰ ppm -۱۲h) آگر چه مقادیر بالای را نشان داد ولی اختلاف معنی داری بین آنها مشاهده نشد ($P>0.05$). درخصوص EPA بین منابع و سطوح مختلف غنی ساز و زمانهای متفاوت اختلافاتی دیده شد ($P<0.05$). بالاترین میزان EPA در اثر غنی سازی با ICES 30/4 بترتیب در (300 ppm -۲۴h) ($4/97\pm 0/26$) (۲۰۰ ppm -۲۴h) ($3/93\pm 0/11$) و (200 ppm -۱۲h) ($3/41\pm 0/19$) و با روغن کبد ماهی کاد ($2/55\pm 0/06$) (۳۰۰ ppm -۲۴h) و با روغن تخدمان ماهی خاویاری ($2/27\pm 0/06$) (۲۰۰ ppm -۲۴h) دیده شد ($P<0.05$). بجز در مورد روغن کبد ماهی کاد، سطوح غنی سازی بقیه روغن های مورد استفاده اختلافات معنی دار را در افزایش EPA

جدول ۲: مقایسه اندازه گیری چربی برخی اسیدهای چرب (بر حسب میلی گرم در گرم وزن خشک) و نسبت DHA/EPA در تابلیوس ارومیانا غنی شده با منابع مختلف و گروه کنترل

DHA/EPA	DHA ± sd	ARA± sd	EPA ± sd	چربی (درصد)	نمونه ها
۰/۰۰ ^a	۰/۰۰ ^a	۰/۷۱±۰/۰۷ ^a	۰/۸۲±۰/۱۱ ^a	۱۶/۷۹ ^a	آرتمیا غنی نشده
۰/۸۳ ^c	۲/۹۳±۰/۱۳	۰/۵۸±۰/۰۸ ^a	۳/۰۱±۰/۱۰ ^c	۱۹/۵۰ ^c	امولسیون تجاری
۰/۰۰ ^a	۰/۰۰ ^a	۰/۶۸±۰/۱۰ ^a	۰/۱۱±۰/۰۲ ^a	۱۷/۹۱ ^b	روغن بذر کتان
۰/۰۴ ^a	۰/۱۷±۰/۱۰ ^b	۱/۰۵±۰/۱۴ ^b	۱/۸۵±۰/۰۹ ^b	۱۷/۴۷ ^b	روغن تخدمان خاویاری
۰/۱۷ ^b	۰/۴۷±۰/۱۰ ^b	۱/۳۴±۰/۱۰ ^b	۱/۹۴±۰/۱۰ ^b	۱۷/۹۲ ^b	روغن کبد کاد

حروف الفای انگلیسی غیر مشابه در هر ستون نشان از وجود اختلاف معنی دار است.

جدول ۳: چربی کل (بر حسب درصد وزن خشک)، ARA، EPA و DHA (بر حسب میلیگرم در گرم وزن خشک) و نسبت DHA/EPA در تیمارهای مختلف غنی سازی با متغیرهای غلظت و زمان

DHA/EPA	DHA ± sd	ARA ± sd	EPA ± sd	چربی (درصد)	غلظت / زمان	نمونه‌ها
۰/۰۰ ^a	۰/۰۰ ^a	۱/۰۵±۰/۰۹ ^d	۱/۳۷±۰/۲۰ ^{bc}	۱۴/۶۳ ^a	۱۲-۱۰۰	روغن تخدمان ماهی خاویاری
۰/۰۰ ^a	۰/۰۰ ^a	۱/۰۹±۰/۱۸ ^d	۲/۰۴±۰/۰۸ ^{de}	۱۶/۴۹ ^{bc}	۱۲-۲۰۰	روغن تخدمان ماهی خاویاری
۰/۲۰±۰/۰۵ ^b	۰/۳۸±۰/۱۳ ^b	۰/۷۸±۰/۱۰ ^{ab}	۱/۸۹±۰/۲۱ ^{cd}	۱۹/۱۵ ^{de}	۱۲-۳۰۰	روغن تخدمان ماهی خاویاری
۰/۰۰ ^a	۰/۰۰ ^a	۱/۳۲±۰/۰۴ ^{de}	۱/۸۳±۰/۰۵ ^{cd}	۱۸/۳۸ ^{cd}	۲۴-۱۰۰	روغن تخدمان ماهی خاویاری
۰/۰۰ ^a	۰/۰۰ ^a	۱/۱۳±۰/۱۰ ^{cd}	۲/۲۷±۰/۰۶ ^{de}	۱۷/۳۱ ^{bc}	۲۴-۲۰۰	روغن تخدمان ماهی خاویاری
۰/۴۰±۰/۰۷ ^b	۰/۷۹±۰/۰۵ ^b	۰/۷۷±۰/۱۲ ^{bc}	۱/۷۱±۰/۱۲ ^{bc}	۱۸/۸۶ ^{cd}	۲۴-۳۰۰	روغن تخدمان ماهی خاویاری
۰/۰۰ ^a	۰/۰۰ ^a	۰/۸۴±۰/۰۷ ^{bc}	۰/۰۰ ^a	۱۶/۳۸ ^{bc}	۱۲-۱۰۰	روغن بذر کتان
۰/۰۰ ^a	۰/۰۰ ^a	۰/۱۰±۰/۰۴ ^{ab}	۰/۰۰ ^a	۱۷/۵۲ ^{bc}	۱۲-۲۰۰	روغن بذر کتان
۰/۰۰ ^a	۰/۰۰ ^a	۰/۶۵±۰/۱۰ ^{ab}	۰/۰۰ ^a	۱۸/۹۳ ^{cd}	۱۲-۳۰۰	روغن بذر کتان
۰/۰۰ ^a	۰/۰۰ ^a	۰/۶۰±۰/۱۱ ^{ab}	۰/۰۰ ^a	۱۷/۰۰ ^{bc}	۲۴-۱۰۰	روغن بذر کتان
۰/۰۰ ^a	۰/۰۰ ^a	۰/۷۶±۰/۱۲ ^{bc}	۰/۰۰ ^a	۱۸/۲۲ ^{cd}	۲۴-۲۰۰	روغن بذر کتان
۰/۰۰ ^a	۰/۰۰ ^a	۰/۴۹±۰/۰۶ ^{ab}	۰/۷۹±۰/۰۵ ^b	۱۹/۴۵ ^{de}	۲۴-۳۰۰	روغن بذر کتان
۰/۶۳±۰/۰۸ ^{bc}	۰/۷۷±۰/۲۱ ^b	۰/۳۴±۰/۰۹ ^a	۱/۲۲±۰/۰۴ ^c	۱۸/۱۳ ^{cd}	۱۲-۱۰۰	امولسیون تجاری
۰/۸۴±۰/۲۲ ^{bc}	۱/۹۷±۰/۲۷ ^c	۰/۰۱±۰/۰۸ ^{ab}	۲/۳۶±۰/۰۹ ^{de}	۱۹/۶۷ ^{de}	۱۲-۲۰۰	امولسیون تجاری
۰/۸۰±۰/۲۳ ^{bc}	۲/۸۸±۰/۱۳ ^d	۰/۰۵±۰/۰۷ ^{ab}	۳/۴۱±۰/۰۴ ^f	۱۹/۸۹ ^{de}	۱۲-۳۰۰	امولسیون تجاری
۰/۷۹±۰/۲۰ ^{bc}	۱/۷۴±۰/۱۳ ^c	۰/۶۶±۰/۰۵ ^{ab}	۲/۱۹±۰/۱۶ ^{de}	۱۸/۶۴ ^{cd}	۲۴-۱۰۰	امولسیون تجاری
۱/۰۷±۰/۴۲ ^d	۴/۲۳±۰/۰۷ ^c	۰/۱۹±۰/۰۶ ^{bc}	۳/۹۳±۰/۱۱ ^f	۱۹/۸۳ ^{de}	۲۴-۲۰۰	امولسیون تجاری
۱/۲۰±۰/۴۸ ^d	۰/۹۹±۰/۰۷ ^f	۰/۷۳±۰/۰۵ ^{bc}	۴/۹۷±۰/۲۶ ^g	۲۰/۸۷ ^e	۲۴-۳۰۰	امولسیون تجاری
۰/۰۰ ^a	۰/۰۰ ^a	۱/۰۰±۰/۱۷ ^e	۱/۲۵±۰/۰۹ ^{bc}	۱۷/۱۰ ^{bc}	۱۲-۱۰۰	روغن کبد کاد
۰/۰۰ ^a	۰/۰۰ ^a	۱/۱۴±۰/۰۷ ^d	۱/۷۳±۰/۰۵ ^{cd}	۱۶/۹۷ ^{bc}	۱۲-۲۰۰	روغن کبد کاد
۰/۱۹±۰/۰۳ ^b	۰/۳۳±۰/۰۲ ^b	۱/۰۷±۰/۱۳ ^d	۱/۶۶±۰/۰۹ ^{cd}	۱۸/۸۲ ^{cd}	۱۲-۳۰۰	روغن کبد کاد
۰/۰۳±۰/۰۵ ^{bc}	۱/۰۶±۰/۰۷ ^c	۱/۰۱±۰/۱۸ ^e	۲/۰۰±۰/۲۰ ^{de}	۱۷/۱۳ ^{bc}	۲۴-۱۰۰	روغن کبد کاد
۰/۱۴±۰/۰۲ ^b	۰/۲۶±۰/۰۳ ^b	۱/۴۸±۰/۱۴ ^e	۱/۷۷±۰/۱۶ ^{cd}	۱۷/۹۸ ^{bc}	۲۴-۲۰۰	روغن کبد کاد
۰/۲۹±۰/۰۳ ^b	۰/۰۰±۰/۰۹ ^b	۱/۰۰±۰/۱۳ ^d	۲/۰۰±۰/۰۶ ^{de}	۱۸/۷۷ ^{cd}	۲۴-۳۰۰	روغن کبد کاد

حروف الفای انگلیسی غیر مشابه در هر ستون نشان از وجود اختلاف معنی دار است.

جدول ۴: ارزش عددی P آنالیز واریانس درصد چربی، میزان EPA، ARA، DHA در ناپلیوس آرتیما ارومیانا غنی شده در سه غلظت (۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ واحد در میلیون) روغن‌های غنی‌ساز.

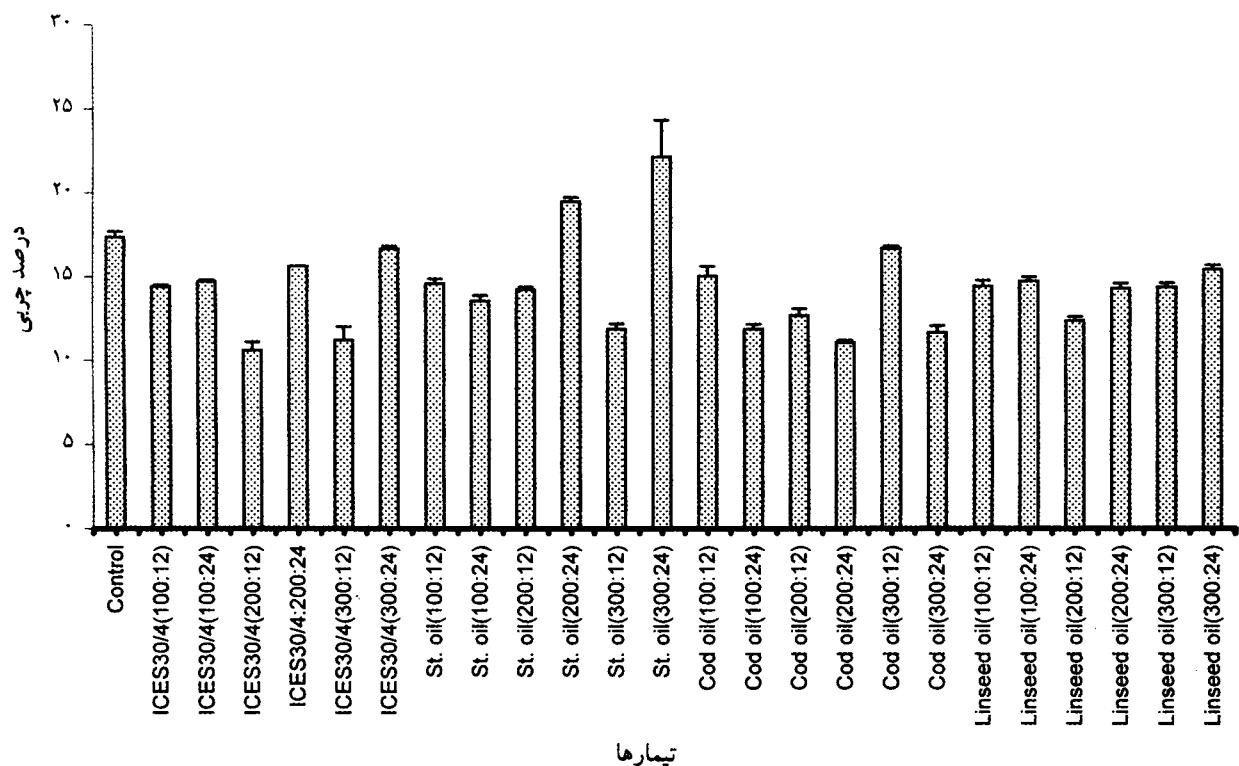
روغن بذر کتان	روغن کبد کاد	روغن تخدمان ماهی خاویاری	امولسیون	
۰/۰۰۰*	۰/۰۰۰*	۰/۰۰۸*	۰/۰۰۰*	چربی
۰/۰۲۲*	۰/۰۰۲*	۰/۰۰۵*	۰/۱۱۱	EPA
-----	۰/۰۰۲*	۰/۰۰۰*	۰/۱۲۸	DHA
۰/۰۹۷	۰/۲۲۴	۰/۱۰۱	۰/۰۰۱*	ARA

* در سطح ۹۵ درصد معنی دار

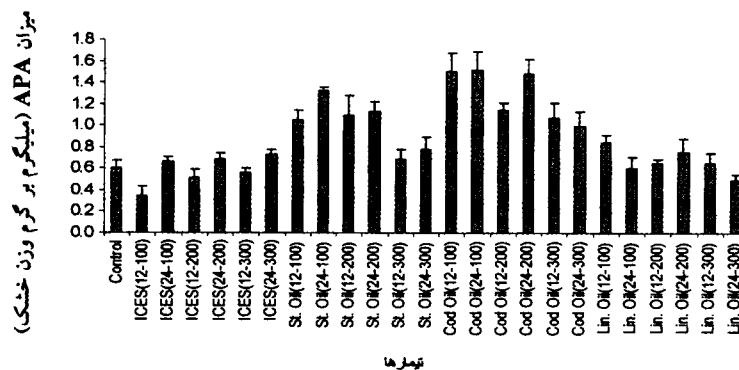
جدول ۵: ارزش عددی P آنالیز واریانس درصد چربی، میزان EPA، ARA، DHA در ناپلیوس آرتیما ارومیانا غنی شده در دو زمان (۱۲ و ۲۴ ساعت) روغن‌های غنی‌ساز

روغن بذر کتان	روغن کبد کاد	روغن تخدمان ماهی خاویاری	امولسیون	
۰/۲۰۳	۰/۲۲۹	۰/۰۶۱	۰/۴۰۷	چربی
۰/۰۶۳	۰/۰۲۵*	۰/۳۵۲	۰/۰۰۱*	EPA
-----	۰/۰۰۸*	۰/۴۵۸	۰/۰۰۰*	DHA
۰/۱۴۵	۰/۰۰*	۰/۰۴۵*	۰/۴۶۳	ARA

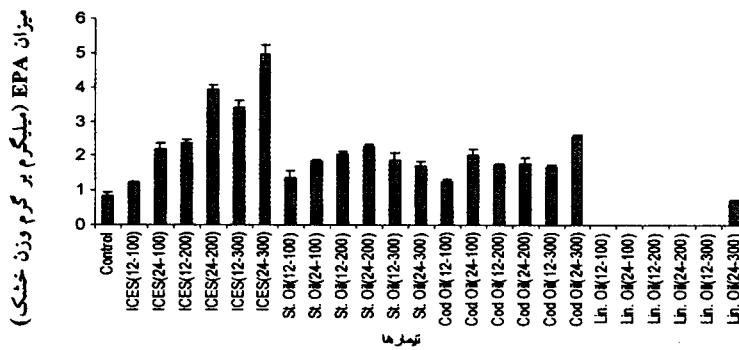
* در سطح ۹۵ درصد معنی دار



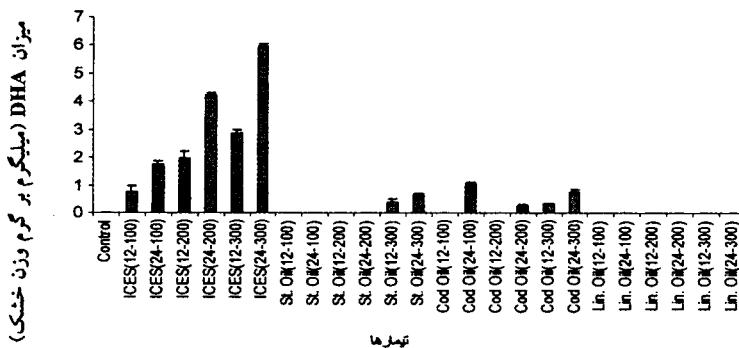
نمودار ۱: نوسانات درصد چربی کل در تیمارهای مختلف ICES30/4 روغن تخدمان ماهی خاویاری (St. oil)، روغن کبد ماهی کاد (Cod oil) و روغن بذر کتان (Linseed oil) و اعداد داخل پرانتز بترتیب ساعت غنی‌سازی (۱۲ و ۲۴ ساعت) و میزان غلظت ماده غنی‌ساز (۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ واحد در میلیون) و شاخکها نشانده‌نده انحراف معیار می‌باشند.



نمودار ۲: نوسانات میزان آراشیدونیک اسید (میلیگرم بر گرم وزن خشک) در تیمارهای مختلف روغن تخدمان ماهی خاویاری (St. oil) و روغن کبد ماهی کاد (Cod oil) و روغن بذر کتان (Lin.oil) و اعداد داخل پرانتز بترتیب ساعت غنی سازی (۱۲ و ۲۴ ساعت) و میزان غلظت ماده غنی ساز (۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ واحد در میلیون) و شاخکها نشاندهنده انحراف معیار می باشند.



نمودار ۳: نوسانات میزان ایکوزاپتاونیک اسید (میلیگرم بر گرم وزن خشک) در تیمارهای مختلف روغن تخدمان ماهی خاویاری (St. oil)، روغن کبد ماهی کاد (Cod oil) و روغن بذر کتان (Lin.oil) و اعداد داخل پرانتز بترتیب ساعت غنی سازی (۱۲ و ۲۴ ساعت) و میزان غلظت ماده غنی ساز (۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ واحد در میلیون) و شاخکها نشاندهنده انحراف معیار می باشند.



نمودار ۴: نوسانات میزان دکوزاهمگزونیک اسید (میلیگرم بر گرم وزن خشک) در تیمارهای مختلف روغن تخدمان ماهی خاویاری (St. oil)، روغن کبد ماهی کاد (Cod oil) و روغن بذر کتان (Lin.oil) و اعداد داخل پرانتز بترتیب ساعت غنی سازی (۱۲ و ۲۴ ساعت) و میزان غلظت ماده غنی ساز (۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ واحد در میلیون) و شاخکها نشاندهنده انحراف معیار می باشند.

بحث

صنعت آبزی پروری همیشه بدنیال دستیابی به تنوع منابع غذایی است تا از این طریق نه تنها به کاهش محصولات جنبی کمک نماید بلکه کیفیت را افزایش دهد (Sorgeloos *et al.*, 1986). نتایج خلاصه شده در جداول ۲ تا ۵ نشان می‌دهند که چربی و میزان DHA با غذای سازی ناپلیووس آرتمیا ارومیانا توسط امولسیون ۳۰/۴ ICES افزایش بیشتری را نسبت به سایر منابع مورد استفاده نشان می‌دهد و استفاده از روغن‌های حیوانی مراتب بعدی افزایش EPA و ARA را سبب شدند بطوريکه بيشترین ميزان آراشيدونيك اسيد با غذای سازی توسيط روغن كبد ماهی كاد در پيکره ناپلیووس بدست آمد ($1/۳۴\pm 0/۱۰$) ميلی گرم در گرم وزن خشك. همچنین مشخص شد که روغن گياهی به نسبت روغن‌های حیوانی سهم بسیار ناچیز (تا حد صفر) در افزایش ARA و EPA خواهد داشت بطوريکه اختلاف معنی‌دار در این دو گروه روغنی بدست آمد و این روغن هیچ بهبودی را در نسبت DHA/EPA بوجود نیاورد.

مطالعات نشان می‌دهند که غذاهای با منشا حیوانی به نسبت گیاهی بطور معمول اثر بیشتری را در رشد و کارآیی تغذیه‌ای از خود نشان می‌دهند (Gallagher, 1994; Kikuchi, 1999; Moyano *et al.*, 1992; Webster *et al.*, 1992) ناپلیووس به ماده غذای ساز بسیار وابسته است. همانطور که اشاره شد بالا بودن نسبت DHA/EPA بنظر می‌رسد شاخصی برای بقاء بهتر و رشد بیشتر در موجود هدف باشد. نتایج این تحقیق نشان داد که روغن بذر کتان هیچ اثری را در این نسبت بوجود نیاورد. روغن‌های دیگر مورد استفاده نیز تاثیرات مثبتی را در ميزان HUFA نشان دادند. روغن تخمدان ماهی خاویاری کمترین تاثیر و امولسیون ۳۰/۴ ICES بيشترین تاثیر را در افزایش اسیدهای چرب در ناپلیووس آرتمیا ارومیانا خواهند داشت ولی از مجموعه داده‌ها و آنالیزهای آماری در جداول ۳ و ۴ و ۳۰/۴ ICES در عدد نسبت DHA/EPA از خود نشان می‌دهند و همچنین با توجه به قابلیت دسترسی آسان روغن ماهی کاد و ارزان قیمت بودن آن نسبت به امولسیون تجاری وارداتی بنظر می‌رسد گزینه خوبی برای جایگزینی امولسیون به منظور بهبود نسبت فوق در غذای لاروی آبزیان باشد. عدد این نسبت در تیمار روغن کبد ماهی کاد با غلظت ۱۰۰ واحد در میلیون و زمان ۲۴ ساعت ($0/۸۳\pm 0/۰۵$) می‌باشد که نزدیک به ۵۰ درصد برآیند

آبزیان بخصوص انواع دریایی باشد. ولی نکته قابل تأمل و توجه نوسانات و تغییرات بدست آمده از نتایج افراد مختلفی که با مواد غنی ساز و سویه‌های همسان آرتمیا کار کرده‌اند نشان از نوعی خطاها یا اختصاصات فردی در انجام فرآیند غنی‌سازی دارد استاندارد تا حدودی می‌تواند به رفع این نقصه کمک کند ولی همیشه باقی خواهد ماند.

تشکر و قدردانی

از موسسه تحقیقات شیلات ایران بدليل حمایت مالی از این پژوهش و پژوهشکده آرتمیا و سایر آبزیان دانشگاه ارومیه بدليل امداده‌سازی تجهیزات و امکانات لازم کمال تشکر را داریم.

منابع

- Bligh, E.G. and Dyer, W.J. , 1959.** A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, Vol. 37, pp.911–917.
- Castell, J.D. ; Bell, J.G. ; Tocher, D.R. and Sargent, J.R. , 1994.** Effects of purified diets containing different combinations of arachidonic and docosahexaenoic acid on survival, growth and fatty acid composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). Aquaculture, Vol. 128, pp.315–333.
- Danielson, T.L. ; Evjemo, J.O. and Olsen, Y. , 1995.** Stability of short term enriched n-3 fatty acid in *Artemia* during starvation at different temperatures. European Aquaculture Society Special Publication, Vol. 24, pp.128–131.
- Dhert, P. ; Sorgeloos, P. and Devresse, B. , 1993.** Contributions towards a specific DHA enrichment in the live food *Brachionus plicatilis* and *Artemia sp.* In: Fish Farming Technology, pp.109-115. Netherland.

1993 (al.) و حتی دیده شده این سویه‌ها در نگهداری این اسید طی مدت گرسنگی قابلیت بیشتری نسبت به بقیه سویه‌ها دارد (Evjemo et al., 1997). به همین دلیل فرآیند غنی‌سازی می‌باشد روی کلیه سویه‌ها و بطور جداگانه مورد تجزیه و تحلیل قرار گیرد با این امید که بهترین سویه، بهترین ماده غنی‌ساز، بهترین غلظت و زمان مورد استفاده برای غنی‌سازی بدست آید. بنظر می‌رسد آرتمیا ارومیانای شبیه به آرتمیا فرانسیسکانا، قابلیت متابولیسم DHA را دارد. در اوایل دهه ۲۰۰۰ کمیت عددی ۲ برای نسبت دو اسید فوق بهتر از کمیت گذشته شناخته شد (Kikuchi, 1999 ; Lavens et al., 1995a,b) و لذا در اصول غنی‌سازی امروزی به این نکته توجه خاص می‌شود. در آزمایشات حاضر، حداقل نسبت DHA/EPA (۱/۲۰) در اثر غنی‌سازی آرتمیا با امولسیون تجاری در سطح ۳۰ واحد در میلیون و زمان ۲۴ ساعت بدست آمد که اگر چه تا رسیدن به عدد ۲ فاصله دارد اما می‌تواند منشاً تاثیر مثبت بر رشد و بازماندگی و سایر ناهنجاری‌ها باشد. مجدداً تأکید می‌گردد که نویسنده‌گان به موضوع سختی بالا بردن عدد این نسبت در آرتمیا با توجه به تجزیه DHA طی رشد و گرسنگی آرتمیا اشاره نموده‌اند. (Evjemo, ;Dhert et al., 1993) et al., 1997). مشکل دیگر که نیاز به توجه دارد اینکه روغن‌های جدید مورد استفاده، برخی اوقات دارای DHA بالا هستند ولی میزان EPA آنها نیز بالا است و این خود دلیل محکمی بر کاهش قابل ملاحظه نسبت DHA/EPA خواهد بود.

کارهای انجام شده توسط Koven و همکاران در سال ۲۰۰۰ نشان داد که در کنار DHA نه تنها HUFA سری امگا ۳ بسیار مهم هستند بلکه همچنین آراشیدونیک اسید نیز بسیار مهم می‌باشد. تاثیر این اسید در بهبود رشد لارو چند گونه ماهی دریایی و فرآیند رنگدانه دار شدن آنها توسط نویسنده‌گان Castell et al., 1994 (Estevez et al., 1997) در این مطالعه نشان داده شد که بیشترین میزان آراشیدونیک اسید ناشی از غنی‌سازی آرتمیا با روغن کبد ماهی کاد (۱/۵۱) در سطح ۱۰۰ واحد و زمان ۲۴ ساعت بدست آمد و این موضوع نیز در جایگزینی این روغن به جای امولسیون وارداتی توجیه اقتصادی خواهد داشت.

سرانجام اینکه بدون هیچ شک و ابهامی، تغییرات افزاینده در میزان پروفایل اسیدهای چرب بخصوص انواع ضروری آنها در پیکره آرتمیا می‌تواند نقطه موثری در رشد و بازماندگی لارو

- Evjemo, J.O. ; Coutteau, P. ; Olsen, Y. and Sorgeloos, P. , 1997.** The stability of docosahexaenoic acid in two *Artemia* species following enrichment and subsequent starvation. *Aquaculture*, Vol. 155, pp.135–148.
- Estevez, A. ; Ishikawa, M. and Kanazawa, A. , 1997.** Effects of arachidonic acid on pigmentation and fatty acid composition of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* (Temminck and Schlegel). *Aquaculture Research* , Vol. 28, pp.279–289.
- Gallagher, M.L. , 1994.** The use of soybean meal as a replacement for fish meal in diets for hybrid striped bass, *Morone saxatilis* x *M. chrysops*. *Aquaculture*, Vol. 126, pp.119–127.
- Hanaee, J. ; Agh, N. ; Hanaee, M. ; Delazar, A. and Sarker, S.D. , 2005.** Studies on the enrichment of *Artemia urmiana* cysts for improving fish food value. *Animal Feed Science and Technology*, Vol. 120, pp.107-112.
- Kikuchi, K. , 1999.** Partial replacement of fish meal with corn gluten meal in diets for Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Journal of World Aquaculture Society*, Vol. 30, pp.357–363.
- Koven, W. ; Barr, Y. ; Lutzky, S. ; Ben-Atia, I. ; Harel, M. ; Behrens, P. ; Weiss, R. and Tandler, A. , 2000.** The effect of dietary arachidonic acid (20:4n-6)on growth and survival prior to and following handling stress in the larvae of Gilthead Sea bream (*Sparus aurata*). Abstracts of contributions presented at the International Conference Aqua 2000. European Aquaculture Society, Special Publication No. 28, Ostende, Belgium, 346P.
- Lavens, P. ; Coutteau, P. and Sorgeloos, P. , 1995.** Laboratory and field variation in HUFA enrichment of *Artemia* nauplii. In: (eds. P. Lavens, E. Jaspers and I. Roelants). Larvi '95, European Aquaculture Society, Special Publication No. 24, Gent, Belgium, pp.137–140.
- Lavens, P. ; Sorgeloos, P. ; Dhert, P. and Devresse, B. , 1995a.** Larval foods. In: Broodstocks Management and Egg and Larval Quality (eds N.R. Bromage and R.J. Roberts), pp.373-397. Blackwell Science, Oxford.
- Lavens, P. ; Coutteau, P. and Sorgeloos, P. , 1995b.** Laboratory and field variation in HUFA enrichment of *Artemia* nauplii. European Aquaculture Society Special Publication, Vol. 24, pp.137–140.
- Léger, P. ; Sorgeloos, P. ; Millamena, O.M. and Simpson, K.L. , 1985a.** International study on *Artemia*: XXV. Factors determining the nutritional effectiveness of *Artemia*: The relative impact of chlorinated hydrocarbons and essential fatty acids in San Francisco Bay and San Pablo Bay Artemia. *Journal of Experiment Marine Biology and Ecology*, Vol. 93, pp.71–82.
- Leger, P. ; Bengston, D.A. ; Simpson, K.L. and Sorgeloos, P. , 1986.** The use and nutritional value of *Artemia* as a food source. *Oceanography Marine Biology*, Vol. 24, pp.521-623.
- Lisac, D. ; Franicevic, V. ; Vejmelka, Z. ; Buble, J. ; Léger, P. and Sorgeloos, P. , 1986.** International study on *Artemia*: XLIII. The effect of live food fatty acid content on growth and survival of sea bream (*Sparus aurata*. Larvae). pp.1–10 Paper presented at the Conference Ichthyopathology in Aquaculture, Vol. 1, pp.21–24, October 1986, Dubrovnik, Yugoslavia.

- Metcalfe, L.D. and Schmitz, A.A. , 1961.** The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis. *Analysis of Chemistry*, Vol. 33, 363P.
- Mourente, G. ; Rodriguez, A. and Sargent, J.R. , 1993.** Effects of dietary docosahexaenoic acid (DHA; 22:6n-3) on lipid and fatty acid composition and growth in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L). Larvae during first feeding. *Aquaculture*, Vol. 112, pp.79–98.
- Moyano, F.J. ; Cardenete, G. and De la Higuera, M. , 1992.** Nutritive value of diets containing high percentage of vegetable proteins for trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquatic Living Resources*, Vol. 5, pp.23-29.
- Reitan, K.I. ; Rainuzzo, J.R. and Olsen, Y. , 1994.** Influence of lipid composition of live feed on growth, survival and pigmentation of turbot larvae. *Aquaculture International*, Vol. 2, pp.33–48.
- Sorgeloos, P. ; Lavens, P. ; Leger, P. ; Tackaert, W. and Versichele, D. 1986.** FAO manual for the culture of Brine shrimp *Artemia* in Aquaculture. University of Ghent, ed., Ghent. 128P.
- Sargent, J.R. , 1995.** Origins and functions of egg lipids: Nutritional implications. In: *Broodstocks management and egg and larval quality*, (eds. N.R. Bromage and R.J. Roberts), pp.353-372. Blackwell Science, Oxford.
- Triantaphyllidis, G.V. ; Coutteau, P. and Sorgeloos, P. , 1995.** The stability of n-3 highly unsaturated fatty acids in various *Artemia* populations following enrichment and subsequent starvation. In: Lavens, P., Jaspers, E., Roelants, I. ŽEds., Larvi '95: Fish and Shellfish Larviculture Symposium. European Aquaculture Society, Special Publication No. 24, Gent, Belgium, pp.149–153.
- Watanabe, T. ; Kitajima, C. and Fujita, S. , 1983.** Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: A review. *Aquaculture*, Vol. 34, pp.115–143.
- Watanabe, T. , 1991.** Importance of DHA (docosahexaenoic acid) in marine larval fish. European Aquaculture Society Special Publication, Vol. 15, 19P.
- Webster, C.D. ; Tidwell, J.H. ; Goodgame, L.S. ; Yancey, D.H. and Mackey, L. , 1992.** Use of soybean meal and distillers grains with solubles as partial or total replacement of fish meal in diets for channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, Vol. 106, pp.301–307.

A comparative study of proximate composition of *Artemia urmiana* enriched with different sources and levels of HUFA

Hafezieh M.^{(1)*}; Kamarudin S.⁽²⁾; Che Rose Bin Saad⁽³⁾; Mostafa Kamal⁽⁴⁾;
Agh N.⁽⁵⁾ and Hosseinpour H.⁽⁶⁾

jhafezieh@yahoo.com

1- Iranian Fisheries Research Organization, P.O.Box: 14155-6116 Tehran, Iran

2,3,4- Agriculture Faculty of Putra University, No. 43400, Serdang, Selangor, Malaysia

5- Artemia and Aquatic Animal Research Center, Urmia University, P.O.Box: 57153-165 Urmia, Iran

6- Main Office of Education and Teaching of area 5, P.O.Box: 14156-1435 Tehran, Iran

Received: December 2008

Accepted: April 2009

Keywords: HUFA, *Artemia urmiana*, Proximate composition

Abstract

The nutritional quality of commercially available *Artemia* strains is relatively poor in Eicosapentaenoic acid (EPA), Arachidonic acid (ARA) and especially Docosahexaenoic acid (DHA). Hence, it is essential and common practice to enrich this live prey with emulsions of special oils. One commercial ICES30/4 (Belgium), Linseed oil as a vegetable oil, Cod liver oil and Sturgeon ovary oil as two animal oils with EPA amounts in these oils were 6.29, 0.03, 11.39, 7.55 and the DHA amounts were 20.90, 0.00, 7.64, 2.76 respectively with three concentrations (100, 200 and 300ppm) during two enrichment periods (12 and 24h) were tested in order to improve the HUFA content, the DHA/EPA ratio and ARA content of *Artemia urmiana* nauplii.

The results showed that *Artemia* enriched with different levels of vegetable oil and enrichment periods was poor in relation to either HUFA content and DHA/EPA ratio but the fish oils and emulsion resulted in HUFA incorporation. Sturgeon ovary oil caused the poorest DHA/EPA ratio enrichment (0.40 in 300ppm-24h) but the commercial emulsion (ICES30/4) was found as the best for DHA/EPA ratio enrichment (1.20 in 300ppm-24h). Cod liver oil (0.53 in 100ppm-24h) can be a good internal source substitute for improving the DHA/EPA ratio enrichment compared to ICES30/4 due to price and availability. As a result, HUFA content was increased with enrichment level 200ppm during 24h. Also, all oil sources improved lipid and protein percentages in *A. urmiana* nauplii.

* Corresponding author