

## تأثیر نوع غنی‌ساز و مدت زمان آن بر محتوای غذایی ناپلیوس آرتمیا ارومیا (*Artemia urmiana*)

شهرام دادگر\*<sup>۱</sup>، محمود حافظیه<sup>۱</sup>

۱- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۴۹-۱۴۹۶۵

تاریخ دریافت: ۲ تیر ۱۳۹۳

تاریخ پذیرش: ۶ آبان ۱۳۹۳

### چکیده

آرتمیا موجودی است که به عنوان غذای زنده در آبرزی پروری کاربردهای فراوانی دارد ولی در حالت طبیعی از لحاظ اسیدهای چرب غیر اشباع ارزش غذایی چندانی نداشته و لذا باید غنی‌سازی شود. در این مطالعه، تأثیر اسیدهای چرب فوق غیر اشباع، سطوح مختلف ویتامین ث و زمان‌های مختلف بر ترکیب بیوشیمیایی ناپلیوس آرتمیا ارومیا (*Artemia urmiana*) مورد بررسی قرار گرفت. سیستم آرتمیا ارومیا در شرایط استاندارد تفریح و توسط یک امولسیون تجاری و یک روغن ماهی داخلی همراه با سه سطح ویتامین ث طی دو زمان غنی‌سازی و در ۸۰- درجه سانتی‌گراد فریز و سپس میزان ویتامین ث و اسیدهای چرب آن‌ها مورد آنالیز قرار گرفتند (دو فاکتور اصلی منابع روغنی تجاری ICES30/4 و یک نوع روغن داخلی از تخمدان ماهی خاویاری، سه سطح ویتامین ث ۱۰، ۲۰ و ۳۰٪ و دو زمان جداگانه غنی‌سازی، ۱۲ و ۲۴ ساعت جمعاً ۲۴ تیمار هر یک با سه تکرار). نتایج نشان داد که تجمع ویتامین ث و اسیدهای چرب به خصوص انواع فوق غیر اشباع در ناپلیوس آرتمیای غنی شده با هر دو روغن به شکل معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش داشته است ( $P < 0.05$ )، هر چند در امولسیون تجاری مکمل شده با ۲۰٪ ویتامین ث بهتر از روغن ماهی خاویاری بود همچنین عملکرد در گروه ۲۴ ساعت غنی‌سازی بسیار بهتر از ۱۲ ساعت غنی‌سازی بود ( $P < 0.05$ ).

**کلمات کلیدی:** آرتمیا ارومیا (*Artemia urmiana*)، مدت زمان غنی‌سازی، مواد غنی‌ساز، زمان غنی‌سازی.

## مقدمه

اسید آسکوربیک (یک شکل از ویتامین ث) یکی از ترکیبات ضروری افزودنی به غذا چه در شکل غذاهای فرموله و چه در غذاهای زنده می‌باشد (Merchie *et al.*, 1995c). تحقیقات اخیر روی اثر این ویتامین بر رشد لاروی و افزایش مقاومت به تنش‌های محیطی، تأیید کننده اهمیت این ترکیب غذایی به‌ویژه در دوره لاروی است (Merchie *et al.*, 1995b; Hari and Kurup, 2002; Moe *et al.*, 2005). ویتامین ث به‌شکل مستقیم به غذاهای فرموله افزوده می‌شود ولی در مورد غذاهای زنده باید از روش‌های غنی‌سازی برای افزودن این ویتامین به موجود استفاده نمود. روش‌های غنی‌سازی در غذاهای زنده از جمله روتیفر و آرتیمیا و استفاده از شکل خاصی از ویتامین ث محلول در چربی (آسکوربیل پالمیتات AP که لیپوفیلک مشتقی از آسکوربیک اسید و شکل پایداری از ویتامین ث است) تثبیت شده است. سالن‌های هجری آبزبان از این روش غنی‌سازی برای افزایش میزان ویتامین مورد نظر در غذای زنده و متعاقب آن لارو آبی استفاده می‌کنند. همچنین به‌دلیل کمبود برخی از اسیدهای چرب غیر اشباع در آرتیمیا تاکید شده است که آرتیمیا به‌عنوان غذای زنده در آبی پروری و به‌خصوص در مراحل لاروی، با اسیدهای چرب غیر اشباع امگا سه در مورد آبزبان آب شور و امگا شش برای انواع آب شیرین غنی شوند (حافظیه و حسین پور، ۱۳۸۹).

هدف از این مطالعه تعیین اثر ویتامین ث به شکل AP با درصد‌های مختلف همراه با روغن‌های حاوی اسیدهای چرب غیر فوق اشباع بر ارزش غذایی ناپلیوس آرتیمیا و تعیین تأثیر اسیدهای چرب غیر اشباع با ویتامین

ث بر میزان ویتامین ث و اسیدهای چرب در ناپلیوس آرتیمیا بود.

## مواد و روش‌ها

سیست آرتیمیا ارومیانا در شرایط انکوباسیون استاندارد (دمای آب ۲۸ درجه سانتی‌گراد، شوری ۳۰ گرم در لیتر، pH=۸ و شدت نور ۲۰۰۰ لوکس) (Van Sttappen, 1996) در تانک‌های مخروطی ۳۰۰ لیتری با هوادهی شدید تفریخ شدند و بعد از ۲۴ ساعت با کمک روش جذب نوری ناپلیوس‌ها جمع‌آوری، شسته و بلافاصله به ۳۹ عدد ظروف غنی‌ساز مخروطی ۲ لیتری (۳۰۰ ناپلیوس در هر میلی‌لیتر آب)، محتوی ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر روغن‌های مورد استفاده (امولسیون ICES30/4 و روغن تخمدان ماهی خاویاری) و درصد‌های مختلف آسکوربیل پالمیتات (۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد) به‌عنوان ویتامین ث محلول در چربی منتقل شدند و با استفاده از روش استاندارد غنی‌سازی (Von Elert, 2002) به‌مدت ۱۲ و ۲۴ ساعت غنی شدند اختصار 10:12: ICES30/4 به‌معنی استفاده از امولسیون تجاری با ۱۰ درصد مکمل ویتامین ث و ۱۲ ساعت غنی‌سازی و به‌ترتیب تا 30:24: ICES30/4 که به‌معنی استفاده از امولسیون تجاری با ۳۰ درصد مکمل ویتامین ث و ۲۴ ساعت غنی‌سازی و اختصار 10:12: Sturgeon به‌معنی استفاده از روغن تخمدان ماهی خاویاری با ۱۰ درصد مکمل ویتامین ث و ۱۲ ساعت غنی‌سازی به‌ترتیب تا 30:24: Sturgeon به‌معنی استفاده از روغن تخمدان ماهی خاویاری با ۳۰ درصد مکمل ویتامین ث و ۲۴ ساعت غنی‌سازی می‌باشد. ICES30/4 یک امولسیون تجاری ساخت شرکت INVE کشور بلژیک است که به‌دلیل وجود اسیدهای چرب امگا ۳ بالا

FAME با کمک دستگاه GC مدل DANI-1000 و دکتور FID انجام گرفت. ستون مورد استفاده BPX 70 با طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر بود و از گاز هلیم به‌عنوان ناقل و تحت فشار ۱۰۰ کیلو پاسکال استفاده شد. دمای دکتور و انژکتور به ترتیب ۲۶۰ و ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد انتخاب و شیب دمایی ۱۸۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه با افزایش ۴ درجه در هر دقیقه، تا مرز ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد رسانده و به مدت ۲۰ دقیقه در این دما نگهداشته شد. سپس منحنی‌های به‌دست آمده از اسیدهای چرب مختلف بر روی مونیور اتصالی به دستگاه TGC با استاندارد داخلی C18:0 مقایسه گردید.

به‌منظور تحلیل آماری داده‌ها از آنالیز واریانس سه فاکتوریل استفاده شد و برای مقایسه میانگین گروه‌های تیماری که دارای اختلاف معنی‌دار بودند، از آزمون توکی در سطح ۹۵ درصد، با کمک برنامه آماری SPSS نسخه ۱۴ استفاده گردید.

### نتایج

ضمن اندازه‌گیری میزان اسیدهای چرب (1-g mg چربی) در امولسیون ICES30/4 و روغن تخمدان ماهی خاویاری جدول ۱، متوسط چربی کل بر حسب درصد وزن خشک، ویتامین ث بر حسب میکروگرم بر گرم وزن خشک و اسیدهای چرب بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک ناپلیوس آرتمیای غنی شده با روغن‌ها، غلظت‌های مختلف ویتامین ث طی دو زمان ۱۲ و ۲۴ ساعت در جدول‌های ۲ الی ۴ آورده شده است.

اختلاف معنی‌داری بین روغن‌ها در تجمع ویتامین ث در آرتمیای به‌دست آمد ( $P < 0/05$ ). امولسیون ICES30/4 حداکثر میزان ویتامین را در پیکره ناپلیوس آرتمیای پدید آورد ( $67/00 \pm 767/46$  میکروگرم بر گرم وزن خشک).

(DHA و EPA) با روغن تخمدان ماهی خاویاری که یک روغن ماهی با قابلیت تولید آسان در سالن‌های تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری و میزان بالای EPA و ARA است، قابل مقایسه می‌باشد. محلول غنی‌ساز با امولسیون پلی‌سوربات روغن‌ها و آب شیرین طبق روش (Ako et al., 1994) و سپس اضافه کردن میزان درصد آسکوربیل پالمیتات نسبت به کل میزان محلول به‌صورت روزانه آماده شد تا در طی روزهای آزمایش محلول غنی‌ساز تازه در اختیار باشد. تیمارهای آرتمیای غنی شده شامل: آرتمیای غنی شده با ICES30/4 به ترتیب همراه با ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد آسکوربیل پالمیتات طی دو زمان غنی‌سازی ۱۲ و ۲۴ ساعت (شش گروه)، آرتمیای غنی شده با روغن تخمدان ماهی خاویاری با همان درصدهای آسکوربیل پالمیتات طی دو زمان غنی‌سازی ۱۲ و ۲۴ ساعت (شش گروه) و یک گروه کنترل که ناپلیوس آرتمیای غنی نشده و گرسنه بود. همه تیمارهای آزمایشی و کنترل با سه تکرار مورد آزمایش قرار گرفته و سپس میزان چربی کل، پروتئین، ویتامین ث و اسیدهای چرب در آن‌ها اندازه‌گیری شد. در پایان ۱۲ و ۲۴ ساعت غنی‌سازی بخشی از نمونه‌های هر تکرار تیمارها به تانک نیترژن -۸۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شد تا در زمان آزمایشات مورد آنالیز قرار گیرند. میزان ویتامین ث با کمک دستگاه HPLC مدل Kenauer اندازه‌گیری گردید.

اندازه‌گیری اسیدهای چرب با استخراج چربی از آرتمیای از طریق فرآیند صابونی شدن با ۲ گرم NaOH در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول (Folch et al., 1957) و آماده‌سازی متیل استر اسیدهای چرب (FAME) به‌وسیله ترانس استریفیکاسیون با بور نیتروفلوراید (BF3) در متانول (Metacalf and Schmitz, 1961) و اندازه‌گیری

معنی داری نداشتند ( $P > 0/05$ ) ولی سطوح ویتامین ث، زمان‌های غنی‌سازی و تیمارهای ترکیبی بر میزان مجموع این اسیدهای چرب تأثیر معنی‌دار نشان داد ( $P < 0/05$ ) به طوری که ۱۰ درصد ویتامین ث به‌عنوان بهترین سطح ( $46/85 \pm 1/77$  میلی‌گرم بر گرم وزن خشک)، ۱۲ ساعت به‌عنوان بهترین زمان غنی‌سازی ( $47/40 \pm 2/56$  میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و تیمار ترکیبی روغن تخمدان ماهی خاویار همراه با ۱۰ درصد ویتامین ث طی ۱۲ ساعت غنی‌سازی بهترین تیمار ( $51/48 \pm 2/80$  میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و بیشترین میزان اسیدهای چرب غیر اشباع با یک باند دوگانه در ناپلیوس آرتیمیا مشاهده گردید.

روغن‌ها، زمان‌های غنی‌سازی به‌عنوان فاکتورهای اصلی و تیمارهای ترکیبی بر نرخ DHA/EPA تأثیر معنی‌دار داشتند ( $P < 0/05$ ) ولی سطوح ویتامین ث تأثیر معنی‌داری بر این نسبت در آرتیمیا نشان نداد. امولسیون ICES30/4 با ایجاد نسبت  $0/49 \pm 0/03$  به‌عنوان بهترین منبع روغن، زمان ۲۴ ساعت با ایجاد نسبت  $0/42 \pm 0/03$  به‌عنوان بهترین زمان غنی‌سازی و تیمار ترکیبی امولسیون ICES30/4 همراه با ۳۰ درصد ویتامین ث طی ۲۴ ساعت غنی‌سازی بهترین تیمار ترکیبی تشخیص داده شد ( $0/60 \pm 0/03$ ).

همه فاکتورهای اصلی و تیمارهای ترکیبی بر نرخ  $\omega3/\omega6$  در ناپلیوس آرتیمیا تأثیر معنی‌دار نشان دادند ( $P < 0/05$ ). ICES30/4 با ایجاد نسبت  $5/70 \pm 0/24$ ، سطح ۳۰ درصد ویتامین ث با ایجاد نسبت  $4/63 \pm 0/13$ ، زمان ۲۴ ساعت با ایجاد نسبت  $4/73 \pm 0/20$  و تیمار ترکیبی ICES30/4 همراه با ۳۰ درصد ویتامین ث طی ۲۴ ساعت غنی‌سازی با ایجاد نسبت  $6/29 \pm 0/24$  به‌عنوان بهترین فاکتورهای اصلی و تیمار ترکیبی به‌دست آمدند.

بین سطوح مختلف ویتامین ث ( $P < 0/05$ ) و دو زمان غنی‌سازی ( $P < 0/05$ ) نیز اختلاف معنی‌داری وجود داشت. غلظت ۲۰ درصد ویتامین ث بهترین غلظت ( $839/33 \pm 81/13$  میکروگرم بر گرم وزن خشک) و زمان ۲۴ ساعت بهترین زمان غنی‌سازی ( $824/96 \pm 56/31$  میکروگرم بر گرم وزن خشک) برای انباشتگی ویتامین ث در آرتیمیا به‌دست آمد. تیمار ترکیبی امولسیون ICES30/4 همراه با ۲۰ درصد ویتامین ث و طی ۲۴ ساعت غنی‌سازی با انباشتگی ماکزیمم ویتامین ث ( $1063/76 \pm 48/00$  میکروگرم بر گرم وزن خشک) به‌عنوان بهترین تیمار انتخاب که با بقیه تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان داد. میزان ویتامین ث در گروه کنترل با حداقل میزان ( $294/30 \pm 35/21$  میکروگرم بر گرم وزن خشک) اختلاف معنی‌داری با بقیه تیمارها نشان داد ( $P < 0/05$ ).

روغن‌ها به‌عنوان فاکتور اصلی بر میزان چربی در ناپلیوس آرتیمیا تأثیر معنی‌داری داشتند ( $P < 0/05$ ) و روغن تخمدان ماهی خاویاری ( $19/63 \pm 1/36$  درصد) حداکثر میزان چربی را در ناپلیوس آرتیمیا به‌دست داد حال آن‌که دو فاکتور اصلی دیگر یعنی درصد‌های ویتامین ث و زمان‌های غنی‌سازی و همچنین تیمارهای ترکیبی اختلاف معنی‌داری را در میزان چربی ناپلیوس نشان نداد ( $P > 0/05$ ).

روغن‌ها، سطوح ویتامین ث، زمان‌های غنی‌سازی و تیمارهای ترکیبی هیچ‌کدام تأثیر معنی‌داری بر میزان مجموع اسیدهای چرب اشباع ناپلیوس آرتیمیا نداشتند ( $P > 0/05$ ).

جدول آنالیز واریانس نشان داد که روغن‌ها بر میزان مجموع اسیدهای چرب غیر اشباع با یک باند دوگانه تأثیر

جدول ۱: میزان اسیدهای چرب در امولسیون ICES30/4 و روغن تخمدان ماهی خاویاری (mg g-1 چربی)

| روغن تخمدان ماهی خاویاری (درصد) | ICES 30/4 (درصد) | چربی کل  |
|---------------------------------|------------------|--|
| ۵۴                              | ۶۰               | چربی کل  |
| ۵/۰۰                            | ۰/۷۸             | C20:4n6 (ARA)                                  |
| ۷/۵۵                            | ۶/۲۹             | C20:5n3 (EPA)                                  |
| ۲/۷۶                            | ۲۰/۹۰            | C22:6n3 (DHA)                                  |
| ۰/۳۶                            | ۳/۳۲             | DHA/EPA  |
| ۲۸/۸۰                           | ۳۲/۱۷            | مجموع اسیدهای چرب اشباع                        |
| ۴۱/۲۸                           | ۲۱/۸۷            | مجموع اسیدهای چرب غیر اشباع با یک باند دو گانه |
| ۵/۰۰                            | ۰/۷۸۶            | مجموع اسیدهای چرب امگا                         |
| ۱۰/۳۱                           | ۲۷/۱۹            | مجموع اسیدهای چرب امگا ۳                       |
| ۲/۰۶                            | ۳۴/۸۵            | $\omega$ -3/ $\omega$ -6                       |

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار میزان چربی کل، ویتامین ث و اسیدهای چرب در تیمارهای ناپلیوس آرتمیا ارومیا

## گروه غنی شده با امولسیون ICES30/4

| ICES30/4:30:24           | ICES30/4:30:12           | ICES30/4:20:24           | ICES30/4:20:12           | ICES30/4:10:24           | ICES30/4:10:12           | شاهد        | نمونه                                |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------|--------------------------------------|
| ۱۵/۹۴±۱.۲۹               | ۱۵/۵۳±۱.۰۷               | ۱۶/۶۶±۰.۳۳               | ۱۶/۶۳±۱.۹۵               | ۱۶/۱۷±۰.۷۰               | ۱۶/۵۰±۰.۹۵               | ۲۲/۳۱±۰.۶۳  | چربی (% وزن خشک)                     |
| ۹۷۱/۸±۶۶.۱۲d             | ۷۰۰/۸±۵۰.۰۰c             | ۱۰۶۳/۸±۴۸.۰۰c            | ۷۳۶/۵±۶۱.۰۰c             | ۶۲۲/۳±۳۵.۹۹c             | ۵۱۰/۱±۴۰.۰۱b             | ۲۹۴/۳±۳۵.۲۱ | Vit.C (μg/g DW)                      |
|                          |                          |                          |                          |                          |                          |             | اسیدهای چرب<br>(میلی گرم بر گرم وزن) |
| ۲/۰۰±۰.۱۱                | ۲/۳۸±۰.۱۲                | ۲/۴۳±۰.۲۰                | ۲/۴۱±۰.۲۰                | ۲/۳۰±۰.۲۰                | ۲/۵۸±۰.۲۰                | ۰/۸۹±۰.۱۰   | C20:4n6(ARA)                         |
| ۷/۸۳±۰.۴۷ <sup>d</sup>   | ۶/۴۳±۰.۱۸ <sup>bc</sup>  | ۸/۰۹±۰.۳۳ <sup>d</sup>   | ۶/۶۱±۰.۳۳ <sup>c</sup>   | ۶/۸۹±۰.۵۳ <sup>cd</sup>  | ۵/۸۲±۲.۲۸ <sup>bc</sup>  | ۱/۰۷±۰.۱۴   | C20:5n3 (EPA)                        |
| ۴/۱۷±۰.۳۷ <sup>c</sup>   | ۳/۸۴±۰.۵۷ <sup>bc</sup>  | ۴/۰۶±۰.۱۹ <sup>bc</sup>  | ۳/۰۳±۰.۲۸ <sup>bc</sup>  | ۳/۴۹±۰.۴۰ <sup>bc</sup>  | ۲/۲۹±۰.۳۹ <sup>b</sup>   | ۰/۰۰±۰.۰۰   | C22:6n3 (DHA)                        |
| ۰/۵۳±۰.۰۴ <sup>c</sup>   | ۰/۶۰±۰.۰۳ <sup>d</sup>   | ۰/۵۰±۰.۰۳ <sup>c</sup>   | ۰/۴۶±۰.۰۳ <sup>bc</sup>  | ۰/۵۱±۰.۰۲ <sup>c</sup>   | ۰/۳۹±۰.۰۲ <sup>bc</sup>  | ۰/۰۰±۰.۰۰   | DHA/EPA                              |
| ۳۳/۹۵±۲.۸۹ <sup>ab</sup> | ۳۲/۳۹±۲.۶۹ <sup>ab</sup> | ۳۶/۲۸±۳.۵۶               | ۲۶/۵۸±۳.۷۸               | ۳۱/۸۸±۱.۸۲               | ۲۷/۲۳±۲.۱۱               | ۲۴/۵۵±۱.۷۳  | مجموع اسیدهای چرب<br>اشباع           |
| ۴۶/۰۳±۴.۲۵               | ۴۳/۹۲±۲.۹۹               | ۴۰/۵۱±۲.۱۱ <sup>ab</sup> | ۴۸/۳۹±۴.۶۵ <sup>ab</sup> | ۴۴/۴۶±۲.۶۵ <sup>ab</sup> | ۴۵/۵۹±۲.۶۵ <sup>ab</sup> | ۴۷/۰۴±۳.۹۰  | مجموع اسیدهای چرب<br>غیر اشباع       |
|                          |                          |                          |                          |                          |                          |             | با یک باند دو گانه                   |
| ۱۲/۰۰±۰.۸۴ <sup>c</sup>  | ۱۰/۲۸±۰.۷۵ <sup>d</sup>  | ۱۲/۴۱±۰.۵۰ <sup>c</sup>  | ۹/۶۴±۰.۶۱ <sup>cd</sup>  | ۱۰/۳۸±۰.۹۲ <sup>d</sup>  | ۸/۱۱±۰.۶۲ <sup>c</sup>   | ۱/۰۷±۰.۱۵   | مجموع اسیدهای چرب<br>امگا ۳          |
| ۶/۲۹±۰.۲۴ <sup>c</sup>   | ۵/۶۹±۰.۲۳ <sup>d</sup>   | ۶/۰۲±۰.۲۳ <sup>d</sup>   | ۵/۱۱±۰.۲۰ <sup>d</sup>   | ۵/۶۹±۰.۲۰ <sup>d</sup>   | ۵/۴۱±۰.۲۱ <sup>d</sup>   | ۱/۲۱±۰.۱۰   | $\omega$ 3/ $\omega$ 6               |

میانگین اعداد در هر ردیف با حروف متفاوت اختلاف معنی دار آماری را نشان می دهد ( $P < 0.05$ )

جدول ۳: میانگین و انحراف معیار میزان چربی کل، ویتامین ث و اسیدهای چرب در تیمارهای ناپلیوس آرتمیا ارومیانا گروه

غنی شده با روغن تخمدان ماهی خاویاری

| ICES30/4:30:24           | ICES30/4:30:12            | ICES30/4:20:24           | ICES30/4:20:12            | ICES30/4:10:24            | ICES30/4:10:12           | نمونه   |
|--------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|---|
| ۲۰/۰۰±۱/۲۲               | ۱۹/۴۵±۰/۷۷                | ۲۰/۷۱±۱/۰۰               | ۲۰/۰۰±۲/۲۳                | ۱۹/۲۹±۰/۷۸                | ۱۸/۰۷±۰/۸۳               | چربی (% وزن خشک)                                  |
| ۸۷۳/۸±۸۳/۰۰ <sup>d</sup> | ۶۰۴/۲±۸۰/۱۱ <sup>bc</sup> | ۹۱۷/۸±۷۸/۲۲ <sup>d</sup> | ۶۳۹/۲±۸۹/۱۲ <sup>bc</sup> | ۶۰۸/۷±۶۰/۰۲ <sup>bc</sup> | ۴۱۰/۳±۶۳/۰۲ <sup>a</sup> | Vit.C (µg/g DW)                                   |
|                          |                           |                          |                           |                           |                          | اسیدهای چرب<br>(میلی گرم بر گرم وزن خشک)          |
| ۱/۹۰±۰/۱۱                | ۱/۸۱±۰/۱۲                 | ۲/۲۳±۰/۲۱                | ۱/۸۹±۰/۱۳                 | ۱/۸۲±۰/۲۰                 | ۱/۴۹±۰/۱۰                | C20:4n6(ARA)                                      |
| ۶/۳۶±۰/۴۳ <sup>bc</sup>  | ۵/۰۹±۰/۱۶ <sup>bc</sup>   | ۶/۱۴±۰/۲۷ <sup>bc</sup>  | ۴۲/۵±۰/۳۶ <sup>bc</sup>   | ۴/۸۱±۰/۶۲ <sup>b</sup>    | ۳/۱۸±۰/۳۹ <sup>a</sup>   | C20:5n3 (EPA)                                     |
| ۱/۶۱±۰/۳۰ <sup>ab</sup>  | ۱/۰۴±۰/۲۰ <sup>ab</sup>   | ۲/۲۲±۰/۳۱ <sup>ab</sup>  | ۱/۶۸±۰/۶۴ <sup>ab</sup>   | ۱/۹۹±۰/۱۴ <sup>ab</sup>   | ۱/۰۰±۰/۱۱ <sup>a</sup>   | C22:6n3 (DHA)                                     |
| ۰/۲۵±۰/۰۲ <sup>ab</sup>  | ۰/۲۰±۰/۰۲ <sup>a</sup>    | ۰/۳۶±۰/۰۳ <sup>b</sup>   | ۰/۳۱±۰/۰۲ <sup>b</sup>    | ۰/۴۲±۰/۰۲ <sup>bc</sup>   | ۰/۳۱±۰/۰۳ <sup>b</sup>   | DHA/EPA   |
| ۲۹/۰۱±۱/۰۸               | ۳۳/۴۲±۱/۸۲                | ۳۴/۲۱±۲/۶۹               | ۳۴/۸۴±۲/۳۰                | ۳۳/۱۸±۱/۵۹                | ۳۳/۲۵±۱/۷۵               | مجموع اسیدهای چرب اشباع                           |
| ۴۰/۳۹±۳/۱۵ <sup>a</sup>  | ۴۶/۷۴±۳/۰۹ <sup>ab</sup>  | ۴۳/۷۷±۵/۰۱ <sup>ab</sup> | ۴۸/۲۹±۲/۸۶ <sup>ab</sup>  | ۴۹/۸۹±۲/۵۵ <sup>ab</sup>  | ۵۱/۴۸±۲/۸۰ <sup>b</sup>  | مجموع اسیدهای چرب غیر اشباع<br>با یک باند دو گانه |
| ۷/۹۷±۰/۷۴ <sup>bc</sup>  | ۶/۱۳±۰/۳۶ <sup>b</sup>    | ۸/۳۶±۰/۵۸ <sup>c</sup>   | ۷/۱۰±۱/۰۰ <sup>bc</sup>   | ۶/۸۰±۰/۷۵ <sup>bc</sup>   | ۴/۱۷±۰/۵۰ <sup>a</sup>   | مجموع اسیدهای چرب امگا ۳                          |
| ۳/۹۹±۰/۲۰ <sup>c</sup>   | ۲/۵۵±۰/۱۸ <sup>b</sup>    | ۳/۴۴±۰/۲۱ <sup>bc</sup>  | ۲/۹۳±۰/۱۳ <sup>b</sup>    | ۲/۹۶±۰/۱۲ <sup>b</sup>    | ۱/۶۱±۰/۱۰ <sup>a</sup>   | ω 3/ω6  |

میانگین اعداد در هر ردیف با حروف متفاوت اختلاف معنی دار آماری را نشان می دهد ( $P < 0.05$ )

جدول ۴: میانگین و انحراف معیار میزان چربی کل، ویتامین ث و اسیدهای چرب در فاکتورهای اصلی منابع روغنی، سطوح مختلف ویتامین

ث و زمان های مختلف غنی سازی ناپلیوس آرتمیا ارومیانا

| زمان های غنی سازی         |                           | درصد های ویتامین ث        |                           |                           | منابع روغن                |                           |   |
|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---|
| ۲۴ ساعت                   | ۱۲ ساعت                   | ۳۰ درصد                   | ۲۰ درصد                   | ۱۰ درصد                   | روغن خاویاری              | ICES30/4                  |   |
| ۱۸/۳۲±۱/۹۶ <sup>x</sup>   | ۱۷/۷۲±۲/۱۰ <sup>x</sup>   | ۱۷/۶۸±۲/۱۸ <sup>m</sup>   | ۱۸/۵۴±۲/۴۲ <sup>m</sup>   | ۱۷/۸۵±۱/۴۱ <sup>m</sup>   | ۱۹/۶۳±۱/۳۶ <sup>b</sup>   | ۱۶/۴۷±۱/۰۵ <sup>a</sup>   | چربی کل (% وزن خشک)                               |
| ۸۴۳/۰۰±۵۶/۳۱ <sup>y</sup> | ۶۰۰/۱۰±۳۷/۳۹ <sup>x</sup> | ۷۸۷/۶۰±۷۰/۲۰ <sup>n</sup> | ۸۳۹/۳۳±۸۱/۱۳ <sup>m</sup> | ۵۳۷/۸۵±۵۴/۲۳ <sup>m</sup> | ۶۷۵/۶۰±۵۵/۱۱ <sup>a</sup> | ۷۶۷/۵۰±۶۷/۰۰ <sup>a</sup> | ویتامین ث (میکرو گرم<br>بر گرم وزن خشک)           |
|                           |                           |                           |                           |                           |                           |                           | اسیدهای چرب (میلی گرم بر<br>گرم وزن خشک)          |
| ۲/۱۱±۰/۲۰ <sup>x</sup>    | ۲/۰۹±۰/۱۸ <sup>x</sup>    | ۲/۰۲±۰/۲۱ <sup>m</sup>    | ۲/۲۴±۰/۱۷ <sup>m</sup>    | ۲/۰۵±۰/۱۵ <sup>m</sup>    | ۱/۸۵±۰/۲۲ <sup>a</sup>    | ۲/۳۵±۰/۲۱ <sup>b</sup>    | C20:4n6 (ARA)                                     |
| ۶/۶۸±۰/۲۹ <sup>y</sup>    | ۵/۴۲±۰/۱۸ <sup>x</sup>    | ۶/۴۲±۰/۲۰ <sup>n</sup>    | ۵/۵۶±۰/۲۱ <sup>m</sup>    | ۵/۱۷±۰/۳۰ <sup>m</sup>    | ۵/۱۶±۰/۳۷ <sup>a</sup>    | ۶/۹۴±۰/۳۵ <sup>b</sup>    | C20:5n3 (EPA)                                     |
| ۲/۹۱±۰/۱۸ <sup>x</sup>    | ۲/۱۴±۰/۲۳ <sup>x</sup>    | ۲/۶۶±۰/۲۴ <sup>m</sup>    | ۲/۷۴±۰/۲۳ <sup>m</sup>    | ۲/۱۸±۰/۱۶ <sup>m</sup>    | ۱/۵۸±۰/۲۸ <sup>a</sup>    | ۳/۴۷±۰/۳۵ <sup>b</sup>    | C22:6n3 (DHA)                                     |
| ۰/۴۲±۰/۰۳ <sup>x</sup>    | ۰/۳۷±۰/۰۲ <sup>x</sup>    | ۰/۳۹±۰/۰۳ <sup>m</sup>    | ۰/۴۰±۰/۰۳ <sup>m</sup>    | ۰/۴۰±۰/۰۲ <sup>m</sup>    | ۰/۳۰±۰/۰۲ <sup>a</sup>    | ۰/۴۹±۰/۰۳ <sup>b</sup>    | DHA/EPA   |
| ۳۳/۰۸±۱/۵۱ <sup>y</sup>   | ۳۱/۲۸±۱/۷۱ <sup>x</sup>   | ۳۲/۱۹±۱/۴۱ <sup>m</sup>   | ۳۲/۹۷±۲/۲۲ <sup>m</sup>   | ۳۱/۳۸±۱/۲۱ <sup>m</sup>   | ۳۲/۹۸±۲/۰۳ <sup>a</sup>   | ۳۱/۳۸±۲/۸۰ <sup>a</sup>   | مجموع اسیدهای چرب اشباع                           |
| ۴۴/۱۷±۲/۲۰ <sup>x</sup>   | ۴۷/۴۰±۲/۵۶ <sup>y</sup>   | ۴۴/۲۷±۲/۲۴ <sup>m</sup>   | ۴۵/۲۴±۳/۱۲ <sup>m</sup>   | ۴۷/۸۵±۱/۷۷ <sup>m</sup>   | ۴۶/۷۶±۳/۲۴ <sup>b</sup>   | ۴۴/۸۱±۳/۹۰ <sup>a</sup>   | مجموع اسیدهای چرب<br>غیر اشباع با یک باند دو گانه |
| ۹/۶۵±۰/۴۸ <sup>y</sup>    | ۷/۵۶±۰/۴۲ <sup>x</sup>    | ۹/۰۹±۰/۴۴ <sup>n</sup>    | ۹/۳۶±۰/۴۴ <sup>n</sup>    | ۷/۳۶±۰/۴۶ <sup>m</sup>    | ۶/۷۵±۰/۶۵ <sup>a</sup>    | ۱۰/۴۶±۰/۷۰ <sup>b</sup>   | مجموع اسیدهای چرب امگا ۳                          |
| ۴/۳۳±۰/۲۰ <sup>y</sup>    | ۳/۸۸±۰/۲۱ <sup>x</sup>    | ۴/۶۲±۰/۱۵ <sup>n</sup>    | ۴/۳۷±۰/۱۳ <sup>m</sup>    | ۳/۹۱±۰/۱۵ <sup>m</sup>    | ۲/۹۱±۰/۲۱ <sup>a</sup>    | ۵/۷۰±۰/۲۴ <sup>b</sup>    | ω-3/ω-6   |

میانگین اعداد در هر ردیف با حروف متفاوت اختلاف معنی دار آماری را نشان می دهد ( $P < 0.05$ )

## بحث

نتایج نشان داد که برای افزودن ارزش غذایی آرتمیا ارومیا، سطح ویتامین ث در آن با بهره‌گیری از آسکوربیل پالمیتات باید افزایش یابد بیشترین تجمع این ویتامین زمان استفاده از امولسیون ICES30/4 با ۱۰٪ ویتامین ث و طی ۲۴ ساعت غنی‌سازی به‌دست آمد. نتایج مشابهی از مطالعات Dabrowski, 1991; Nelis *et al.*, 1994; Merchie *et al.*, 1995a موضوع را تأیید می‌کنند. همچنین در مطالعه‌ای روی روتیفر، تجمع این ویتامین در بدن آن زمانی که از غذای زنده (ریز جلبک کلرلا) غنی شده با ویتامین ث اسکوریک اسید استفاده گردید، شش برابر نسبت به روتیفر معمولی تغذیه شده با کلرلا غنی نشده بود (Merchie *et al.*, 1995a). در مطالعه حاضر ۲۰٪ بهترین میزان ویتامین ث جمعی در آرتمیا به‌وجود آورد که با یافته‌های Kolkovski و همکاران (۲۰۰۰) همخوانی دارد ولی Merchie و همکاران (1995a) میزان ۳۰ درصد ویتامین ث را بهترین درصد غنی‌سازی مطرح نمودن که دلیل این تضاد، احتمالاً اختلاف گونه آرتمیا و نوع ویتامین ث مصرفی بوده است. همچنین بهترین زمان غنی‌سازی ۲۴ ساعت به‌دست آمد که با یافته‌های Kolkovski و همکاران (۲۰۰۰) مطابقت دارد. بهره‌گیری از روغن‌های مصرفی، مکمل شده با سطوح مختلف ویتامین ث طی دو زمان غنی‌سازی نتوانست تأثیر معنی‌داری بر میزان چربی آرتمیا به‌وجود آورد که این موضوع با یافته‌های Kolkovski و همکاران (۲۰۰۰) و Aragao و همکاران (۲۰۰۴) تفاوت نشان می‌دهد. از دلایل این تفاوت، اختلاف در گونه آرتمیا و سطوح انتخاب شده روغن جهت غنی‌سازی می‌باشد که قبلاً نیز مشابه این دلایل توسط

Ibeas و همکاران (۱۹۹۴) گزارش شده بود. همچنین روش‌های مختلف غنی‌سازی که توسط Dhert و همکاران (۱۹۹۳) مطرح شده ممکن است از دلایل این اختلاف باشد.

در خصوص بهره‌گیری از روغن‌های غنی از HUFA، نقش آن‌ها در افزایش اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره در بافت آبزی هدف و از جمله آرتمیا گزارش‌های متعددی وجود دارد که نتایج بسیاری از آن‌ها از جمله تحقیقات انجام گرفته توسط هاری و کروپ (۲۰۰۲)، کولکوسکی و همکاران (۲۰۰۰)، آگیره و گاتلین (۱۹۹۹)، آلبرکشتاین و همکاران (۱۹۸۸)، گاپاسین و همکاران (۱۹۹۸)، مرچی و همکاران (1995a, 1995b, 1997)، مرچه و همکاران (۱۹۹۶)، مرچه و همکاران (۱۹۹۷)، مونترو و همکاران (۱۹۹۹)، ارتونو و همکاران (۲۰۰۱)، ارتونو و همکاران (۱۹۹۹)، رینوزو و همکاران (۱۹۹۷)، ردی و رامش (۱۹۹۶) و سادوفسکی و همکاران (۲۰۰۰) و نیز بنیاراتپالین و همکاران (۱۹۹۴) با نتایج این مطالعه همخوانی دارد. امولسیون ICES30/4 روغن تخمدان ماهی خاویاری مکمل شده با ویتامین ث توانستند میزان DHA، EPA و ARA را در ناپلیوس آرتمیا افزایش دهند هر چند Merchie و همکاران (۱۹۹۵a) نشان داده بودند که ویتامین ث اضافی مکمل در روغن‌های HUFA نمی‌تواند بر میزان اسیدهای چرب غیر اشباع ناپلیوس آرتمیا اثر گذارد. در این بین امولسیون ICES30/4 نسبت به روغن تخمدان ماهی خاویاری تجمع بیشتر DHA را در بدن ناپلیوس آرتمیا به‌دست داد (۲۰/۹۰ میلی‌گرم در هر گرم وزن خشک آرتمیا غنی شده با امولسیون تجاری در مقایسه با ۲/۷۶ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک آرتمیا غنی شده با

7. Dabrowski, K., 1991. Some aspects of ascorbate metabolism in developing embryos of the brine shrimp. *Canadian Journal of Fish Aquaculture Science*, 48, 1905-1908.
8. Dąbrowski, K., 1994. Primitive Actinopterygian fishes can synthesize ascorbic acid. *Experientia*, 50, 745-748.
9. Dhert, Ph., Sorgeloos, P., Devresse, B., 1993. Contributions towards a specific DHA enrichment in the live food *Bruchionus plicatilis* and *Artemia* sp. In: Reinertsen, H., Dahle, L.A., Jorgensen, L. and K. Tvinnereim (eds.), *Fish Farming Technology*. Balkema, Rotterdam, Netherlands, 109-115
10. Gapasin, R.S.J., Bombeo, R., Lavens, P., Sorgeloos, P., Nelis, H., 1998. Enrichment of live food with essential fatty acids and vitamin C: effects on milkfish (*Chanos chanos*) larval performance. *Aquaculture*, 162, 269-286.
11. Hari, B., Kurup, B.M., 2002. Vitamin C (ascorbyl 2 polyphosphate) requirement of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Asian Fisheries Society*, Manila, the Philippines. *Asian Fisheries Science*, 15, 145-154.
12. Kolkovski, S., Czesny, S., Yackey, C., Moreau, R., Cihla, F., Mahan, D., Dabrowski, K., 2000. The effect of vitamin C and E in (n-3) highly unsaturated fatty acid-enriched *Artemia* nauplii on growth, survival, and stress resistance of freshwater walleye (*Stizostedion vitreum*) larvae. *Aquaculture Nutrition*, 6, 199-20.
13. Li, Y., Lovell, R.T., 1985. Elevated levels of dietary ascorbic acid increase immune responses in channel catfish. *Journal of Nutrition*, 115, 123-131.
14. Merchie, G., Lavens, P., Dhert, Ph., Dehasque, M., Nelis, H., De Leenheer, A., Sorgeloos, P., 1995a. Variation of ascorbic acid content in different live food organisms. *Aquaculture*, 134, 325-337.
15. Merchie, G., Lavens, P., Dhert, Ph., Pector, R., Mai Soni, A.F., Abbs, M., Nelis, H., De Ollevier, F., Leenheer, A., Sorgeloos, P., 1995b. Live food mediated vitamin C transfer to *Dicentrarchus labrax* and *Clarias gariepinus*. *Journal of Applied Ichthyology*, 11, 336-341.
16. Merchie, G., Lavens, P., Radull, J., De Nelis, H., Leenheer, A., Sorgeloos, P., 1995c. Evaluation of vitamin C-enriched artemia nauplii for larvae of the giant freshwater prawn. *Aquaculture International*, 3, 355-363.
17. Merchie, G., Lavens, P., Storch, V., Ubel, U., De Nelis, H., Leenheer, A., Sorgeloos, P., 1996. Influence of dietary vitamin C dosage on turbot *Scophthalmus maximus* and European

روغن تخمدان ماهی خاویاری). با توجه به یافته‌های حاصله، بهترین پروتوکل غنی‌سازی ناپلیوس آرتمیا در این بررسی، استفاده از ICES30/4 مکمل شده با ۲۰ درصد ویتامین ث و ۲۴ ساعت غنی‌سازی مطرح گردید.

### سپاسگزاری

بدین وسیله نویسندگان این مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از همکاران مرکز تحقیقات آرتمیا و سایر آئزبان دانشگاه ارومیه به دلیل انجام آزمایشات آنالیز شیمیایی آرتمیا اعلام می‌دارند.

### منابع

۱. حافظیه، م.، حسین پور، ح. ۱۳۸۹. استفاده از ناپلیوس آرتمیا ارومیانا غنی شده با روغن‌های حاوی HUFA در پرورش لارو تاسماهی ایرانی. *مجله علمی شیلات ایران*، ۳، ۴۰-۲۹.
2. Aguirre, P., Gatlin, D.M., 1999. Dietary vitamin C requirement of red drum *Sciaenops ocellatus*. *Aquaculture Nutrition*, 5, 247-249.
3. Ako, H., Tamaru, C.S., Bass, P., Lee, C.S., 1994. Enhancing the resistance to physical stress in larvae of *Mugil cephalus* by the feeding enriched *Artemia* nauplii. *Aquaculture*, 122, 81-90.
4. Albrektsen, S., Lie, O., Sandnes, K., 1988. Ascorbyl palmitate as a dietary vitamin C source for rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, 71, 359-368.
5. Boonyaratpalin, M., Boonyaratpin, S., Supamataya, K., 1994. Ascorbyl-phosphate-Mg as a dietary vitamin C source for sea bass *Lates calcarifer*. In: Proc. 3rd Asian Fisheries Forum (Chou, L.M., Munro, A.D., Lam, T.J., Chen, T.W., Cheong, L.K.K., Ding, J.K., Hooi, K.K., Khoo, H.W., Phang, V.P.E., Shim, K.F. and C.H. Tan, Eds), *Asian Fisheries Society*, Manila, the Philippines. pp. 725-728.
6. Folch, J., Lees, M., Stanely. G.H.S., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biology Chemistry*, 226, 497-509.

- system. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 79, 167–180.
23. Ortuno, J., Esteban, A., Meseguer, J., 1999. Effects of high dietary intake of vitamin C on non-specific immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish and Shellfish Immunology*, 9, 429–443.
  24. Rainuzzo, J.S., Reitan, K.I., Olsen, Y., 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. *Aquaculture*, 155, 103-115.
  25. Reddy, H.R., Ramesh, T.J., 1996. Dietary essentiality of ascorbic acid for common carp *Cyprinus carpio* L. *Indian Journal of Experimental Biology*, 34(11), 1144-1146.
  26. Sadowski J., Filipiak, J., Trzebiatowski, R., Plust, M., 1999. Preliminary studies on effects of diet enrichment with propiscin, bio-immuno, and ascorbyl sulphate on cage culture of carp (*Cyprinus carpio* L.) juveniles in cooling water. *Folia Univ. Agric. Stetin.*, 192 Piscaria, (25), 71-77.
  27. Sadowski, J., Trzebiatowski, R., Wielopolska, M., 2000. Effects of ascorbic acid and glucose applied as food supplements on selected indices of Siberian sturgeon (*Acipenser baeribandt*, 1858) culture in cooling water. *Acta Ichthyologica Et Piscatoria*, 30 (2), 13-20.
- sea bass *Dicentrarchus labrax* nursery stages. *Component Biochemistry and Physiology*. 114, 123-133.
18. Merchie, G., Lavens, P., Sorgeloos, P., 1997. Optimization of dietary vitamin C in fish and crustacean larvae: a review. *Aquaculture*, 155, 165-181.
  19. Metcalfe, L.D., Schmitz, A.A., 1961. The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis. *Analytical Chemistry*, 33, 363-364.
  20. Montero, D., Marrero, M., Izquierdo, M.S., Robaina, L., Vergara, J.M., Tort, L., 1999. Effect of vitamin E and C dietary supplementation on some immune parameters of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles subjected to crowding stress. *Aquaculture*, 171, 269-278.
  21. Nelis, H.J., Merchie, G., Lavens, P., Sorgeloos, P., De Leenher, A.P., 1994. Solid phase extraction of ascorbic acid-2-sulfate from cysts of the brine shrimp *Artemia franciscana*. *Annals of Chemistry*, 66, 1330-1333.
  22. Ortuno, J., Cuesta, A., Esteban, A., Meseguer, J., 2001. Effect of oral administration of high vitamin C and E dosages on the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune