دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد دوم، شماره اول، بهار ۱۳۹۲
http://japu.gau.ac.ir

تفکیک کپور ماهیان پرورشی با استفاده از آنالیز مؤلفه‌های اصلی

***سیدمهدی اجاق[۱] و بهاره شعبان‌پور[۲]**
[۱]استادیار گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،
[۲]دانشیار گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
تاریخ دریافت: ۹۱/۴/۱۸ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۱/۸/۲۳

چکیده

هدف از این پژوهش تعیین ترکیب اسیدهای چرب در عضله کپور معمولی، کپور نقره‌ای، کپور سرگنده و کپور علف‌خوار و بررسی توانایی ترکیب اسیدهای چرب در تمایز این ماهیان آب شیرین بود. در تمامی نمونه‌ها اسید پالمتیک و اولئیک فراوان‌ترین اسیدهای چرب اشباع و تک غیر اشباع بودند. فراوان‌ترین اسیدهای چرب چند غیراشباع کپور سرگنده و علف‌خوار DHA بود و در کپور معمولی و نقره‌ای به‌ترتیب اسیدهای لینولئیک و لینولنیک بودند. نتایج تجزیه مؤلفه‌های اصلی (PCA) نشان داد بین تفکیک گونه‌ای و متغیرهای مورد مطالعه رابطه وجود دارد و از بین اسیدهای چرب مورد بررسی C18:1، C18:2، C18:3، C20:5، C22:5، C22:6، MUFA، PUFA6، PUFA/SFA، EPA+DHA، n_3/n_6 و n_6/n_3 بر تفکیک گونه‌ای در مطالعه حاضر تأثیر بیشتری داشتند. احتمالا ترکیب اسید چرب در کپور ماهیان مختلف با تفاوت در منابع تغذیه‌ای و فعالیت آنزیم‌های بیوسنتز کننده اسیدهای چرب تعیین می‌شود.

واژه‌های کلیدی: ماهیان آب شیرین، ترکیب اسید چرب، تفکیک گونه‌ای، آنالیز مؤلفه‌های اصلی

*مسئول مکاتبه: ojagh@gau.ac.ir

مقدمه

ماهیان به‌عنوان منبع پروتئین با کیفیت بالا در جیره انسان مطرح هستند. در سال‌های اخیر خواص تغذیه‌ای چربی ماهیان نیز مورد توجه ویژه‌ای قرار گرفته است (وبر و همکاران، ۲۰۰۸). چربی‌ها همراه با پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها منبع انرژی می‌باشند و به‌خاطر وجود اسیدهای چرب ضروری و چند غیر اشباع دارای عملکرد بیولوژیکی مهمی هستند (ویج‌کویک و همکاران، ۱۹۹۹). اسیدهای چرب چندغیراشباع[1] به دو خانواده اصلی امگا ۳ و امگا ۶ تقسیم می‌شوند. ایکوزاپنتانوئیک اسید[2] و دوکوزاهگزانوئیک اسید[3] مهم‌ترین مشتقات بلند زنجیر از پیش سازند اسید آلفا لینولنیک (سری امگا ۳) بوده و اسید آراشیدونیک مهم‌ترین مشتق از پیش سازند اسید لینولئیک (سری امگا ۶) می‌باشد. اسید آلفا لینولنیک و اسید لینولئیک اسیدهای چرب ضروری هستند که پستانداران قادر به سنتز آن‌ها نیستند. تبدیل اسید آلفا لینولنیک به EPA و DHA و از اسید لینولئیک به اسید آراشیدونیک در انسان محدود می‌باشد. ولی انسان می‌تواند به‌طور مستقیم اسیدهای چرب چندغیراشباع بلند زنجیر را از حیوانات یا غذاهای دیگر جذب کند. ماهی و بی‌مهرگان آبزی از منابع اصلی EPA و DHA می‌باشند (بایدنس- برنچی و برنچی، ۲۰۰۸) و در مقایسه با بیشتر پستانداران که دارای اسید آراشیدونیک به‌عنوان HUFA اصلی می‌باشند، غشای سلولی ماهی حاوی سطوح بالای EPA و DHA می‌باشد (سجاس و همکاران، ۲۰۰۴).

ترکیب اسید چرب مشخصه کلی و مهم چربی‌هاست. ترکیب اسید چرب به‌طور قابل ملاحظه‌ای به‌وسیله توانایی ذاتی و ژنتیکی یک گونه در بیوسنتز یک مجموعه خاص از اسیدهای چرب تعیین می‌شود. از طرفی بخش قابل ملاحظه‌ای از چربی‌ها و اسیدهای چرب از طریق غذا وارد بدن موجود می‌شوند و متابولیسم چربی به فاکتورهای محیطی نیز وابسته است تا آن‌جایی که ترکیب اسید چرب درون گونه‌ها نیز به‌طور قابل ملاحظه‌ای تغییر می‌کند (ایمبز و همکاران، ۲۰۰۷) با توجه به تولید بالا و مصرف فراوان کپور ماهیان در کشور و نظر به اهمیت تغذیه‌ای این آبزیان و به ویژه اسیدهای چرب و با توجه به تأثیرپذیری اسیدهای چرب از فاکتورهای مختلف این مطالعه با هدف بررسی امکان استفاده از ترکیب اسیدهای چرب در تفکیک کپور ماهیان پرورشی ایران با کمک آنالیز مؤلفه‌های اصلی انجام پذیرفت.

1- PUFA
2- EPA
3- DHA

مواد و روش کار

آماده‌سازی ماهی: ماهیان مورد مطالعه به‌صورت کاملا تازه از بازار ماهی فروشان تهیه شدند. متوسط وزن و طول ماهیان مورد مطالعه برای کپور معمولی و علف‌خوار به‌ترتیب ۵۰±۸۰۰ گرم و ۲±۴۰ سانتی‌متر و ۲۰±۷۰۰ گرم و ۱±۳۵ سانتی‌متر و برای کپور نقره‌ای و سر گنده ۵۰±۱۱۰۰ گرم و ۱±۵۰ سانتی‌متر بود. ماهیان بلافاصله در جعبه‌های دارای پودر یخ جهت انجام آزمایشات موردنظر به آزمایشگاه منتقل شدند. تمامی مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت مرک[1] و با بالاترین خلوص تهیه شدند.

آنالیز تقریبی نمونه: آنالیز تقریبی عضله طبق روش استاندارد انجام شد (آ، ا، آ، سی، ۱۹۹۰). برای اندازه‌گیری رطوبت حدود ۵ گرم از نمونه تا ثابت شدن وزن در آون (۱۰۵ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت. برای تعیین میزان خاکستر ۰/۵ گرم از نمونه (که قبلا به‌مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته بود)، در بوته چینی ریخته شده و در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ ساعت سوزانده شد. میزان پروتئین با روش کجلدال با ضریب تبدیل ۶/۲۵ به‌دست آمد.

اندازه‌گیری ترکیب اسیدهای چرب: چربی کل با کلروفرم/ متانول استخراج شد (فلوچ و همکاران، ۱۹۵۷؛ بلیگ و دایر، ۱۹۵۹) و اسیدهای چرب با BF3 در متانول متیله شدند. اسیدهای چرب متیل استر به‌وسیله n- هگزان بازیافت شدند (متکالف و همکاران، ۱۹۶۶). برای بررسی و شناسایی اسیدهای چرب موجود در نمونه از دستگاه گازکروماتوگراف (GC) فیلیپس مجهز به ستون کاپیلاری از نوع (60 m× 0.32 mm SGE BPX70) و آشکار ساز نوع FID استفاده گردید. دمای آشکار ساز و محل تزریق به‌ترتیب بر روی ۲۸۰ و ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. دمای ستون بین ۱۸۰ تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد برنامه‌ریزی شد. در این روش از گاز هلیم به‌عنوان گاز حامل و گاز هیدروژن به‌عنوان سوخت، ازت به‌عنوان گاز کمکی و هوای خشک استفاده شد. مقادیر اسید چرب به‌صورت درصد سطح زیر پیک از کل بیان شد (پالمری و همکاران، ۲۰۰۷).

آنالیز مؤلفه‌های اصلی[2] (PCA): با استفاده از نرم‌افزار PC-ORD رسته‌بندی گونه‌ها در ارتباط با متغیرها با روش تجزیه مؤلفه‌های اصلی انجام شد. شرط استفاده از روش تجزیه مؤلفه‌های اصلی این

1- Merck
2- Principle Component Analysis

است که ابتدا داده‌ها باید استاندارد شوند. در صورت عدم استاندارد کردن داده‌ها، آنالیز در جهت گونه‌ها یا متغیرهایی با حداکثر واریانس اریبی پیدا می‌کند. معمول‌ترین روش استاندارد کردن استفاده از میانگین صفر و واریانس واحد است. اگر از ضرایب همبستگی به‌عنوان معیار تشابه استفاده شود، در این صورت استاندارد کردن به‌طورخودکار انجام می‌شود (جانگ‌من و همکاران، ۱۹۹۵). آنالیز مؤلفه‌های اصلی برای طبقه‌بندی گونه‌ها با استفاده از اسیدهای چرب به‌کار رفت. چنین روشی در مطالعات بر روی چربی‌ها و تفکیک و تمایز گونه‌ها و واریته‌ها به‌طور موفقیت‌آمیزی استفاده شده است (رسواراهونا و همکاران، ۲۰۰۵). بنابراین بعد از بررسی داده‌ها با توجه به هدف این پژوهش به‌منظور تعیین مهم‌ترین متغیرهای (اسیدهای چرب) تأثیرگذار بر تفکیک گونه‌ای از تجزیه مؤلفه‌های اصلی استفاده شد.

نتایج

در جدول ۱ مقادیر اسیدهای چرب گونه‌های مورد مطالعه مشاهده می‌شود. برای تعیین مهم‌ترین اسیدهای چرب که باعث تغییر تفکیک گونه‌ای می‌شود، از روش PCA استفاده شد. در جدول ۲ مقادیر ویژه و درصد واریانس هر یک از مؤلفه‌ها آمده است.

جدول ۱- ترکیب اسیدهای چرب عضله ۴ گونه از کپور ماهیان پرورشی

اسید چرب	کپور نقره‌ای (درصد)	کپور سرگنده (درصد)	کپور علف‌خوار (درصد)	کپور معمولی (درصد)
۱۴:۰	۳/۰۱ ± ۰/۴۸	۱/۷۰ ± ۰/۸۹	۰/۴۱ ± ۱/۷۳	۱/۲۰ ± ۰/۴۰
۱۶:۰	۱۹/۶۳ ± ۲/۲۱	۲۰/۱۷ ± ۲/۴۰	۲۲/۵۱ ± ۰/۹۱	۱۹/۷۰ ± ۰/۸۷
۱۶:۱n۷	۱۱/۱۰ ± ۱/۶۲	۲/۶۵ ± ۰/۸۱	۴/۵۸± ۰/۹۸	۶/۴۵ ± ۱/۲۸
۱۸:۰	۲/۸۳ ± ۰/۸۲	۸/۹۲ ± ۰/۷۵	۴/۶۱ ± ۱/۳۰	۵/۵۷ ± ۱/۰۰
۱۸:۱n۹	۳۳/۹۸ ± ۲/۰۸	۱۳/۹۷ ± ۶/۲۰	۲۰/۴۳ ± ۳/۷۴	۳۲/۹۸ ± ۶/۱۳
۱۸:۲n۶	۳/۲۰ ± ۰/۴۶	۹/۰۰ ± ۱/۳۶	۹/۶۷ ±۱/۴۷	۱۴/۱۸ ± ۲/۷۷
۱۸:۳n۳	۸/۱۶ ± ۱/۳۳	۲/۳۲ ± ۲/۰۳	۵/۳۸ ± ۱/۷۸	۱/۶۴ ± ۱/۳۱
۲۰:۰	۱/۸۳ ± ۰/۵۸	۰/۴۲ ± ۰/۰۴	۰/۳۵ ±۰/۰۴	۰/۹۱ ± ۰/۲۶
۲۰:۴n۶	۰/۸۳ ± ۰/۶۴	۸/۲۵ ± ۱/۶۴	۲/۵۵ ± ۱/۰۶	۱/۳۳ ± ۰/۰۴
۲۲:۰	۰/۷۱ ± ۰/۱۴	۰/۱۷ ±۰/۱۰	۳/۴۵ ± ۱/۰۷	۴/۷۲ ±۱ /۱۵
۲۰:۵n۳	۲/۷۳ ± ۰/۹۰	۷/۹۲ ± ۱/۶۶	۴/۷۸ ± ۰/۶۹	۱/۴۶ ± ۰/۹۰
۲۴:۰	۰/۸۶ ± ۰/۱۸	۳/۱۷ ± ۰/۷۳	۱/۴۰ ± ۰/۳۶	۰/۷۳ ±۰ /۳۱
۲۲:۵n۳	۰/۹۱ ± ۰/۰۷	۰/۴۷ ± ۰/۳۳	۲/۵۲ ± ۰/۷۶	۱/۱۵ ± ۰/۷۳
۲۲:۶n۳	۳/۴۶ ± ۰/۳۲	۱۷/۷۰ ± ۲/۵۰	۱۲/۶۱ ± ۲ /۸۹	۴/۳۳ ± ۲/۱۴
∑SFA[a]	۲۸/۹۰ ± ۲/۲۶	۳۴/۵۷ ± ۱/۴۹	۳۴/۰۶ ± ۳/۶۷	۳۲/۸۶ ± ۳/۸۰
∑MUFA[b]	۴۵/۰۸ ± ۳/۲۴	۱۶/۶۲ ± ۶/۴۸	۲۵/۰۲ ± ۴/۶۴	۳۹/۴۳ ± ۶/۲۵
∑PUFA[c]	۱۹/۳۱ ± ۲/۴۸	۴۷/۶۷ ± ۷/۳۷	۳۷/۵۴ ± ۳/۸۰	۲۴/۱۳ ± ۳/۵۳
∑PUFA n3	۱۵/۲۸ ± ۲/۱۳	۳۰/۴۲ ± ۵/۹۰	۲۵/۳۱ ± ۲/۹۱	۸/۶۰ ± ۴/۰۸
∑PUFA n6	۴/۰۳ ± ۰/۷۷	۱۷/۲۵ ± ۲/۲۵	۱۲/۲۳ ± ۱/۲۶	۱۵/۵۲ ± ۳/۲۲
n3/n6[d]	۳/۸۸ ± ۰/۷۷	۱/۷۶ ± ۰/۲۸	۲/۰۷ ± ۰/۲۱	۰/۹۷ ± ۱ /۱۹
n6/n3	۰/۲۶ ± ۰/۰۵	۰/۵۷ ± ۰/۱۰	۰/۴۸ ± ۰/۰۴	۳/۴۲ ± ۱ /۵۹
∑PUFA/∑SFA	۰/۶۶ ± ۰/۰۶	۱/۳۸ ± ۰/۲۶	۱/۱۱ ± ۰/۱۷	۰/۷۴ ± ۰/۱۲
EPA+DHA	۴/۳۸ ± ۰/۳۸	۲۰/۱۷ ± ۲/۷۸	۱۵/۱۳ ± ۳/۴۷	۵/۴۹ ± ۲/۸۲

[a] 14:0 + 16:0 + 18:0.
[b] 16:1n7 + 18:1n9 + 18:1n7 + 20:1n9 .
[c] 18:2n6 + 18:3n6 + 18:3n3 + 20:4n6 + 20:5n3 + 22:6n3.
[d] ∑PUFA-n6/∑PUFA-n3.

داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده‌اند

∑SFA مجموع اسیدهای چرب اشباع، ∑MUFA مجموع اسیدهای چرب تک اشباع

∑PUFA مجموع اسیدهای چرب چند غیراشباع، n- 3 اسیدهای چرب امگا-۳، n- 6 اسیدهای چرب امگا-۶

جدول ۲ مقادیر ویژه و درصد واریانس مربوط به هر یک از مؤلفه‌ها

مؤلفه	مقدار ویژه	واریانس (درصد)	واریانس تجمعی (درصد)	Broken-stik Egigenvalue
۱	۱۱/۸۴۷	۵۱/۵۱۰	۵۱/۵۱۰	۳/۷۳۴
۲	۵/۶۷۵	۲۴/۶۷۴	۷۶/۱۸۴	۲/۷۳۴
۳	۲/۲۰۷	۹/۵۹۷	۸۵/۷۸۱	۲/۲۳۴
۴	۱/۰۷۱	۴/۶۵۶	۹۰/۴۳۷	۱/۹۰۱
۵	۰/۷۸۹	۳/۴۳۲	۹۳/۸۶۹	۱/۶۵۱
۶	۰/۵۷۴	۲/۴۹۷	۹۶/۳۶۶	۱/۴۵۱
۷	۰/۳۴۲	۱/۴۸۸	۹۷/۸۵۴	۱/۲۸۴
۸	۰/۱۴۱	۰/۶۱۴	۹۸/۴۶۸	۱/۱۴۱
۹	۰/۱۰۵	۰/۴۵۵	۹۸/۹۲۳	۱/۰۱۶
۱۰	۰/۰۷۹	۰/۳۴۵	۹۹/۲۶۸	۰/۹۰۵

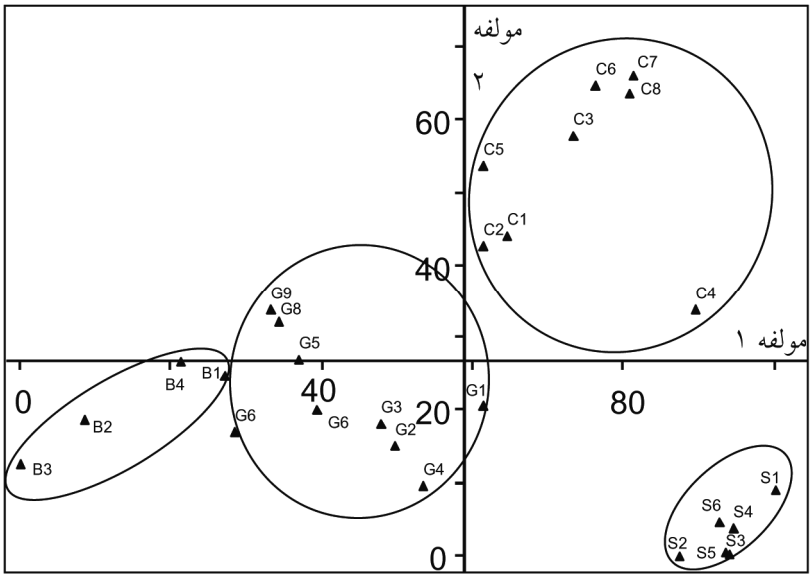
برای انتخاب مؤلفه‌ها به‌طور معمول مقادیر ویژه ملاک قرار می‌گیرد، ولی روش دقیق‌تر آن است که مقادیر ویژه با شاخص دیگری تحت عنوان BSE (Broken-stik egigenvalue) سنجیده شود (جک‌سون، ۱۹۹۳). به‌این ترتیب مؤلفه‌هایی انتخاب می‌شوند که در آن‌ها مقدار ویژه بیش از مقدار BSE باشد. همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود در مؤلفه‌های اول و دوم این شرایط صدق می‌کند و این مؤلفه‌ها ۷۶/۱۸ درصد تغییرات تفکیک گونه‌ای را در بر می‌گیرد. اهمیت مؤلفه اول بیشتر از مؤلفه دوم است، به‌طوری که ۵۱/۵۱ درصد تغییرات مربوط به مؤلفه اول و ۲۴/۶۷ درصد تغییرات به مؤلفه دوم مربوط است. جدول ۳ بردار مقادیر ویژه مربوط به متغیرها را در هر یک از مولفه‌ها نشان می‌دهد. با توجه به قدر مطلق ضرایب، مؤلفه اول شامل C16:1، C18:1، C20:5، C22:6، MUFA، PUFA، PUFA3، EPA+DHA و PUFA/SFA و مؤلفه دوم شامل C18:2، C18:3 و PUFA6 است.

جدول ۳- مقادیر بردار ویژه مربوط به هریک از متغیرها در هر یک از مؤلفه‌ها در روش PCA

اسید چرب	مؤلفه (محور)					
	۱	۲	۳	۴	۵	۶
C14	۰/۱۱۶۳	−۰/۳۰۶۶	۰/۰۳۲۲	−۰/۲۵۰۳	۰/۱۴۰۳	۰/۴۵۱۲
C16	−۰/۰۸۹۵	−۰/۰۴۸۱	−۰/۳۴۷۸	۰/۵۷۳۴	۰/۵۷۴۷	−۰/۰۴۱۸
C16:1	۰/۲۵۹۸	−۰/۱۳۷۹	۰/۰۵۲۶	−۰/۱۴۲۳	−۰/۱۵۵۲	۰/۰۸۷۷
C18	−۰/۱۹۴۰	۰/۱۸۲۹	۰/۱۸۵۹	−۰/۳۲۲۵	۰/۳۴۸۲	۰/۱۲۵۲
C18:1	۰/۲۷۳۸	۰/۰۹۲۸	۰/۱۰۱۳	۰/۰۸۸۲	۰/۱۲۴۷	۰/۰۹۸۹
C18:2	-۰/۰۷۱۶	۰/۳۹۳۲	−۰/۰۰۳۷	۰/۱۴۴۸	−۰/۱۶۰۲	−۰/۰۴۱۶
C18:3	۰/۰۹۹۱	−۰/۳۵۸۰	−۰/۰۷۲۷	۰/۲۴۷۷	−۰/۱۴۳۳	−۰/۲۲۷۸
C20	۰/۲۰۲۸	−۰/۱۴۹۲	۰/۱۲۰۹	−۰/۱۴۲۰	۰/۰۳۷۴	−۰/۷۲۵۳
C20:4	−۰/۲۱۷۲	−۰/۰۶۲۸	۰/۳۸۲۱	−۰/۰۷۸۴	۰/۱۸۹۶	−۰/۰۶۳۸
C20:5	−۰/۲۴۵۲	−۰/۱۹۸۳	۰/۱۰۸۸	−۰/۰۵۹۰	۰/۰۵۴۲	−۰/۰۴۶۹
C22	−۰/۰۲۱۰	۰/۲۰۹۶	−۰/۴۹۶۲	−۰/۳۳۳۰	−۰/۲۶۸۲	−۰/۱۵۸۳
C22:5	−۰/۲۴۵۹	−۰/۰۷۲۲	−۰/۲۱۶۰	۰/۰۲۷۹	−۰/۳۲۱۵	−۰/۱۳۰۵
C22:6	−۰/۲۸۰۹	−۰/۰۸۰۳	−۰/۰۳۴۸	۰/۰۰۱۵	−۰/۰۴۱۱	۰/۰۸۵۳
C24	−۰/۲۳۵۲	−۰/۱۲۲۹	۰/۲۱۹۶	−۰/۲۲۷۵	۰/۱۲۴۴	−۰/۲۳۹۰
SFA	−۰/۱۶۸۷	۰/۱۲۶۶	−۰/۴۰۲۴	−۰/۲۹۷۴	۰/۳۴۹۸	−۰/۱۷۷۴
MUFA	۰/۲۸۴۲	۰/۰۳۵۶	۰/۰۹۳۴	۰/۰۳۰۸	۰/۰۵۵۹	۰/۱۰۱۰
PUFA	−۰/۲۸۳۹	−۰/۰۵۰۰	۰/۰۶۳۶	۰/۰۹۵۶	−۰/۰۹۲۴	−۰/۰۴۸۴
PUFA3	−۰/۲۳۹۶	−۰/۲۲۹۴	−۰/۰۴۰۲	۰/۰۶۹۷	−۰/۰۹۲۹	−۰/۰۱۸۵
PUFA6	−۰/۱۷۸۶	۰/۲۹۷۲	۰/۲۰۴۹	۰/۰۷۹۴	−۰/۰۳۱۸	−۰/۰۶۹۷
PUFA/SFA	−۰/۲۵۶۵	−۰/۰۸۶۹	۰/۱۸۷۵	۰/۲۱۸۵	−۰/۲۳۵۳	−۰/۰۲۱۱
EPA+DHA	−۰/۲۸۰۶	−۰/۰۸۰۴	−۰/۰۶۱۰	۰/۰۰۵۲	−۰/۰۸۱۴	۰/۰۹۳۱
n_3/n_6	۰/۰۹۷۵	−۰/۳۵۳۰	−۰/۰۶۴۱	۰/۰۰۱۳	۰/۰۲۴۵	−۰/۰۵۴۵
n_6/n_3	۰/۰۸۱۷	۰/۳۵۲۴	۰/۲۲۱۵	۰/۲۰۸۷	−۰/۰۶۳۲	−۰/۰۸۸۰

شکل ۱ نمودار رسته‌بندی گونه‌ها را بر اساس مؤلفه‌های اول و دوم نشان می‌دهد. برای تحلیل این نمودار و توجیه علل پراکنش مکانی گونه‌ها بایستی به نکات زیر توجه کرد (جانگ‌من و همکاران، ۱۹۹۵).

۱- فاصله نقاط معرف گونه‌ها در نمودار، نشان دهنده درجه تشابه یا اختلاف آن‌ها از نظر متغیرها است. ۲- هر چه نقطه معرف گونه‌ها از مبدا محور مختصات دورتر و به یک محور (مؤلفه خاص) نزدیک‌تر باشد، بیشتر تحت تأثیر آن مؤلفه قرار می‌گیرد. ۳- برای تفسیر نمودار رسته‌بندی باید به علامت جبری ضرایب همبستگی بین خصوصیات با مؤلفه‌ها توجه شود. اگر در مؤلفه‌ای تمام ضرایب متغیرها معنی‌دار شده، منفی باشد گونه‌هایی که در جهت مثبت محورها قرار دارد با خصوصیات معرف محورها رابطه معکوس دارد و برعکس. با توجه به علامت مثبت و منفی ضرایب متغیرها که در جدول ۳ آمده است در مؤلفه اول (محور اول) از چپ به راست اسیدهای چرب C20:5، C22:5، C22:6، PUFA/SFA و EPA+DHA کاهش و اسیدهای چرب C16:1، C18:1 و MUFA افزایش می‌یابد. در مؤلفه دوم (محور دوم) از پایین به بالا متغیر C18:3 و n_3/n_6 کاهش و متغیرهای C18:2، PUFA6 و n_6/n_3 افزایش پیدا می‌کند (شکل ۱). گونه‌های مورد مطالعه با مقادیر مختلف اسیدهای چرب در نمودار رسته‌بندی قرار گرفته‌اند، به‌طوری که نقاط معرف گونه‌های کپور معمولی (با کمترین مقدار اسیدهای چرب امگا ۳) در ربع اول محور مختصات قرار گرفته است. در مقابل نقاط معرف گونه کپور سرگنده (بیشترین مقدار اسیدهای چرب امگا ۳) در ربع سوم محور مختصات قرار دارد. نقاط معرف گونه کپور نقره‌ای در ربع چهارم محور مختصات قرار گرفته است و با توجه به فاصله کمتر آن نسبت به محور اول تحت تأثیر خصوصیات معرف این محور قرار می‌گیرد، به‌این صورت که تحت تأثیر افزایش اسیدهای چرب C16:1، C18:1 و MUFA و کاهش اسیدهای چرب C20:5، C22:5، C22:6، PUFA/SFA و EPA+DHA قرار دارد. در مورد گونه کپور علف‌خوار با توجه به محل نقاط معرف آن، می‌توان گفت که این گونه نیز بیشتر تحت تأثیر خصوصیات محور اول دارد، و با توجه به نتایج جدول ۱ مقادیر اسیدهای چرب C22:5 و C22:6 (که از خصوصیات مؤلفه اول می‌باشند) در این گونه مقادیر بیشتری را به خود اختصاص داده است.



شکل ۱- رسته‌بندی گونه‌های مورد مطالعه با استفاده از روش تجزیه مؤلفه‌های اصلی

(علائم اختصاری- C: کپور معمولی، S: کپور نقره‌ای، G: کپور علفخوار، B: کپور سرگنده)

نتایج و بحث

اختلافات در ترکیب مقداری اسیدهای چرب بین گونه‌ها و جنس‌ها در مطالعات مختلفی گزارش شده است (ایمبس و داتوآ، ۲۰۰۸؛ گرون و همکاران، ۱۹۹۹). آنالیر مؤلفه‌های اصلی ترکیب اسیدهای چرب به‌طور موفقیت‌آمیزی در تفکیک و جداسازی (کموتاکسسونومی) ۳۲ گونه مرجان[1] به کار رفته است. و یک طبقه‌بندی واضحی از مرجان به‌دست آمده است (لو و همکاران، ۲۰۰۵). لذا کاربرد آنالیر مؤلفه‌های اصلی ترکیب اسید چرب و یا متدهای آماری مشابه در مطالعات تفکیک و تمایز گونه‌ای (کمو تاکسونومی) می‌تواند مفید باشد.

استفاده از ترکیب اسیدهای چرب در شناسایی و طبقه‌بندی ماهی در مطالعات بر روی استورژن[2] و باس راه راه[3] گزارش شده است (چن و همکاران، ۱۹۹۵؛ جان‌کی و همکاران، ۱۹۹۲). تمایز و تفکیک

1- Soft coral
2- Storgeon
3- Striped bass

با سطح اطمینان ۱۰۰ درصدی برای باس راه پرورشی و وحشی با کمک اسیدهای چرب گزارش شد. در این مطالعه مقدار اسید آراشیدونیک (20:4n6) در کپور سرگنده به‌طور قابل ملاحظه‌ای بالاتر از سایر ماهیان مورد مطالعه بود (۸/۲۵ درصد) و این مقدار در کپور نقره‌ای بسیار پایین بود (۰/۸۳ درصد). از آن‌جا که در این مطالعه اسید آرشیدونیک در مؤلفه سوم قرار گرفت نسبت به آن دسته ازاسیدهای چربی که در مؤلفه اول و دوم قرار گرفتند اهمیت کمتری در تفکیک گونه‌های مورد مطالعه داشت. در مطالعه (چن و همکاران، ۱۹۹۵) مشاهده شد که اسید آراشیدونیک (20:4n6) در استروژن پرورشی بالاتر از استروژن وحشی بود، این پژوهشگران یادآور شدند، توزیع اسید آراشیدونیک بین ماهی پرورشی و وحشی ظاهرا وابسته به گونه است زیرا پژوهشگران دیگر مانند (جان‌کی و همکاران، ۱۹۹۲)، (چان‌موگام و همکاران، ۱۹۸۶) و (سوسوکی و همکاران، ۱۹۸۶) میزان اسید آراشیدونیک بالاتری در گونه‌های وحشی مطالعه شده در پژوهش‌هایشان نسبت به گونه‌های پرورشی مورد مطالعه گزارش نمودند، اما در مورد قزل‌آلا و خرچنگ دراز این میزان در نر و ماده یکسان بود. اسید آراشیدونیک ترکیب اصلی همه روغن‌های گیاهی نیست اما به مقدار کمی در روغن ماهی یافت می‌شود (گرون و همکاران، ۱۹۹۹). از آنجائی‌که اسید آراشیدونیک از طریق طویل‌سازی[۴] و اشباع‌زدایی[۵] 18:2n6 تولید می‌شود تفاوت بین گونه‌ای در تعیین این‌که آیا اسید آراشیدونیک در ماهی پرورشی و یا وحشی نسبت به جیره بالاتر است یا نه، مهم‌تر است.

قبلا پیشنهاد شده که از مجموع چند اسید چرب[۶] به جای آنالیز اختصاصی یا تک تک اسیدهای چرب و به‌طور عمده اسیدهای چرب چند غیر اشباع[۷] برای تفکیک و جداسازی (کموتاکسیونومی) مرجان‌ها استفاده شود (ایمبس و همکاران، ۲۰۰۷a؛ ایمبس و همکاران، ۲۰۰۷b). در این مطالعه علاوه‌بر این‌که توانایی هر اسیدهای چرب به تنهایی در تفکیک گونه‌ای ماهیان مورد مطالعه بررسی شد، توانایی مجموع اسیدهای چرب اشباع، تک غیر اشباع و چند غیر اشباع نیز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان می‌دهد که ترکیب اسیدهای چرب، یک مشخصه تاکسونومیکی در سطح ۴ کپور مورد مطالعه بوده و می‌تواند در متمایز نمودن این گونه‌ها استفاده شود. آنالیز مؤلفه‌های اصلی نشان داد که مهم‌ترین متغیرهایی (اسیدهای چرب) که بر تفکیک گونه‌ای در مطالعه حاضر تأثیر بیشتری داشتند،

4- Elongation
5- Desaturation
6- Sampiling
7- PUFA

اسیدهای چرب C16:1، C18:1، C18:2، C18:3، C20:5، C22:5، C22:6، MUFA، PUFA6، PUFA/SFA، EPA+DHA، N3/N6 و N6/N3 بودند. به‌طور کلی می‌توان گفت سهم اصلی در جداسازی کپور ماهیان مورد مطالعه را اسیدهای چرب غیراشباع[8] C_{18-22} برخی از اسیدهای چرب دی ان[9] و نیز برخی از اسیدهای چرب تک غیر اشباع[10] اعمال نمودند.

سنتز اسیدهای چرب چند غیر اشباع امگا ۶ از طریق واکنش‌های آنزیمی متوالی طویل‌سازی زنجیره کربنی و افزودن پیوندهای دوگانه اضافی[11] ایجاد می‌شود: 18:3n-6، 20:3n-6، 20:4n-6 و 22:5n-6. اسیدهای چرب چند غیر اشباع امگا ۳ نیز به‌طور مشابه سنتز می‌شوند: 18:4n-3، 20:4n-3 و 22:5n-3. گیاهان اسیدهای مهم 18:3n-6 و 18:4n-3 را سنتز نموده و مجموعه آنزیم‌های اصلی برای بیوسنتز بیشتر PUFA را دارند. حیوانات (با استثناعات نادر) اسیدهای 18:3n-6 و 18:4n-3 (و یا 18:3n-3) را از گیاهان به‌دست می‌آورند و در توانایی شان برای طویل‌سازی بیشتر و اشباع‌زدایی اسیدهای چرب چند غیر اشباع متفاوت هستند (لئونارد و همکاران، ۲۰۰۴؛ تاچر و همکاران، ۱۹۹۸). بنابراین می‌توان تفاوت در ترکیب اسیدهای چرب چند غیر اشباع را که موجب جداسازی واضح جنس‌های مختلف کپور ماهیان مورد مطالعه در این پژوهش شده است را احتمالا به تفاوت‌های موروثی (ذاتی) و ژنتیکی در فعالیت برخی از آنزیم‌های بیوسنتز کننده اسیدهای چرب چند غیر اشباع در بین این گونه‌ها پیشنهاد نمود. مشارکت (سهم) بیشتر در جداسازی کپور ماهیان مطالعه شده به وسیله اسیدهای چرب چند غیراشباع امگا ۳ ایجاد شده که می‌تواند به‌دلیل متابولیسم این گروه مهم از اسیدهای چرب باشد. یک سطح (میزان) بالایی از EPA و DHA عامل اصلی جداسازی مشخص کپور ماهیان مورد مطالعه بود این موضوع احتمالا نشانه توانایی متفاوت کپور ماهیان مورد مطالعه در بیوسنتز فعال اسیدهای چرب چند غیر اشباع مانند EPA و DHA می‌باشد.

غذا نیز یک منبع مهم اسیدهای چرب چند غیر اشباع است، بنابراین اختلاف در جیره ماهیان مختلف نیز می‌تواند بر محتویات اسیدهای چرب آن‌ها اثرگذار خواهد بود. احتمالا محتویات اسید 20:5n3 که در جداسازی کپور ماهیان مورد مطالعه مشارکت داشته است به ترکیب جیره غذایی آن‌ها نیز وابسته است. منبع 22:6n3 برای کپور ماهیان مورد مطالعه (کپور سرگنده و یا نقره‌ای) ممکن است

8- PUFAS
9- Dienic fatty acid
10- MUFA
11- desaturation

زئوپلانکتون‌ها (Dalsgaard et al., 2003) و یا بیوسنتز این اسید در بافت‌های خود ماهیان و یا مسیر β-اکسیداسیون اسیدهای دیگر (24:6n3) باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج تجزیه مؤلفه‌های اصلی نشان داد که ترکیب اسیدهای چرب، یک مشخصه تاکسونومیکی در سطح ۴ کپور مورد مطالعه بوده و می‌تواند در متمایز نمودن این گونه‌ها استفاده شود. به‌طور کلی می‌توان گفت سهم اصلی در جداسازی کپور ماهیان مورد مطالعه را اسیدهای چرب غیراشباع C_{18-22} برخی از اسیدهای چرب دی ان و نیز برخی از اسیدهای چرب تک غیر اشباع اعمال نمودند. در این مورد اثر فاکتورهای محیطی، نوع تغذیه و توانایی در بیوسنتز اسیدهای چرب در ترکیب اسیدهای چرب گونه‌های مختلف نیز باید مورد توجه قرار گیرد.

منابع

1. AOAC. 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. In K. Helrich (Ed.), Arlington, VA, USA: Association of Official Analytical Chemists. 226p.
2. Bligh, E.G. and Dyer, W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology. 37: 911–917.
3. Buydens-Branchey, L. and Branchey, M. 2008. Long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids decrease feelings of anger in substance abusers. Psychiatry Research. 157: 95–104.
4. Cejas, J.R., Almansa, E., Jeraz, S., Bolanos, A., Samper, M. and Lorenzo, A. 2004. Lipid and fatty acid composition of muscle and liver from wild and captive mature female broodstocks of white seabream, *Diplodus sargus*. Comparative Biochemistry and Physiology part B. 138: 91-102.
5. Chanmugam, P., Boudreau, M. and Hwang, D.H. 1986. Differences in the ω_3 fatty acid contents in pond-reared and wild fish and shellfish. Journal of Food Science, 51: 1556-1557
6. Chen, I.C., Chapman, F.A., Wei, C.I., Portier, K.M. and O'keefe, S.F. 1995. Differentiation of cultured and wild sturgeon (*Acipenser oxyrinchus*) based on fatty acid composition. Journal of Food Science, 60: 631-635
7. Dalsgaard, J., John, M.S., and Kattner G. 2003. Fatty Acid Trophic Markers in the Pelagic Marine Environment Advances in Marine Biology 46: 225–340.

8.Folch, J., Lees, M. and Sloane-Stanley, G.H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal's tissues. Journal of Biological Chemistry, 226: 497–509.
9.Grun, I.U., Shi, H., Fernando, L.N., Clarke, A.D. Ellersieck, M.R. and Beffa, D.A. 1999. Differentiation and identfication of cultured and wild crappie (*Pomoxis* spp.) based on fatty acid composition. Lebensm-Wiss. u. Technology, 32: 305- 311.
10.Imbs, A.B. and Dautova, T.N. 2008. Use of lipids for chemotaxonomy of octocorals (*Cnidaria*:*Alcyonaria*). Russian Journal of Marine Biology, 34: 174–178.
11.Imbs, A.B., Demidkova, D.A., Latypov, Y.Y. and Pham, L.Q. 2007. Application of fatty acids for chemotaxonomy of reef-building corals, Lipids, 42: 1035–1046.
12.Imbs, A.B., Luu, H.V. and Pham, L.Q. 2007. Intra- and Interspecies Variability of the Fatty Acid Composition in Soft Corals, Biologiya Morya, 33: 70–73.
13.Jahncke, M.L., Seaborn, G.T. and Smith, T.I.J. 1992. Development of a biochemical method to distinguish wild from cultured fish. Final Report, NOAA Technical Memorandum NMFS SEFSC-310, Charleston: US Department of Commerce, 178 p.
14.Jongman, R.H.G., TerBreak, C.J.F. and Van Tongeren, O.F.R. 1995. Data analysis in community and landscape ecology. Center Fire Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, 315p.
15.Leonard, A.E., Pereira, S.L., Sprecher, H. and Huang, Y.S. 2004. Elongation of Long-Chain Fatty Acids Progress in Lipid Research, 43: 36–54.
16.Luu, V.H., Doan, L.P, Pham, Q.L. and Imbs, A.B. 2005. Fatty acids as chemotaxonomy of Vietnamese coral. Vietnamese Journals of Science and Technology, 43: 92–100.
17.Metcalfe, L.D., Schmitz, A.A. and Pelka, J.R. 1966. Rapid preparation of fatty acids esters from lipids for gas chromatographic analysis. Annals of Chemistry, 38: 524–535.
18.Palmeri, G., Turchini, G.M. and Silva, S.S.D. 2007. Lipid characterization and distribution in the fillet of the farmed Australian native fish, Murray cod (*Maccullochella peelii peelii*). Food Chemistry, 102: 796–807.
19.Rasoarahona, J.R.E., Barnathan, G., Bianchini, J.P. and Gaydou, E.M. 2005. Influence of season on the lipid content and fatty acid profiles of three tilapia species (*Oreochromis niloticus, O. macrochir* and *Tilapia rendalli*) from Madagascar. Food Chemistry, 91: 683–694.
20.Susuki, H., Okazaki, K., Hayakawa, S., Wada, S. and Tamura, S. 1986. Influence of commercial dietary fatty acids on polyunsaturated fatty acids of cultured freshwater fish and comparison with those of wild fish of the same species. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 34: 58-60.

21. Tocher, D.R., Leaver, M.J. and Hodgson, P.A. 1998. Recent Advances in the Biochemistry and Molecular Biology of Fatty Acyl Desaturases. Progressive Lipid Research, 37: 73–117.
22. Vujkovic, G., Karlovic, D., Vujkovic, I., Vörösbaranyic, I. and. Jovanovic, B. 1999. Composition of Muscle Tissue Lipids of Silver Carp and Bighead Carp. Journal of the American Oil Chemists' Society, 76: 475–480.
23. Weber, J., Bochi, V.C., Ribeiro, C.P., Victorio, A.M. and Emanuelli, T. 2008. Effect of different cooking methods on the oxidation, proximate and fatty acid composition of silver catfish (*Rhamdia quelen*) fillets. Food Chemistry, 106: 140–146.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

J. of Utilization and Cultivation of Aquatics, Vol. 2(1), 2013
http://japu.gau.ac.ir

Differentiation cultured carps using multivariate principal components analysis

***S.M. Ojagh[1] and B. Shabanpour[2]**
[1]Assistant Prof., Dept., of fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, [2]Associate Prof., Dept., of fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
Received: 08/07/2012 ; Accepted: 11/13/2012

Abstract

The objective of this study was to examine composition of fatty acids in the muscle tissue of common carp (*cyprinus carpio*), silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*), bighead carp (*Arigtichthys nobilis*) and grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), with the aim to find out to what extent the fatty acid compositions is capable to distinguish these freshwater fish. Among all the samples, palmitic and oleic acids were the principal saturated and monounsaturated fatty acids. The dominant polyunsaturated fatty acids (PUFA) in bighead and grass carp were docosahexaenoic acid and in common and silver carps were linoleic and linolenic acids, respectively. The results of principle component analysis showed that among studied variables (fatty acids), C18:1, C18:2, C18:3, C20:5, C22:5, C22:6, MUFA, PUFA6, PUFA/SFA, EPA+DHA, n_3/n_6 and n_6/n_3 had the most influence on species differentiation. The composition of fatty acid in different carp species is likely to be determined by differences in the nutrition of food sources and the enzymatic activity of fatty acid biosynthesis.

Keywords: Freshwater fish, Fatty acid composition, Differentiation, Principal component analysis

*Corresponding author; ojagh@gau.ac.ir