Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics

Print ISSN: 2345-427X
Online ISSN: 2345-4288

Effects of replacing extruded wheat flour with extruded oak acorn flour on growth, enzyme activity and diet digestibility in common carp (*Cyprinus carpio*)

Hojatollah Alamdari[*1], Khadije Musavi[2]

1. Corresponding Author, Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Behbahan Khatam Alanbia University of Technology, Behbahan, Iran. E-mail: alamdari@bkatu.ac.ir; alamdari671@yahoo.com
2. Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Behbahan Khatam Alanbia University of Technology, Behbahan, Iran. E-mail: mwswyka@gmail.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 07.23.2023
Revised: 08.08.2023
Accepted: 09.21.2023

Keywords:
Common carp,
Digestibility,
Enzyme activity,
Extruding,
Oak acorn

ABSTRACT

Oak acorn is widely used in livestock feeding due to its low price but in order to use it in the diet of aquatic animals, it is necessary to study the effect of the feed manufacturing process on its usability. Four diets containing: 1) 17% extruded wheat flour, 2) 5% non-extruded wheat flour and 12% extruded wheat flour, 3) 5% non-extruded oak acorn flour and 12% extruded wheat flour, and 4) 5% of extruded oak acorn flour and 12% of extruded wheat flour were evaluated in a completely randomized design with three replicates for each treatment. The fish were reared in round plastic tanks with a volume of 250 liters and a density of 15 fish with an average initial weight of 5.42 ± 0.03 g in each tank. After 8 weeks, the highest weight and total length of fish were observed in treatment 4, so that there was a significant difference with treatment 3 ($P<0.05$). The amount of protein in the enzyme extract of treatment 1 was significantly higher than other treatments ($P<0.05$). The highest protease activity was observed in treatment 2, which was significantly different from treatment 3 ($P<0.05$). Protein digestibility in treatment 2 was significantly higher than other treatments ($P<0.05$). Significantly, the highest amylase activity was observed in treatment 2 and the lowest carbohydrate digestibility was recorded in treatment 3 ($P<0.05$). Based on growth indicators, digestive enzyme activity and protein and carbohydrate digestibility, it is recommended to consume oak acorn flour at the level of 5% of common carp extruded diet.

Cite this article: Alamdari, Hojatollah, Musavi, Khadije. 2024. Effects of replacing extruded wheat flour with extruded oak acorn flour on growth, enzyme activity and diet digestibility in common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 13 (3), 91-102.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/japu.2023.21594.1801
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان

شاپا چاپی: ۲۳٤٥-٤۲۷X
شاپا آنلاین: ۲۳٤٥-٤۲۸۸

اثرات جایگزینی آرد گندم اکسترود شده با آرد بلوط اکسترود شده بر رشد، فعالیت آنزیمی و قابلیت هضم جیره غذایی در کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

حجت‌اله علمداری*[۱]، خدیجه موسوی[۲]

۱. نویسنده مسئول، گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی خاتم‌الانبیاء بهبهان، بهبهان، ایران. رایانامه: alamdari@bkatu.ac.ir؛ alamdari671@yahoo.com

۲. گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی خاتم‌الانبیاء بهبهان، بهبهان، ایران. رایانامه: mwswyka@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱٤۰۲/۰٥/۰۱
تاریخ ویرایش: ۱٤۰۲/۰٥/۱۷
تاریخ پذیرش: ۱٤۰۲/۰٦/۳۰

واژه‌های کلیدی:
اکسترود کردن،
فعالیت آنزیمی،
قابلیت هضم،
کپور معمولی،
میوه بلوط

چکیده

از میوه بلوط به‌دلیل قیمت پایین به‌وفور در تغذیه دام استفاده می‌شود اما به‌منظور مصرف آن در غذای آبزیان لازم است اثر فرآیند ساخت خوراک بر قابلیت استفاده از آن بررسی شود. چهار نوع جیره غذایی شامل: ۱- حاوی ۱۷ درصد آرد گندم اکسترود شده، ۲- حاوی ٥ درصد آرد گندم اکسترود نشده و ۱۲ درصد آرد گندم اکسترود شده، ۳- حاوی ٥ درصد آرد بلوط اکسترود نشده و ۱۲ درصد آرد گندم اکسترود شده و ٤- حاوی ٥ درصد آرد بلوط اکسترود شده و ۱۲ درصد آرد گندم اکسترود شده، در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار جهت هر تیمار ارزیابی شد. پرورش در مخازن گرد پلاستیکی با حجم ۲٥۰ لیتر و با تراکم ۱٥ قطعه ماهی با میانگین وزن ۰/۰۳±٥/٤۲ گرم در هر مخزن انجام شد. پس از ۸ هفته، بالاترین وزن و طول کل در ماهی‌های تیمار ٤ مشاهده گردید به‌طوری‌که اختلاف معنی‌داری با تیمار ۳ داشت ($P<0/05$). میزان پروتئین در عصاره آنزیمی تیمار ۱ به‌طور معنی‌دار بیش‌تر از سایر تیمارها بود ($P<0/05$). بیش‌ترین فعالیت پروتئاز در تیمار ۲ مشاهده شد که تفاوت آن با تیمار ۳ معنی‌دار بود ($P<0/05$). قابلیت هضم پروتئین هم در تیمار ۲ به‌طور معنی‌دار بیش‌تر از سایر تیمارها بود ($P<0/05$). به‌طور معنی‌دار فعالیت آمیلاز در تیمار ۲ از سایر تیمارها بیش‌تر بود و کم‌ترین قابلیت هضم کربوهیدرات در تیمار ۳ مشاهده گردید ($P<0/05$). براساس شاخص‌های رشد، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و قابلیت هضم پروتئین و کربوهیدرات، مصرف آرد بلوط در سطح ٥ درصد جیره اکسترود شده کپور معمولی، توصیه می‌شود.

استناد: علمداری، حجت‌اله، موسوی، خدیجه (۱۴۰۳). اثرات جایگزینی آرد گندم اکسترود شده با آرد بلوط اکسترود شده بر رشد، فعالیت آنزیمی و قابلیت هضم جیره غذایی در کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). *نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان*، ۱۳ (۳)، ۱۰۲-۹۱.
DOI: 10.22069/japu.2023.21594.1801

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

در صنعت ساخت خوراک آبزیان جستجو برای مواد اولیه غذایی جدید، فرانگری تنوع غذایی و قابلیت دسترسی جانور به مواد مغذی، دارای اهمیت فراوان است تا بتوان از آن‌ها به‌جای سایر موادی که در معرض نوسان قیمت و قابلیت دسترسی هستند، استفاده نمود (۱). وسعت زیادی از ایران پوشیده از جنگل‌های انبوه بلوط است. از میوه بلوط به دلیل ارزانی و در دسترس بودن به‌عنوان خوراک دام استفاده می شود. این میوه در کنار داشتن ترکیبات مغذی، ماده‌ای غنی از تانن می‌باشد که اثرات ضد تغذیه‌ای آن بر هضم پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها در ماهی به اثبات رسیده است (۲ و ۳). قابلیت دسترسی زیستی به مواد مغذی موجود در غلات، حبوبات و دانه‌ها به‌ویژه زمانی‌که به فرم عمل‌آوری نشده مصرف شوند به دلیل حضور عوامل ضد تغذیه‌ای مانند تانن‌ها نسبتاً پائین است. تانن‌ها عامل مزه تلخ بلوط هستند و در غلظت‌های بالاتر ممکن است سبب آسیب رساندن به بافت‌های اپیتلیوم روده، کبد و کلیه گردند. البته آرد بلوط به دلیل داشتن محتوای نشاسته‌ای بالا، به‌عنوان جایگزینی برای آرد غلات در تولید غذا مورد توجه است (٤).

فرآیند اکستروژن دارای چندین اثر مفید از جمله ژلاتینه شدن نشاسته و کاهش عوامل ضد تغذیه‌ای در دانه‌های گیاهی است. این فرآیند روشی سریع در تغییر ماهیت فیزیکی و شیمیایی در مواد مغذی بوده و با کاربرد آن، امکان تولید غذاهای حاوی بذر گیاهی و سرشار از مواد مغذی برای مصارف انسانی و جانوری ایجاد می‌شود (۵). کاهش کیفیت غذایی به‌عنوان یک مشکل در عمل‌آوری سنتی در زمان استفاده از دماهای بالا می‌باشد. از این لحاظ فرآیند اکستروژن مطلوب‌تر است زیرا سبب ابقاء بیش‌تر مواد مغذی می‌گردد. این مسأله به‌دلیل استفاده از دمای بالا اما در زمان کوتاه در این فناوری می‌باشد. علاوه‌بر این در فرآیند اکستروژن، ماده خام در مدت کوتاه در معرض برش شدید مکانیکی قرار می‌گیرد. این مسأله منجر به شکستن پیوندهای کووالانسی در بیوپلیمرها و تشدید تخریب ساختاری آن‌ها و در نتیجه ایجاد بافت جدید در فرآورده نهایی می‌شود که به‌نظر می‌رسد بر قابلیت هضم فرآورده مؤثر باشد. در مجموع به مطالعات بیشتری در شرایط داخل و خارج از بدن موجودات زنده جهت بررسی اثر فرآیند اکستروژن بر بهبود کیفیت خوراک‌های مصرفی توسط جانوران و انسان نیاز است (٦).

کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) که از مهم‌ترین گونه‌های ماهیان پرورشی در ایران و جهان است، به‌دلیل همه‌چیزخوار بودن و توانایی فیزیولوژیکی، قادر به مصرف مقادیر بیش‌تری از مواد اولیه گیاهی در جیره غذایی می‌باشد (۷). مطالعه تغییر فعالیت آنزیم‌های گوارشی به‌منظور پی‌بردن به چگونگی سازگاری جانوران با تغییر کیفیت جیره غذایی ضروری است (۸). هدف از پژوهش حاضر، تعیین اثرات میوه بلوط به‌عنوان یکی از مواد اولیه جیره غذایی بر شاخص‌های رشد، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و قابلیت هضم غذا در ماهی کپور معمولی بود.

مواد و روش‌ها

شرایط اکستروژن: به‌منظور تولید آرد میوه بلوط ایرانی (*Quercus brantii*)، پس از حذف دستی پیاله و پوسته خارجی بلوط، میوه به‌دست آمده به‌مدت حدود یک هفته و در معرض باد پنکه در دمای اتاق خشک گردید. پوسته داخلی میوه به‌صورت دستی حذف شد. مغز میوه بلوط، آسیاب گردیده و با الک ۲۵۰ میکرون غربال شد. آرد گندم از بازار خریداری گردید. پس از انجام آزمون‌های اولیه خارج از تیمارهای آزمایشی، خمیر آرد بلوط با افزودن ۱۰ درصد آب معمولی و خمیر آرد گندم با افزودن ۲۰ درصد آب معمولی تهیه شد. هرکدام از خمیرها

به‌صورت جداگانه در دستگاه اکسترودر با قطر حدیده ۳ میلی‌متر، نرخ خوراک‌دهی برابر با ۱۵۰-۱۶۰ گرم در دقیقه، سرعت چرخش ۲۰۰ دور در دقیقه و تحت دمای ۱۳۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. فرآیند اکستروژن در کارگاه شرکت دانش بنیان آتیه‌سازان نگین‌فراز در سال ۱۴۰۱ انجام شد. رشته‌های اکسترود شده به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق برابر با ۳۵ درجه سانتی‌گراد خشک، آسیاب و با الک ۲۵۰ میکرون غربال شدند.

ساخت غذا و آنالیز بیوشیمیایی آن: پس از تعیین ترکیب بیوشیمیایی آرد بلوط (جدول ۱)، بر اساس نیازهای غذایی کپور معمولی چهار نوع جیره با میزان پروتئین و انرژی تقریباً یکسان به کمک نرم‌افزار UFFDA مطابق با جدول ۲ طراحی و با استفاده از چرخ گوشت ساخته شد. سپس در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت خشک و بعد خرد و غربال گردید. به‌منظور تعیین ترکیب بیوشیمیایی مواد اولیه و جیره‌های غذایی، پروتئین خام به روش کلدال، چربی خام به روش سوکسله، خاکستر با استفاده از کوره و ماده خشک به‌وسیله آون اندازه‌گیری شد (۹). میزان کربوهیدرات براساس مقادیر پروتئین خام، چربی خام و خاکستر محاسبه گردید. انرژی خام براساس ضرایب ۱۷/۲، ۲۳/۶ و ۳۹/۵ کیلو ژول در گرم به ترتیب برای کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و چربی‌ها محاسبه شد (۱۰).

جدول ۱- ترکیب بیوشیمیایی انواع آرد بلوط بر اساس ماده خشک (انحراف استاندارد ± میانگین سه بار تکرار).

آرد بلوط	پروتئین خام (درصد)	چربی خام (درصد)	خاکستر (درصد)	کربوهیدرات (درصد)	انرژی خام (کیلو ژول در گرم)
اکسترود نشده	۴/۷۶±۰/۰۴	۹/۹۸±۰/۱۰	۱/۹۲±۰/۰۱	۸۳/۳۴	۱۹/۴۰
اکسترود شده	۴/۵۵±۰/۰۵	۶/۴۸±۰/۱۶	۱/۹۶±۰/۰۱	۸۷/۰۱	۱۸/۶۰

جدول ۲- فرمولاسیون و ترکیب بیوشیمیایی جیره‌های غذایی (بر اساس ماده خشک).

اقلام غذایی	جیره ۱	جیره ۲	جیره ۳	جیره ۴
آرد بلوط اکسترود نشده (درصد)	۰/۰۰	۰/۰۰	۵/۰۰	۰/۰۰
آرد بلوط اکسترود شده (درصد)	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۵/۰۰
آرد گندم اکسترود نشده (درصد)	۰/۰۰	۵/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
آرد گندم اکسترود شده (درصد)	۱۷/۰۰	۱۲/۰۰	۱۲/۰۰	۱۲/۰۰
آرد سویا (درصد)	۳۴/۵۵	۳۴/۵۴	۳۴/۴۱	۳۴/۳۷
پودر ماهی (درصد)	۲۴/۶۳	۲۴/۶۳	۲۵/۲۶	۲۵/۳۱
روغن کلزا (درصد)	۶/۷۸	۶/۷۸	۶/۲۸	۶/۲۸
اقلام ثابت*(درصد)	۱۷/۰۵	۱۷/۰۵	۱۷/۰۵	۱۷/۰۵
مجموع	۱۰۰/۰۰	۱۰۰/۰۰	۱۰۰/۰۰	۱۰۰/۰۰
ترکیب بیوشیمیایی				
پروتئین خام (درصد)	۴۲/۲۸	۴۱/۱۵	۴۱/۶۰	۴۰/۲۰
چربی خام (درصد)	۸/۱۳	۸/۷۰	۸/۹۳	۸/۸۸
خاکستر (درصد)	۱۱/۳۰	۱۱/۱۴	۱۱/۲۱	۱۰/۹۱
کربوهیدرات (درصد)	۳۸/۲۹	۳۹/۰۱	۳۸/۲۶	۴۰/۰۱
انرژی خام (کیلو ژول در گرم)	۱۹/۷۷	۱۹/۸۶	۱۹/۹۲	۱۹/۸۸

*اقلام ثابت شامل سلولز ۱۵ درصد، دی کلسیم فسفات ۱ درصد، متیونین ۰/۴ درصد، مکمل معدنی تجاری ۰/۲۵ درصد، مکمل ویتامینی تجاری ۰/۲۵ درصد، کولین ۰/۱۵ درصد بود

پرورش و زیست‌سنجی ماهی: پرورش در سالن با ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در مخازن گرد ۲۵۰ لیتری به‌مدت ۸ هفته در سال ۱۴۰۱ انجام شد. جهت هر کدام از ٤ تیمار غذایی، ۳ مخزن در نظر گرفته شد و در هر مخزن ۱۵عدد ماهی با میانگین وزنی ۰/۰۳±۵/٤۲ گرم به‌طور تصادفی معرفی گردید. ماهیان در ساعات ۷، ۱۲ و ۱۷ تا حد سیری تغذیه شدند. تعویض آب به‌آرامی و به‌میزان حدود ۷۰ درصد و هر ۲-۳ روز یک‌بار انجام شد. طی دوره پرورش میزان پی اچ آب بین ۷/۵۵ تا ۸/۰۱، دمای آب بین ۲۲ تا ۲۵/۲ درجه سانتی‌گراد و اکسیژن محلول در آب بین ٦/۱ تا ۹/۷ میلی‌گرم در لیتر ثبت گردید. شاخص‌های نرخ رشد ویژه و ضریب چاقی بر اساس روابط ریاضی ذیل محاسبه گردید (۲):

۱۰۰×[دوره پرورش بر حسب روز / (وزن اولیه ماهی nL – وزن نهایی ماهی nL)] = نرخ رشد ویژه (درصد در روز)

۱۰۰×[طول کل ماهی بر حسب سانتی‌مترمکعب / وزن ماهی بر حسب گرم] = ضریب چاقی (درصد)

استخراج آنزیم: در پایان دوره پرورش پس از ۲٤ ساعت قطع غذادهی، اقدام به صید ۲ عدد ماهی از هر مخزن به‌طور تصادفی گردید (جدول ۳). پس از بیهوش کردن ماهیان، کل روده جداسازی شد. شستشوی خون و مواد زائد با محلول بافر فسفاتی-نمکی سرد (*pH* برابر با ۷/۲ ۰/۱ مولار حاوی ۰/۹ درصد کلرید سدیم) انجام گردید. به کمک محلول بافر، هموژنات ۱۰ درصد از روده تمیز بر روی یخ با استفاده از هاون تهیه شد (۱۱). هموژنات در g ۱٤۰۰۰ به‌مدت ۱۵ دقیقه در ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ گردید (۱۱). سوپرناتانت تا زمان آزمایش در ٦۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. میزان پروتئین در عصاره آنزیمی به روش برد فورد و بر اساس جذب نوری در ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (۱۲).

سنجش فعالیت پروتئاز: ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی به ۲ میلی‌لیتر سوبسترا (کازئین ۰/٦ درصد در محلول بافر) افزوده شد. این مخلوط به‌مدت ۱ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوباته گردید. سپس ۲ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک‌اسید سرد ۱۲ درصد به آن اضافه شد تا واکنش متوقف گردد. سانتریفوژ در g ۱٤۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. جذب نوری در دستگاه اسپکتروفتومتر مدل بیوکروم-لیبرا-اس ۲۲ در طول موج ۲۷۳ نانومتر قرائت گردید. شاهد با افزودن تری‌کلرواستیک اسید به سوبسترا قبل از انکوباسیون به‌دست آمد. فعالیت پروتئاز طبق فرمول ذیل محاسبه شد (۱۱):

ساعت / میلی‌گرم پروتئین در عصاره آنزیمی / میکروگرم تیروزین آزاد شده = فعالیت پروتئاز

سنجش فعالیت آمیلاز: ۰/۰۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی به ۱/٤۹ میلی‌لیتر سوبسترا (نشاسته ۱ درصد در محلول بافر) افزوده شد. این مخلوط به‌مدت ۲۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوباته گردید. سپس ۱/۵ میلی‌لیتر معرف دی‌نیترو سالیسیلیک اسید به آن افزوده شد و در حمام آب جوش به‌مدت ۵ دقیقه قرار گرفت. پس از خنک شدن، شدت رنگ در دستگاه اسپکتروفتومتر مدل بیوکروم-لیبرا-اس ۲۲ در طول موج ۵٤۰ نانومتر قرائت گردید. شاهد با افزودن دی‌نیتروسالیسیلیک اسید، قبل از انکوباسیون به‌دست آمد. فعالیت آمیلاز طبق فرمول ذیل محاسبه شد (۱۱):

ساعت / میلی‌گرم پروتئین در عصاره آنزیمی / میلی‌گرم مالتوز آزاد شده = فعالیت آمیلاز

آماده‌سازی نمونه جهت هضم: مقدار ٤٠ میلی‌لیتر محلول بافر و سپس ۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی به ۲۰۰ میلی‌گرم از هر نمونه غذایی افزوده شد. هضم پروتئین به‌مدت ٦ ساعت و هضم کربوهیدرات به‌مدت ۷ ساعت در دمای اتاق (۲٦ درجه سانتی‌گراد) بر روی شیکر با شدت ۲۰۰ دور در دقیقه و در تاریکی انجام گردید. برای هر نمونه، ۳ تکرار در نظر گرفته شد. قبل از هضم، ۱/۵ میلی‌لیتر از هر مخلوط به‌عنوان شاهد جهت تعیین قابلیت هضم پروتئین و ۱/۵ میلی‌لیتر هم به‌عنوان شاهد برای تعیین قابلیت هضم کربوهیدرات برداشته شد (۱۳).

قابلیت هضم پروتئین: ۱/۵ میلی‌لیتر شاهد هضم نشده و یا مخلوط هضم شده به‌خوبی با ۱/۵ میلی‌لیتر معرف کادمیوم‌نین‌هیدرین مخلوط گردید. این مخلوط به‌مدت ۵ دقیقه در ۸٤ درجه سانتی‌گراد انکوباته و سپس فوراً بر روی یخ سرد شد. پس از سانتریفوژ در ۲۵۰۰۰g به‌مدت ۱۰ دقیقه، سوپرناتانت در دستگاه اسپکتروفتومتر مدل بیوکروم–لیبرا–اس ۲۲ در طول موج ۵۰۷ نانومتر قرائت گردید و با منحنی استاندارد تیروزین مقایسه گردید (۱۳):

میلی‌گرم نمونه غذایی / میلی‌گرم تیروزین آزاد شده = قابلیت هضم پروتئین در شرایط آزمایشگاهی

قابلیت هضم کربوهیدرات: مقدار ۱/۵ میلی‌لیتر شاهد هضم نشده و یا مخلوط هضم شده به‌خوبی با ۱/۵ میلی‌لیتر معرف دی‌نیتروسالیسیلیک‌اسید ۱ درصد به‌مدت ۵ دقیقه در آب جوش حرارت داده شد. جذب نوری در دستگاه اسپکتروفتومتر مدل بیوکروم–لیبرا–اس ۲۲ در طول موج ٥٤٠ نانومتر قرائت گردید و با منحنی استاندارد مالتوز مقایسه شد (۱۳):

میلی‌گرم نمونه غذایی / میلی‌گرم مالتوز آزاد شده = قابلیت هضم کربوهیدرات در شرایط آزمایشگاهی

تجزیه و تحلیل آماری: در طرح کاملاً تصادفی، همه محاسبات با استفاده از نرم‌افزار SPSS نگارش ۲۰ و Excel نسخه ۲۰۱۳ انجام شد. کنترل نرمال بودن توزیع داده‌ها با آزمون کلموگروف–اسمیرنوف، کنترل همگنی واریانس با آزمون لون، مقایسه متغیرهای مورد مطالعه با آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج

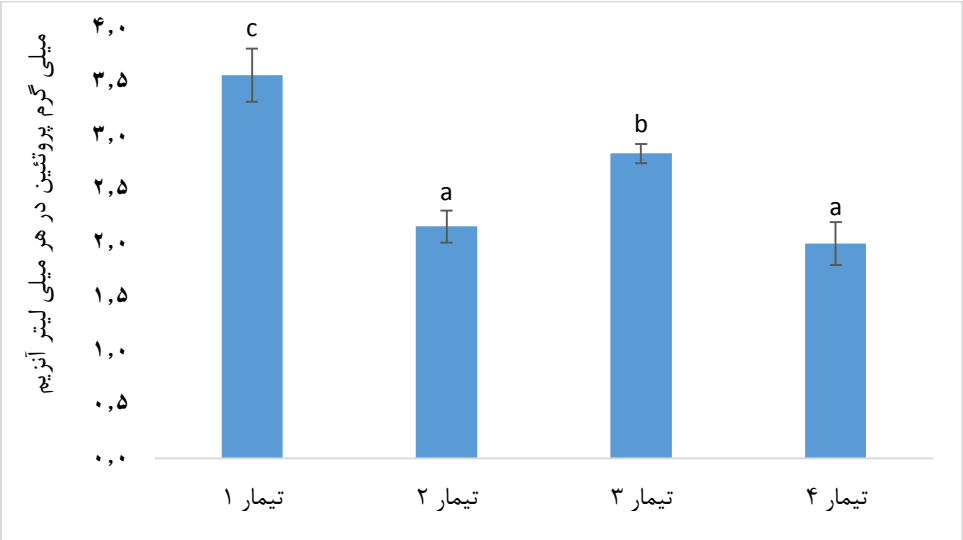
همان‌طور که در جدول ۳ نشان داده شده است، بعد از دوره پرورش بالاترین وزن و طول کل در ماهی‌های تیمار ٤ (تغذیه شده با جیره حاوی آرد بلوط اکسترود شده) مشاهده گردید و اگرچه تفاوت معنی‌داری با تیمارهای ۱ و ۲ (تغذیه شده با جیره‌های فاقد آرد بلوط) نداشت اما به‌طور معنی‌دار بیش‌تر از وزن ($P<۰/۰٦$) و طول کل ($P<۰/۰۳$) ماهی‌ها در تیمار ۳ (تغذیه شده با جیره حاوی آرد بلوط اکسترود نشده) بود. به‌عبارت دیگر اکسترود کردن آرد بلوط اثر مثبت معنی‌دار بر وزن و طول کل ماهی‌ها داشت اما اکسترود کردن آرد گندم چنین اثری بر ماهی‌ها نداشت. پس از دوره پرورش، طول کل ماهی‌های تیمار ۳ به‌طور معنی‌دار از طول کل ماهی‌ها در سایر تیمارها کم‌تر بود ($P<۰/۰۵$). شاخص‌های ضریب چاقی و نرخ رشد ویژه به‌طور معنی‌دار تحت‌تأثیر قرار نگرفتند ($P>۰/۰۵$).

جدول ۳- عملکرد رشد ماهیان در تیمارهای مختلف (خطای استاندارد ± میانگین).

شاخص	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ٤
وزن اولیه (گرم)	۵/٤۲±۰/۰۷	۵/٤۳±۰/۰۷	۵/٤۱±۰/۰۷	۵/٤۹±۰/۰٦
وزن نهایی (گرم)	۲۲/۳۹±۰/۸۱^{ab}	۲۲/۱۲±۱/۱۳^{ab}	۲۰/۱٦±۰/۹٤^{a}	۲۳/۹۳±۰/۹۸^{b}
طول نهایی (سانتی‌متر)	۱۰/۹۱±۰/۱٤^{b}	۱۰/۹۲±۰/۱۹^{b}	۱۰/٤۱±۰/۱۷^{a}	۱۱/۱۳±۰/۱٦^{b}
ضریب چاقی(درصد)	۱/۷۰±۰/۰۱	۱/٦۷±۰/۰٤	۱/۷۵±۰/۰۱	۱/۷۰±۰/۰٤
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	۲/۵۳±۰/۰۹	۲/٤۸±۰/۱۲	۲/۲۹±۰/۱۲	۲/٦۵±۰/۰۳

در هر سطر، حروف انگلیسی غیرمشابه بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰٦ برای وزن و P<۰/۰۳ برای طول)

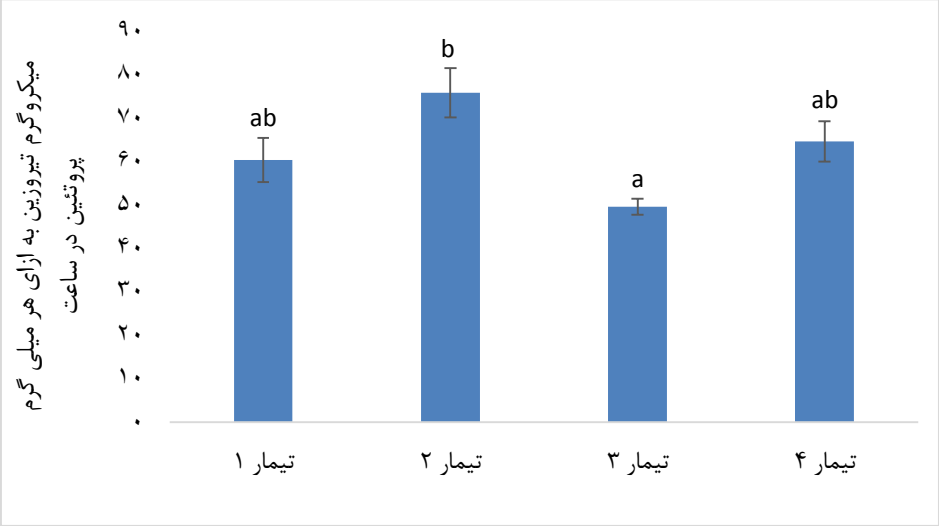
در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های ۱ تا ٤، میزان پروتئین در عصاره آنزیمی به‌ترتیب برابر با ۳/۵۷±۰/۲۵، ۲/۱٦±۰/۱۵، ۲/۸٤±۰/۰۹ و ۲/۰۰±۰/۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر (خطای استاندارد ± میانگین) بود (شکل ۱). میزان پروتئین در عصاره آنزیمی تیمار ۱ به‌طور معنی‌دار بیش‌تر از سایر تیمارها بود و استفاده از آرد بلوط اکسترود نشده در مقایسه با آرد بلوط اکسترود شده سبب افزایش معنی‌دار غلظت پروتئین در عصاره آنزیمی گردید (P<۰/۰۵).



شکل ۱- میزان پروتئین در عصاره آنزیمی تیمارهای مختلف (خطای استاندارد ± میانگین).

حروف انگلیسی مختلف بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

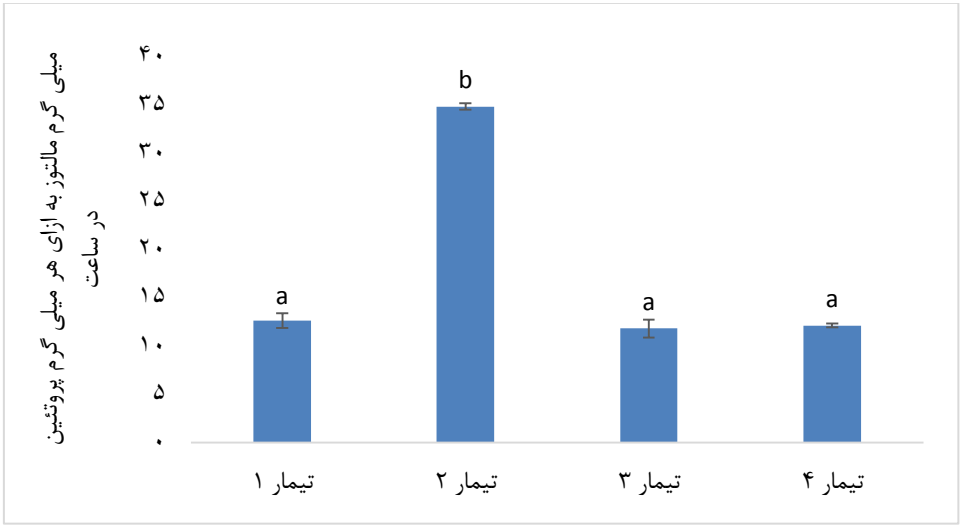
مطابق شکل ۲، میزان فعالیت آنزیم پروتئاز در تیمارهای ۱ تا ٤ به‌ترتیب برابر با ٦۰/٤۹±۵/۱۱، ۷۵/۹۵±۵/٦۷، ٤۹/٦۵±۱/۸٤ و ٦٤/۷۱±٤/٦۷ میکروگرم تیروزین آزاد شده به‌ازای هر میلی‌گرم پروتئین در ساعت بود. بیش‌ترین فعالیت پروتئاز در تیمار ۲ مشاهده شد که تفاوت آن با تیمار ۳ معنی‌دار بود (P<۰/۰۵).



شکل ۲- فعالیت پروتئاز در تیمارهای مختلف (خطای استاندارد ± میانگین).

حروف انگلیسی مختلف بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

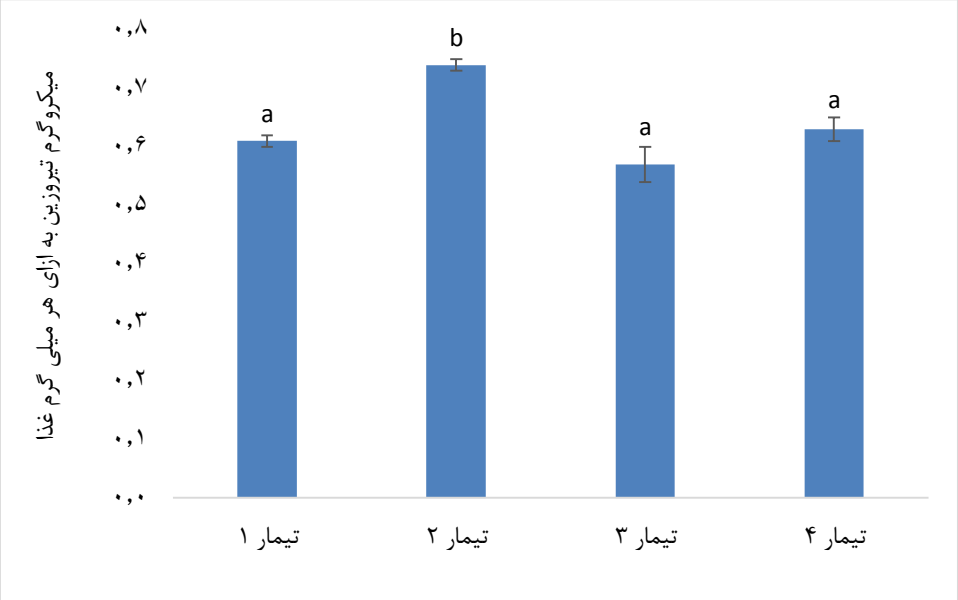
در تیمارهای ۱ تا ٤، میزان فعالیت آمیلاز به‌ترتیب برابر با ۰/۷۷±۱۲/٦٥، ۰/۳۲±۳٤/۸۷، ۰/۹۳±۱۱/۸٥ و ۰/۲۱±۱۲/۱٤ میلی‌گرم مالتوز آزاد شده به ازای هر میلی‌گرم پروتئین در ساعت بود (شکل ۳). به‌طور معنی‌دار میزان فعالیت آمیلاز با مصرف جیره شماره ۲ افزایش یافت (P<۰/۰۵) اما سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری از لحاظ این شاخص با هم نداشتند.



شکل ۳- فعالیت آمیلاز در تیمارهای مختلف (خطای استاندارد ± میانگین).

حروف انگلیسی مختلف بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

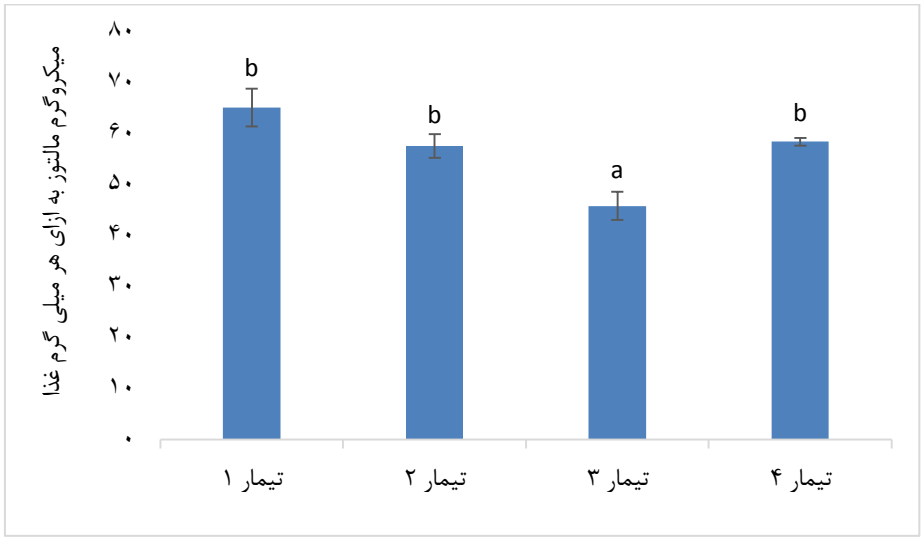
طبق شکل ٤، قابلیت هضم پروتئین در تیمارهای ۱ تا ٤ به‌ترتیب برابر با ۰/۰۱±۰/٦۱، ۰/۰۱±۰/۷٤، ۰/۰۳±۰/٥۷ و ۰/۰۲±۰/٦۳ میکروگرم تیروزین به‌ازای هر میلی‌گرم غذا بود. میزان این شاخص در تیمار ۲ به‌طور معنی‌دار بیش‌تر از سایر تیمارها بود (P<۰/۰٥) اما سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری از لحاظ قابلیت هضم پروتئین با هم نداشتند.



شکل ٤- قابلیت هضم پروتئین در تیمارهای مختلف (خطای استاندارد ± میانگین).

حروف انگلیسی مختلف بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های ۱ تا ٤، قابلیت هضم کربوهیدرات به‌ترتیب برابر با ۳/۷۰±٦٥/۱٥، ۲/۳٤±٥۷/٥٥، ۲/۷٦±٤٥/۷۸ و ۰/۷٥±٥۸/٤۲ میکروگرم مالتوز به‌ازای هر میلی‌گرم غذا بود (شکل ٥). به‌طور معنی‌دار کم‌ترین قابلیت هضم کربوهیدرات در تیمار ۳ مشاهده گردید (P<۰/۰٥) اما سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری از لحاظ این شاخص با هم نداشتند. در مجموع، استفاده از آرد بلوط اکسترود شده به‌جای بخشی از آرد گندم اکسترود شده در جیره غذایی کپور معمولی اثر معنی‌داری بر فعالیت پروتئاز و آمیلاز و قابلیت هضم پروتئین و کربوهیدرات نداشت (P>۰/۰٥).



شکل ٥- قابلیت هضم کربوهیدرات در تیمارهای مختلف (خطای استاندارد ± میانگین).

حروف انگلیسی مختلف بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰٥).

بحث

نتایج مشاهده شده در این پژوهش را می‌توان ناشی از وجود مواد ضد تغذیه‌ای در جیره غذایی، عمل‌آوری آرد بلوط و آرد گندم به روش اکستروژن و سازگاری فیزیولوژیک ماهی به جیره غذایی دانست. تانن‌ها گروهی از ترکیبات فنولی ضد مغذی هستند که وجود آن‌ها در میوه بلوط ایرانی به اثبات رسیده است (۱٤). حضور ترکیبات فنولی (۱۵) و پروتئین‌های بازدارنده آمیلاز (۱٦) نیز در گندم گزارش شده است. این ترکیبات ضد تغذیه‌ای از طریق تشکیل کمپلکس با آنزیم‌های گوارشی مختلف، قادرند از جذب مواد مغذی در روده جلوگیری نمایند (۱۷). مطالعات کمی در مورد اثر مواد ضد مغذی بر آنزیم‌های روده‌ای ماهی انجام شده است. در پژوهش حاضر استفاده از آرد بلوط اکسترود نشده (تیمار ۳) سبب کاهش معنی‌دار سطح فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و آمیلاز در مقایسه با تیمار تغذیه شده با آرد گندم اکسترود نشده (تیمار ۲) گردید. پژوهش‌ها نشان داده است که تانن‌های موجود در لوبیا به‌شدت سبب ممانعت از فعالیت آنزیم‌های تریپسین، کیموتریپسین و آلفا- آمیلاز لوزالمعده می‌شوند (۱۸). با توجه به این‌که میزان ترکیبات فنولی در آرد میوه بلوط عمل‌آوری نشده (۸/٤ درصد) (۳) بسیار بیش‌تر از آرد گندم عمل‌آوری نشده (۰/٤-۰/۲ درصد) (۱٤) است، نتیجه فوق قابل توجیه می‌باشد. به نظر می‌رسد علت قابلیت هضم کم‌تر کربوهیدرات به‌طور معنی‌دار در تیمار شماره ۳ در مقایسه با سایر تیمارها فعالیت کم‌تر آمیلاز در این تیمار باشد. کاهش سطح فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و آمیلاز و قابلیت هضم کم‌تر کربوهیدرات در صورت استفاده از آرد بلوط اکسترود نشده، تأییدکننده اثر مثبت اکستروژن بر کاهش سطوح مواد ضد تغذیه‌ای مختلف می‌باشد که در پژوهش‌های متعدد (٦، ۱۹ و ۲۰) به اثبات رسیده است.

در این پژوهش استفاده از آرد گندم اکسترود نشده (تیمار ۲) موجب افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های آمیلاز و پروتئاز در مقایسه با سایر تیمارها گردید اگرچه این افزایش در برخی موارد معنی‌دار نبود. احتمالاً علت قابلیت هضم بیش‌تر پروتئین به‌طور معنی‌دار در تیمار ۲ در مقایسه با سایر تیمارها هم فعالیت بیش‌تر پروتئاز در این تیمار بوده است. در قزل‌آلای رنگین‌کمان و کپور معمولی مشخص شده است که بازدارنده‌های پروتئینی موجود در گندم، از فعالیت آلفا- آمیلاز ممانعت به‌عمل می‌آورند (۱٦). عوامل ضدتغذیه‌ای مذکور ممکن است مسبب افزایش پاتولوژیک میزان فعالیت آنزیم آمیلاز به‌طور معنی‌دار در تیمار شماره ۲ نسبت به سایر تیمارها (علی‌رغم عدم افزایش قابلیت هضم کربوهیدرات) یا به‌عبارت دیگر واکنش جبرانی جانور به وجود بازدارنده‌های پروتئینی آمیلاز در آرد گندم اکسترود نشده در جیره شماره ۲ باشد. در تأیید این استدلال مشاهده شده است که تغذیه قزل‌آلای رنگین‌کمان با جیره غذایی آلوده به آفلاتوکسین موجب افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی شامل آمیلاز، لیپاز و آلکالین پروتئاز می‌گردد (۸). در مطالعه دیگری بر روی قزل‌آلای رنگین‌کمان، تغذیه با جیره غذایی آلوده با نانو ذرات اکسید نیکل سبب افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم آلکالین پروتئاز نسبت به گروه شاهد فاقد آلودگی با نانو ذره گردید (۲۱). عدم پیروی قابلیت هضم کربوهیدرات از میزان فعالیت آمیلاز در مطالعه‌ای دیگر نیز مشاهده شده است. در گربه ماهی (*Rhamdia quelen*) در مقایسه با تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) با وجود فعالیت‌های بالاتر آمیلاز و مالتاز، میزان هضم کربوهیدرات کم‌تر بود. پژوهش‌گران علت فعالیت بیش‌تر آمیلاز و مالتاز در گربه‌ماهی را به سازگاری جهت جبران کوتاه بودن روده این ماهی در مقایسه با تیلاپیا ربط دادند (۲۲).

نتایج زیست‌سنجی نشان داد اکسترود کردن آرد بلوط اثر مثبت معنی دار بر وزن و طول کل ماهی‌ها داشت اما اکسترود کردن آرد گندم چنین اثری بر ماهی‌ها نداشت. با توجه به اثر مثبت اکستروژن بر کاهش سطوح مواد ضدتغذیه‌ای به نظر می‌رسد علت این مسأله بالاتر بودن میزان ترکیبات ضد مغذی در آرد بلوط در مقایسه با آرد گندم باشد.

در مجموع، از آن‌جایی‌که وزن نهایی ماهیان در تیمار ۳ به‌طور معنی‌دار کم‌تر از تیمار ٤ بود اما مقدار این شاخص در تیمار ٤ تفاوت معنی‌داری با تیمارهای ۱و ۲ نداشت و از طرف دیگر استفاده از آرد بلوط اکسترود شده به‌جای بخشی از آرد گندم اکسترود شده در جیره غذایی کپور معمولی اثر معنی‌داری بر فعالیت پروتئاز و آمیلاز و هم‌چنین قابلیت هضم پروتئین و کربوهیدرات نداشت، جایگزینی آرد گندم با آرد بلوط در سطح ۵ درصد جیره غذایی اکسترود شده جهت تغذیه ماهی کپور معمولی توصیه می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی سازمان صنایع کوچک و شهرک‌های صنعتی ایران انجام شده است. از مدیریت محترم شرکت دانش بنیان آتیه‌سازان نگین‌فراز جهت همکاری در انجام فرآیند اکستروژن نهایت تشکر به‌عمل می‌آید.

منابع

1. Yasumaru, F., & Lemos, D. (2014). Species specific in vitro protein digestion (pH-stat) for fish: method development and application for juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), cobia (*Rachycentron canadum*), and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 427, 74-84.
2. Narui, M., & Alamdari, H. (2022). Effect of feeding with soaked and fermented Iranian acorn (*Quercus brantii*) on the growth, feed utilization and carcass composition of common carp (*Cyprinus carpio*). *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 31 (1), 47-56. (Translated in Persian)
3. Nadri, A., & Alamdari, H. (2022). Effects of soaking oak acorn, *Quercus brantii* in water on the removal of phenolic compounds and its digestibility for common carp, *Cyprinus carpio*. *Aquatic Animals Nutrition*, 8 (1), 57-66. (Translated in Persian)
4. Szablowska, E., & Tanska, M. (2020). Acorn flour properties depending on the production method and laboratory baking test results: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20, 980-1008.
5. Singh, S., Gamlath, S., & Wakeling, L. 2007. Nutritional aspects of food extrusion: A review. *International Journal of Food Science and Technology*, 42 (8), 916-929.
6. Nikmaram, N., Leong, S. Y., Koubaa, M., Zhu, Z., Barba, F. J., Greiner, R., Oey, I., & Roohinejad, S. (2017). Effect of extrusion on the anti-nutritional factors of food products: An overview. *Food Control*, 79, 62-73.
7. Anwar, A., Wan, A. H., Omar, S., El-Haroun, E., & Davies, S. J. (2020). The potential of a solid-state fermentation supplement to augment white lupin (*Lupinus albus*) meal incorporation in diets for farmed common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture Reports*, 17, 1-10.
8. Mahmoudikiya, Z., Imani, A., & Sarvi Moghanlou, K. (2019). Effect medicinal plants powder, stocking density and dietary aflatoxin contamination on digestive enzymes activity of rainbow trout. Veterinary Researches and Biological Products, 124, 110-117. (Translated in Persian)
9. AOAC (Association of Official Analytical Chemists). (2000). Official Methods of Analysis 17th ed. Washington D.C., 2200 p.

10. NRC (National Research Council). (2011). Nutrient requirements of fish and shrimp. National Academy Press. Washington, D.C., 376 p.
11. Khan, A., & Ghosh, K. (2013). Phytic acid-induced inhibition of digestive protease and α-amylase in three Indian major carps: An in vitro study. *Journal of the world aquaculture society*, 44 (6), 853-859.
12. Walker, J. M. (2002). The Protein Protocols Handbook. University of Hertfordshire, Hatfield, Humana Press Inc., UK. 1173 p.
13. Kattakdad, S., Jintasataporn, O., Worawattanamateekul, W., & Chumkam, S. (2018). pH characterization of digestive enzyme and in vitro digestibility of red bee shrimp *Caridina cantonensis* (Decapoda: Atyidae). *Journal of Aquaculture Research and Development*, 9 (2), 1-6.
14. Ghaderi-Ghahfarrokhi, M., Sadeghi-Mahoonak, A. R., Alami, M., & Mousavi-Khanegah, A. (2017). Effect of processing treatments on polyphenol removal from kernel of two Iranian acorns varieties. *International Food Research Journal*, 24 (1), 86-93.
15. Kokoua, F., & Fountoulaki, E. (2018). Aquaculture waste production associated with antinutrient presence in common fish feed plant ingredients. *Aquaculture*, 495, 295-310.
16. Hofer, R., & Sturmbauer, C. (1985). Inhibition of trout and carp α-amylase by wheat. *Aquaculture*, 48 (3-4), 277-283.
17. Mandal, S., & Ghosh, K. (2010). Inhibitory effect of *Pistia* tannin on digestive enzymes of Indian major carps: an in vitro study. *Fish Physiology and Biochemistry*, 36, 1171-1180.
18. Carmona, A., Seild, D. S., & Jaffe, W. G. (1991). Comparison of extraction methods and assay procedures for the determination of the apparent tannin content of common beans. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 56 (3), 291-301.
19. Vidal, L. V. O., Xavier, T. O., Moura, L. B., Michelato, M., Martins, E. N., & Furuya, W. M. (2017). Apparent digestibility of wheat and coproducts in extruded diets for the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Revista Brasileira de Saude e Producao Animal*, 18 (3), 479-491.
20. Konovalenko, L. Y., Nemenushchaya, L. A., & Shchegolikhina, T. A. (2022). Techniques for up-to-date aquaculture compound feed production facilities. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science, 954, 012038.
21. Imani, A., Salimi Bani, M., Noori, F., Farzaneh, M., & Sarvi Moghanlou, K. (2017). The effect of bentonite and yeast cell wall along with cinnamon oil on aflatoxicosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Digestive enzymes, growth indices, nutritional performance and proximate body composition. *Aquaculture*, 476, 160-167.
22. Gominho-Rosa, M. C., Rodrigues, A. P. O., Mattioni, B., Francisco, A., Moraes, G., & Fracalossi, D. M. (2015). Comparison between the omnivorous jundia catfish (*Rhamdia quelen*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) on the utilization of dietary starch sources: Digestibility, enzyme activity and starch microstructure. *Aquaculture*, 435, 92-99.