

اثر اسید فرمیک، نمک پتاسیم دی فرمات و محلول نانو کیتوزان اسید فرمیک بر میزان بازماندگی، پارامترهای رشد و ترکیب لاشه در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

چکیده

مطالعه حاضر به منظور ارزیابی تأثیر اسید فرمیک، نمک پتاسیم دی فرمات و محلول نانو کیتوزان در اسید فرمیک بر روی فاکتورهای رشد و کیفیت لاشه بچه ماهی کپور معمولی انجام شد. در این تحقیق بر پایه‌ی طرح کاملاً تصادفی تعداد ۴۵۰ عدد بچه ماهی کپور معمولی با متوسط وزن $16/5 \pm 0/5$ گرم (۱۰ تیمار ۱۵ تایی هر یک با ۳ تکرار) استفاده شد. تیمارها شامل سه تیمار تغذیه‌شده با محلول نانو کیتوزان در اسید فرمیک، سه تیمار اسید فرمیک، سه تیمار نمک پتاسیم دی فرمات به همراه غذای تجاری در سطوح $0/25$ ، $0/5$ و $0/75$ درصد بود و یک گروه نیز به عنوان شاهد، غذای تجاری بدون افزودنی دریافت کردند. غذادهی به مدت ۸ هفته به صورت ۳ بار در روز تا حد سیری انجام شد. در انتهای دوره ترکیب لاشه و شاخص‌های رشد مورد بررسی و مقایسه قرار گرفتند. نتایج نشان داد که افزودن اسید فرمیک، نمک پتاسیم دی فرمات و محلول نانو کیتوزان در اسید فرمیک در سطح بالای $0/75$ درصد به جیره غذایی ماهی کپور معمولی اثر منفی در افزایش وزن نهایی و نرخ رشد ویژه در مقایسه با شاهد داشته است ($P < 0/05$) و از طرفی بیشترین مقدار ضریب تبدیل غذایی نیز در تیمارهای اسید فرمیک، نمک پتاسیم دی فرمات و محلول نانو کیتوزان در اسید فرمیک در سطح $0/75$ درصد به جیره غذایی ماهی کپور معمولی در مقایسه با شاهد نیز مشاهده شد ($P < 0/05$). در این تحقیق میزان پروتئین و میزان چربی در بین تیمارهای مورد مطالعه از لحاظ سطح آماری اختلاف معنی‌داری نداشته ($P < 0/05$) و تأثیر مطلوب جیره‌های بکار رفته در سطح $0/25$ درصد محلول نانو کیتوزان در اسید فرمیک مشاهده شد. نتایج نشان داد درصد بازماندگی در بین تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نداشته است ($P > 0/05$). لذا به جهت بهبود ترکیب بیوشیمیایی بدن استفاده از $0/25$ درصد محلول نانو کیتوزان در اسید فرمیک در جیره‌های غذایی ماهی کپور معمولی توصیه می‌شود.

واژگان کلیدی: ماهی کپور معمولی، اسید فرمیک، نمک پتاسیم دی فرمات، نانو کیتوزان، *Cyprinus carpio*.

پیوند مکتبی^۱

حمید محمدی آذر^{۲*}

رحیم پیغان^۳

سید محمد موسوی^۴

مهدی زارعی^۵

۱. دانشجوی دکتری تخصصی، گروه شیلات، واحد پردیس خودگردان، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران
۲. استادیار دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران
۳. استاد دانشگاه شهید چمران اهواز، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران
۴. دانشیار دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران
۵. استاد دانشگاه شهید چمران اهواز، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

*مسئول مکاتبات:

azarmhamid@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۷/۱۷

کد مقاله: ۱۳۹۷۰۴۰۶۷۳

این مقاله برگرفته از رساله دکتری است.

مقدمه

هدف نهایی انواع فعالیت‌های آبی‌پروری، افزایش بازده تولید، ارتقای کیفیت محصول و افزایش میزان سوددهی می‌باشد. یکی از روش‌های افزایش تولید در آبی‌پروری، کنترل بیماری بوده که در این زمینه می‌توان به استفاده از مکمل‌های تقویت ایمنی و رشد، پروبیوتیک‌ها و داروهای ضد میکروبی (آنتی‌بیوتیک‌ها) اشاره کرد. در دو دهه اخیر مصرف داروهای ضد میکروبی برای درمان عفونت‌های مختلف ماهیان

به‌خصوص بیماری‌های باکتریایی افزایش یافته است که این مسئله سبب بروز مقاومت باکتریایی، تجمع این مواد در بدن ماهیان پرورشی، ایجاد خطرات بهداشتی برای مصرف‌کنندگان و نیز آلودگی محیط‌زیست می‌گردد (Aoki, 1992). لذا در جیره غذایی ماهیان می‌توان موادی به‌غیر از آنتی‌بیوتیک‌ها را افزود که با استفاده از آن‌ها، میزان رشد ماهیان بیشتر شده و طی زمان کمتری به محصول نهایی با همان کیفیت و چه‌بسا با کیفیت بالاتری دست‌یافت. این مواد تحت عنوان محرک‌های رشد شناخته شده‌اند. از ترکیباتی که به‌عنوان جایگزین مواد ضد میکروبی مطرح می‌باشد می‌توان به اسیدهای آلی اشاره نمود. اسیدهای آلی می‌توانند به‌عنوان یک محرک رشد مورد استفاده قرار گیرد و در نتیجه باعث کاهش هزینه تولید شود (Luckstadt, 2008). همچنین مطالعات انجام شده نشان می‌دهد محرک‌هایی مانند کیتین (Chitin) و کیتوزان باعث تحریک سیستم ایمنی ماهی می‌شوند. این محرک‌ها سبب تسهیل عمل بیگانه‌خواری سلول‌های فاگوسیت کننده و افزایش فعالیت ضد باکتریایی آنها می‌شوند (Jiang and Li, 2001).

اسید فرمیک یک اسید آلی ضعیف و غیر سمی است که از سال ۱۹۴۶ میلادی به‌عنوان یک افزودنی غذایی به کار می‌رود (Malone, 2000; Xie et al., 2003). از آن به‌عنوان محافظت‌کننده مواد غذایی استفاده شده است زیرا باعث کاهش باکتری‌ها در غذا می‌شود (Luckstadt, 2008). اسیدهای آلی و نمک‌های آن‌ها قادر به مهار رشد میکروبی در غذا و در نتیجه حفظ تعادل میکروبی در دستگاه گوارش می‌باشند (Freitag, 2007). اسیدهای آلی ترکیباتی هستند که بین یک تا هفت اتم کربن دارند و به‌طور گسترده در گیاهان و حیوانات وجود دارند. این ترکیبات طی فرآیند تخمیر میکروبی تولید می‌شوند. اسیدهای آلی با حفظ pH مناسب دستگاه گوارش سبب بهبود اثر آنزیم‌ها بر مواد غذایی و فراهم شدن مواد غذایی بیشتری برای حیوانات پرورشی می‌شوند که نتیجه آن کاهش مواد غذایی جذب نشده مناسب برای رشد باکتری‌ها است (Eidelsburger, 1998). اسیدهای آلی در دستگاه گوارش به دو صورت عمل می‌کنند، از طریق کاهش سطح pH در معده و جداسازی اسید از سلول باکتری (Liu, 2001). همچنین وجود اسیدهای آلی در غذا باعث افزایش ترشح آنزیم‌های پانکراسی و در نتیجه افزایش هضم‌پذیری مواد معدنی خواهند شد (Luckstadt, 2008). Skinner و Walder (۱۹۹۱) نشان دادند افزودن اسید فرمیک به جیره غذایی می‌تواند نوع و تعداد میکروب‌های روده را تحت تأثیر قرار دهد و سبب افزایش رشد، کاهش تلفات و بهبود ضریب تبدیل غذایی گردد. اطلاعات موجود در مورد اثرات مفید جیره‌های حاوی اسیدهای آلی و نمک‌هایشان روی کارایی رشد در ماهیان متفاوت بوده و به نظر می‌رسد به عواملی همچون گونه ماهیان، اندازه و سن ماهیان، نوع و سطوح اسیدهای آلی و نمک‌هایشان و یا ترکیب آن‌ها بستگی دارد. همچنین ترکیبات جیره-های آزمایشی، ظرفیت بافری مواد تشکیل‌دهنده جیره، مدیریت پرورش و تغذیه و کیفیت آب از دیگر عوامل مؤثر می‌باشند (Lim et al., 2000).

پتاسیم دی فرمات (با نام تجاری فورمی) نمک مخصوص اسید فرمیک است که ویژگی‌های اسیدی و نمکی را باهم دارد. پتاسیم دی فرمات، نمک کریستالی اسید فرمیک است. این نمک شکل تغییر یافته پتاسیم فرمات ساده است که یک پیوند هیدروژنی قوی بین پتاسیم فرمات و اسید فرمیک آزاد باعث به وجود آمدن آن شده است. در کریستال پتاسیم دی فرمات، در ازای هر مولکول پتاسیم فرمات یک مولکول اسید وجود دارد (Diebold and Eidelsburger, 2006). پتاسیم دی فرمات اولین جایگزین آنتی‌بیوتیک‌های خوراکی است که در اتحادیه اروپا مورد تأیید قرار گرفت (Falcao-E-Cunha et al., 2007). تحقیقات بسیاری اثرات مثبت پتاسیم دی فرمات را بر عملکرد رشد، بهبود صعودی افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک در آبزیان تأیید کرده است. Windisch و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که استفاده از پتاسیم دی فرمات می‌تواند اثراتی مشابه آنتی‌بیوتیک‌ها بر رشد و سلامتی حیوان داشته باشد.

در سال‌های اخیر، تحقیقاتی در رابطه با اثرات تغذیه‌ای اسیدهای آلی و پتاسیم دی فرمات انجام شده و اثرات مثبت این افزودنی‌ها بر عملکرد و ضریب تبدیل خوراک مورد تأیید قرار گرفته است. در این مورد، اسید فرمیک بیشتر مورد توجه بوده است. مکانیسم عمل آن‌ها از طریق ترشح آنزیم‌های گوارشی و افزایش بقا مواد مغذی و همچنین بهبود قابلیت هضم مواد مغذی اعمال می‌گردد که در نهایت به بهبود ضریب تبدیل خوراک و افزایش وزن روزانه منجر می‌شود. مزایای اقتصادی این افزودنی‌ها کاهش هزینه خوراک و کاهش طول دوره پرورش و سن عرضه به

بازار است. همچنین مشخص شده است که آنیون‌های اسیدی با عناصر کلسیم، فسفر، منیزیم و روی ترکیب شده و باعث افزایش قابلیت هضم این عناصر می‌گردند (Partanen and Mroz, 1999).

Krome و همکاران (۲۰۱۸) مشاهده نمودند که فاکتورهای رشد در بچه ماهیان کپور معمولی که در جیره غذایی آن‌ها اسید فرمیک و نمک پتاسیم فرمات به کار رفته بود در مقایسه با گروه شاهد به صورت مساوی و یا بیشتر بود. Christiansen و Luckstadt (۲۰۰۸) بررسی نمودند که افزودن پتاسیم دی فرمات (نمک اسید فرمیک) در سطح ۱/۴ درصد به جیره غذایی ماهی قزل آلا ضریب رشد ویژه (SGR) بالاتری نسبت به گروه شاهد داشته است. همچنین باعث بهبود ضریب تبدیل غذایی (FCR) نسبت به گروه شاهد نیز شده است.

Ramli و همکاران (۲۰۰۵) پتاسیم دی فرمات را به عنوان محرک رشد در جیره غذایی ماهی تیلاپیا به کاربرند. در این مطالعه ماهی‌ها شش بار در روز با جیره غذایی همراه با پتاسیم دی فرمات در سطوح (۰، ۰/۲، ۰/۳ و ۰/۵ درصد) در طی دوره ۸۵ روز تغذیه شدند. جیره غذایی شامل ۳۲ درصد پروتئین خام، ۲۵ درصد کربوهیدرات، ۶ درصد چربی و ۱۰ درصد فیبر بود. در طول این دوره پتاسیم دی فرمات به طور معنی داری باعث افزایش مصرف خوراک، افزایش وزن (LWG) بهبود ضریب تبدیل غذایی (FCR) و نسبت کارایی پروتئین (PER) شد. علاوه بر آن نسبت کارایی پروتئین (PER) به دلیل افزودن نمک پتاسیم دی فرمات به طور قابل توجهی بهبود یافت. سطوح ۰/۲ و ۰/۵ درصد پتاسیم دی فرمات نسبت به سایر گروه‌ها بهبود بهتری را نشان دادند. بقا و زنده ماندی در چالشی که در روز ۱۰ تا ۳۰ این دوره با باکتری *Vibrio anguillarum* انجام شد به طور قابل توجهی بالاتر از گروه شاهد بود و این تأثیر وابسته به دز بود. محققین نتیجه گرفتند که کاربرد پتاسیم دی فرمات در سطح ۰/۲ درصد برای کنترل *V. anguillarum* در ماهی تیلاپیا بسیار مؤثر می‌باشد (Ramli et al., 2005).

Zhou و همکاران (۲۰۰۹) در مطالعه‌ای، افزایش وزن نهایی در ماهی تیلاپیا هیبرید (*O. niloticus* × *O. aureus*) که به جیره غذایی آنها پتاسیم دی فرمات (KDF) در سطح ۳ گرم بر کیلوگرم افزوده شده بود به میزان ۱۱/۸ درصد گزارش نمودند، آن‌ها همچنین اعلام نمودند که افزودن سطوح بالاتر مکمل KDF به جیره غذایی ماهی تیلاپیا هیبرید نتایج مثبتی از لحاظ بهبود عملکرد رشد ندارد.

همچنین کیتوزان به عنوان یکی از محرک‌های رشد و یک نوع پلی ساکارید با خاصیت تحریک رشد و تقویت ایمنی در آبزیان بوده که از نظر ساختار شیمیایی پلیمری از گلوکز آمین (Glucosamin) می‌باشد و از استیل زدایی (Deacetylation) کیتین به دست می‌آید. کیتوزان نسبت به کیتین حلالیت بیشتری در آب و سایر حلال‌های قطبی دارد. این ماده دارای بار الکتریکی مثبت بوده که همین امر سبب ایجاد پیوند با غشاهای حاوی بار منفی می‌شود (Kim and Rajapakes, 2005; Romoren et al., 2002). کیتوزان، پلی مر بتا (۱۴۰) ان- استیل دی گلوکز آمین است که از استیل زدایی کیتین استخراج شده از سخت پوستان، به تازگی حشرات و قارچ‌ها تولید می‌شود (Laskin et al., 2008). همچنین استفاده از نانوذرات در تحقیقات دهه‌ی اخیر جایگاه ویژه‌ای یافته است. کوچک نمودن اندازه‌ی اجزای مواد بیولوژیک در حد نانو، توان زیستی آن‌ها را به صورت فزاینده‌ای افزایش می‌دهد که این اثر در مورد مواد بیولوژیک پلی مری مثل کیتین و کیتوزان قابل توجه است و در بعضی تحقیقات کاهش اندازه‌ی ذرات در حد نانو افزایش معنی دار اثر بیولوژیک آن‌ها را باعث شده است (Bar-Ilan et al., 2009, Sharifzadeh et al., 2012). از طرفی با به کار بردن موادی مانند کیتوزان و یا نانو کیتوزان به همراه اسیدهای آلی در جیره غذایی آبزیان می‌توان اثر سینرژیستی کیتوزان را که خود نیز دارای خاصیت تحریک رشد و تقویت ایمنی در آبزیان بوده دنبال کرد. آزمایش‌های انجام گرفته بر خصوصیات تغذیه‌ای نشان داده‌اند که کیتوزان غیر سمی و از نظر بیولوژیکی ایمن است و از طرفی اثر ضد میکروبی بر انواع میکروارگانیسم‌ها دارد (Jiang and Li, 2001). مخمرها و کپک‌ها حساسیت زیادی به این ماده دارند و پس از آن‌ها باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی حساسیت کمتری دارند. کیتوزان به عنوان عامل باکتریوسید یا باکتریوستاتیک عمل می‌کند ولی تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که اثر کیتوزان بیشتر به صورت عاملی باکتریوستاتیک است (Raafat et al., 2008). از طرفی به کارگیری فناوری نانو می‌تواند باعث افزایش کارایی و ارتقای پایداری مواد پوشش دار شود. کاهش اندازه ذرات و کوچکتر شدن منافذ پوشش‌ها باعث افزایش کارایی آن‌ها در مقایسه با پوشش‌های خوراکی معمولی می‌شود. مطالعات نشان داده است که کاربرد پوشش‌های نانومولسیون کیتوزان باعث افزایش ماندگاری بیشتر مواد در مقایسه با کیتوزان

می‌شود (Eshghi et al., 2012; Mohammadhosseini et al., 2012). در مطالعات انجام‌شده توسط Esmaeili و همکاران (۲۰۱۴) بر روی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، Cha و همکاران (۲۰۰۸) بر روی کفشک ماهی زیتونی (*Paralichthys olivaseus*) و Aathi و همکاران (۲۰۱۳) بر روی کپور روهو (*Labe rohita*) نشان داده‌شده است که کاربرد کیتوزان در جیره غذایی منجر به بهبود عملکرد رشد می‌شود، در صورتی‌که استفاده از سطوح مختلف کیتوزان (۲، ۵ و ۱۰ درصد) بر رشد گونه‌های تیلپیا (*Oreochromis auratus*) و (*Oreochromis niloticus*) نه تنها باعث افزایش رشد این ماهی نشده‌است بلکه موجب کاهش رشد آن گردیده است (Shiau and Ya, 1999).

کپور معمولی (*Common carp*) با نام علمی *Cyprinus carpio*، ابتدا بومی آسیای مرکزی بوده است (پیغان و عبدالله مشایی، ۱۳۸۷). این ماهی طی قرن‌های متمادی به نواحی مختلف جهان گسترش طبیعی پیدا کرده و با توسط انسان منتقل شده است. کپور معمولی به دلیل قابلیت تحمل بالا در مقابل نوسانات محیطی و استفاده از محدوده وسیعی از مواد غذایی قابل‌دسترس جزو گونه‌های مهم پرورشی بوده و تقریباً در سراسر دنیا پرورش داده می‌شود (Tokur et al., 2006). همچنین این گونه به‌عنوان یکی از گونه‌های مهم پرورشی در ایران نیز محسوب می‌شود.

به همین منظور تحقیق حاضر باهدف کاربرد اسید فرمیک، نمک آن (پتاسیم دی فرمات) و محلول نانو کیتوزان در اسید فرمیک در جیره غذایی ماهی کپور معمولی به‌منظور افزایش رشد و بهبود ترکیب لاشه ماهی کپور معمولی صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

برای انجام این پژوهش تعداد ۴۵۰ عدد بچه ماهی کپور معمولی (با متوسط وزن $16/5 \pm 0/5$ گرم) از مرکز شهید ملکی در ۲۰ کیلومتری شهر اهواز تهیه‌شده و با استفاده از کپسول اکسیژن و مخازن مخصوص حمل آبیان همراه با هوادهی مداوم به آزمایشگاه دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر انتقال داده شدند. قبل از ذخیره‌سازی، تانک‌ها کاملاً ضدعفونی و با آب شستشو داده‌شده و خشک شدند، سپس تانک‌ها با آب شهری پر شدند و پس از دو روز هوادهی شدید ماهیان به‌طور کاملاً تصادفی بین ۳۰ تانک پلی‌اتیلن با حجم ۳۰۰ لیتر توزیع شدند (۱۵ عدد ماهی در هر تانک). دوره نوری با شرایط طبیعی روز (۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی) تنظیم و داخل هر تانک نیز یک سنگ هوا برای تأمین اکسیژن قرار داده شد. پارامترهای آب شامل دما، اکسیژن محلول و pH با استفاده از مولتی‌متر مدل HQ40d ساخت آلمان اندازه‌گیری و اطلاعات آن‌ها ثبت گردید (جدول ۱).

جدول ۱: برخی از ویژگی‌های کیفی اندازه‌گیری شده در آب مورد استفاده.

ویژگی	میانگین دما (سانتی‌گراد)	اکسیژن محلول (میلی‌گرم بر لیتر)	په‌اشی
نمونه آب	۲۵-۲۶	۵-۶	۷/۵-۷/۸

به‌منظور حفظ کیفیت آب، هر دو روز یک‌بار حدود ۲۵ درصد حجم آب تعویض شد. تانک‌ها روزانه از لحاظ مرگ‌ومیر بررسی شدند. دوره‌ی سازگاری ماهیان جهت سازگار شدن با شرایط جدید به مدت دو هفته قبل از شروع آزمایش در خود تانک‌ها به طول انجامید. در این مطالعه تیمارهای آزمایشی ۱۰ گروه (سه گروه محلول نانو کیتوزان در اسید فرمیک به همراه غذای تجاری در سطوح ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ درصد، سه گروه اسید فرمیک به همراه غذای تجاری در سطوح ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ درصد، سه گروه نمک پتاسیم دی فرمات به همراه غذای تجاری در سطوح ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ درصد و یک گروه غذای پلت تجاری ماهی کپور که از شرکت ۲۱ بیضاء شیراز تهیه‌شده بود

به‌عنوان شاهد با سه تکرار در نظر گرفته شد. پس‌از آن، غذادهی به تعداد ۳ بار در روز به روش دستی و تا حد سیری به مدت هشت هفته تغذیه شدند. هوادهی در زمان غذادهی قطع و پس از ۲۰ دقیقه مجدداً انجام شد.

برای تهیه نانوکیتوزان اقدام به استخراج کیتین از پوسته‌های جمع‌آوری‌شده از میگو نموده به‌این‌ترتیب که ابتدا پوسته‌ها با آب تمیز شسته و در آون با دمای ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد خشک و سپس در هاون خرد شدند. سپس به‌منظور کانی‌زدایی و حذف مواد معدنی از پوسته میگو از اسیدکلریدریک ۰/۲۵ نرمال در دو مرحله استفاده گردید. سپس با شستشو pH به حد ۷ رسانده شده و در آون خشک گردید. نهایتاً با استفاده از محلول سود یک نرمال پروتئین‌ها حذف و رنگبری کیتین حاصل با اتانول ۹۶ درجه انجام شد (Abdou et al., 2008, Rodde et al., 2008). جهت داستیله کردن کیتین و تبدیل آن به کیتوزان از محلول غلیظ سود استفاده شد. بدین منظور هر گرم از کیتین با ۱۵ میلی‌لیتر محلول سود ۵۰ درصد مخلوط شده و به مدت ۲۰ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس کیتوزان تهیه‌شده با مقدار کافی آب مقطر شستشو شده تا pH آن به حد خنثی برسد. کیتوزان حاصل در آون خشک و سپس به‌وسیله آسیاب پودر شد (Abdou et al., 2008; Rodde et al., 2008). جهت تعیین درصد داستیلاسیون کیتوزان به‌دست‌آمده از روش آنالیز عنصری استفاده شد. در این روش میزان عناصر کربن و نیتروژن کیتوزان تهیه‌شده به‌وسیله دستگاه آنالیز عناصر (Elemental Analyzer, PerkinElmer, Model 2400SII) اندازه‌گیری شد. همچنین جهت تعیین وزن مولکولی کیتوزان از ارتباط بین ویسکوزیته‌ی ذاتی محلول کیتوزان و وزن مولکولی استفاده شد. تبدیل کیتوزان به نانوکیتوزان به روش ژلاسیون یونوتروپیک انجام شد. بدین منظور ۴ میلی‌لیتر محلول سدیم تری‌پلی‌فسفات دو درصد به ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول کیتوزان در اسید فرمیک یک درصد (یک گرم کیتوزان در ۱۰۰ سی سی محلول اسید فرمیک یک درصد) که بر روی همزن مغناطیسی در حال هم زدن بود، افزوده‌شده و عمل هم زدن به مدت دو ساعت ادامه یافت (Du et al., 2009). شکسته شدن پیوندهای بین واحدهای پلیمر کیتوزان باعث تبدیل این ماده به واحدهای در حد نانو می‌گردد. پس‌از این مدت محلول نانوکیتوزان به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سونیکاتور قرار گرفت. به‌منظور تعیین مشخصات نانوکیتوزان تولیدشده، توزیع میزان پتانسیل زتا و اندازه نانوذرات کیتوزان به‌وسیله دستگاه زتاسایزر (Zetasizer Nano-ZS-900, Malvern Instruments) اندازه‌گیری گردید. در پایان دوره، ۲۴ ساعت قبل از نمونه‌برداری به جهت کاهش استرس غذادهی قطع شد. سپس به‌منظور زیست‌سنجی کل ماهی‌های هر تکرار با عصاره گل میخک با مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیهوش شده و به‌صورت جدا از هم وزن می‌شدند.

برای بررسی عملکرد جیره‌های مورد آزمایش بر رشد ماهیان و مقایسه بین تیمارها پس از ۸ هفته شاخص‌های رشد و تغذیه‌ای با استفاده از روابط زیر محاسبه شد (Gibson and Roberfroid, 1995).

(گرم) وزن اولیه بدن - (گرم) وزن نهایی بدن = (WG) افزایش وزن بدن

$100 \times \left\{ \frac{\text{تعداد دوره}}{\text{لگاریتم طبیعی وزن اولیه بدن پرورش (روز)}} - \text{لگاریتم طبیعی وزن نهایی بدن} \right\} = \text{SGR}$ درصد نرخ رشد ویژه

تعداد کلی ماهیان در انتهای دوره / (گرم) وزن کلی ماهیان در انتهای دوره = (FAW) میانگین وزن نهایی

تعداد بچه ماهیان در انتهای دوره / تعداد بچه ماهیان ابتدای دوره = (SUR) بازماندگی

(گرم) افزایش وزن بدن / (گرم) مقدار غذای خورده شده = (FCR) ضریب تبدیل غذایی

$(2) \text{ تعداد روزهای پرورش} \times (\text{وزن نهایی ماهیان} + \text{وزن اولیه ماهیان}) / 100 \times \text{غذای خورده شده بر اساس وزن خشک} = \text{DFI}(\%)$ غذای دریافتی روزانه

تعداد $\times (\text{وزن نهایی ماهیان} + \text{وزن اولیه ماهیان}) / 100 \times \text{پروتئین خورده شده بر اساس وزن خشک} = \text{DPI}(\%)$ پروتئین دریافتی روزانه

(۲) / روزهای پرورش

(گرم) مقدار پروتئین غذای خورده شده / (گرم) میزان افزایش وزن بدن = (PER) ضریب کارایی پروتئین

در انتهای آزمایش به منظور تعیین ترکیب لاشه، از هر تکرار به تعداد ۵ عدد ماهی بعد از اعمال یک روز گرسنگی برداشت شد و تمام لاشه ماهیان در داخل فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شده تا آنالیز لاشه روی آن صورت گیرد. سنجش میزان پروتئین، چربی، رطوبت و خاکستر لاشه ماهیان به روش AOAC (1995) انجام شد.

برای تعیین میزان رطوبت، از طریق خشک نمودن نمونه در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، خاکستر نمونه‌ها با سوزاندن نمونه و از بین بردن مواد آلی و باقیمانده مواد معدنی در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ساعت، پروتئین کل با استفاده از دستگاه کج‌دال اتوماتیک با ضرب میزان نیتروژن به دست آمده در عدد ۶/۲۵ و چربی کل ماهیان از روش سوکسله با استفاده از حلال اندازه‌گیری شد (AOAC, 2005).

این تحقیق به صورت طرح کاملاً تصادفی انجام گردید. کلیه داده‌ها به صورت میانگین داده $\pm$ خطای استاندارد بیان شده است. در ابتدا نرمال بودن داده‌ها با آزمون Shapiro-Wilk و همگنی واریانس‌ها به وسیله آزمون Leven بررسی شد و سپس از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) استفاده شد، وجود تفاوت معنی‌دار در داده‌ها در سطح احتمال $p \leq 0.05$ با پس‌آزمون Duncan's، بررسی شد. آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش نوزدهم انجام شد.

نتایج

نتایج حاصل از اثر اسید فرمیک و نمک آن (پتاسیم دی فرمات)، محلول نانوکیتوزان در اسید فرمیک در جیره غذایی ماهی کپور معمولی بر شاخص‌های رشد در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد وزن نهایی (FAW) ماهی کپور معمولی در تمام تیمارهای مورد مطالعه (به جزء تیمارهای هشتم، نهم و دهم) در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). به طوری که گروه شاهد، تیمارهای سوم و چهارم بیشترین وزن نهایی (گرم) ($27/56 \pm 0/61$ ، $27/67 \pm 0/61$ و $27/63 \pm 0/06$) و تیمارهای هشتم، نهم و دهم کمترین وزن نهایی (گرم) ($24/31 \pm 0/58$ ، $25/32 \pm 0/38$ و $24/22 \pm 0/49$) را در بین تیمارها داشتند.

نتایج این تحقیق نشان داد شاخصه‌های افزایش وزن بدن (WG) و نرخ رشد ویژه (SGR) در تمام تیمارها (به استثنای تیمارهای هشتم و دهم) در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشتند ($P > 0.05$). به طوری که افزایش وزن بدن (WG، گرم) در تیمار چهارم بیشترین مقدار ($11/33 \pm 0/14$) و در تیمارهای هشتم و دهم به ترتیب کمترین مقدار ($7/96 \pm 0/64$ و $8/23 \pm 0/76$) را در مقایسه با سایر تیمارها نشان داد. همچنین نرخ رشد ویژه (SGR) در تیمار چهارم بیشترین مقدار ($0/94 \pm 0/01$) و در تیمارهای ۸ و ۱۰ کمترین مقدار ($0/71 \pm 0/04$) و $0/66 \pm 0/02$) را در مقایسه با سایر تیمارها نشان داد. همچنین یافته‌های به دست آمده از این تحقیق نشان داد که جیره‌های غذایی بکار رفته تأثیری در نتایج درصد بازماندگی نداشتند است ($P > 0.05$).

جدول ۲: شاخص‌های رشد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با جیره‌های مختلف آزمایشی به مدت ۸ هفته (میانگین $\pm$ خطای استاندارد، $n=3$).

گروه	نوع جیره	وزن نهایی (گرم) (FAW)	افزایش وزن بدن (گرم) (WG)	نرخ رشد ویژه (SGR)	درصد بازماندگی (SUR)
۱ (شاهد)	غذای تجاری	$27/56 \pm 0/61^a$	$10/83 \pm 0/57^{ab}$	$0/89 \pm 0/37^{ab}$	$97/76 \pm 2/23^a$
۲	غذای تجاری + ۰/۲۵٪ محلول نانوکیتوزان در اسید فرمیک	$26/08 \pm 0/05^{ab}$	$9/3 \pm 0/00^{abc}$	$0/78 \pm 0/00^{abc}$	$100 \pm 0/00^a$
۳	غذای تجاری + ۰/۲۵٪ اسید فرمیک	$27/67 \pm 0/61^a$	$11/13 \pm 0/79^{ab}$	$0/91 \pm 0/05^{ab}$	$97/76 \pm 2/23^a$
۴	غذای تجاری + ۰/۲۵٪ نمک پتاسیم دی فرمات	$27/63 \pm 0/06^a$	$11/33 \pm 0/14^a$	$0/94 \pm 0/01^a$	$100 \pm 0/00^a$
۵	غذای تجاری + ۰/۵٪ محلول نانوکیتوزان در اسید فرمیک	$25/88 \pm 0/95^{ab}$	$9/4 \pm 0/89^{abc}$	$0/80 \pm 0/06^{abc}$	$100 \pm 0/00^a$
۶	غذای تجاری + ۰/۵٪ اسید فرمیک	$25/63 \pm 0/71^{ab}$	$9/23 \pm 0/85^{abc}$	$0/80 \pm 0/06^{abc}$	$91/10 \pm 5/87^a$
۷	غذای تجاری + ۰/۵٪ نمک پتاسیم دی فرمات	$25/69 \pm 0/06^{ab}$	$9/2 \pm 0/4^{abc}$	$0/79 \pm 0/04^{abc}$	$96/65 \pm 3/35^a$
۸	غذای تجاری + ۰/۷۵٪ محلول نانوکیتوزان در اسید فرمیک	$24/31 \pm 0/58^b$	$7/96 \pm 0/64^c$	$0/71 \pm 0/04^c$	$97/76 \pm 2/23^a$
۹	غذای تجاری + ۰/۷۵٪ اسید فرمیک	$25/32 \pm 0/38^b$	$8/9 \pm 0/26^{bc}$	$0/77 \pm 0/02^{bc}$	$95/56 \pm 4/43^a$
۱۰	غذای تجاری + ۰/۷۵٪ نمک پتاسیم دی فرمات	$24/22 \pm 0/49^b$	$8/23 \pm 0/76^c$	$0/66 \pm 0/02^c$	$93/30 \pm 0/00^a$

*حروف متفاوت در هر ستون نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی است ($P < 0/05$)

نتایج حاصل از اثر اسید فرمیک و نمک آن (پتاسیم دی فرمات)، محلول نانوکیتوزان در اسید فرمیک در جیره غذایی ماهی کپور معمولی بر شاخص‌های تغذیه در طول دوره‌ی مطالعه در جدول ۳ نشان داده شده است.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که درصد غذای دریافتی روزانه (DFI) در بین تیمارهای مورد مطالعه (به جزء تیمارهای هشتم، نهم و دهم) در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت ($P > 0/05$). بر این اساس تیمار دهم بیشترین ($1/66 \pm 0/04$) غذای دریافتی روزانه را در مقایسه با تیمار شاهد ($1/40 \pm 0/02$) نشان داد ($P < 0/05$). همچنین بررسی نتایج (جدول ۳) مشخص نمود که تیمار هشتم و نهم ($1/59$ و $1/57$) در درجه دوم از نظر دریافت غذای روزانه قرار گرفتند. از طرفی شاخص درصد پروتئین دریافتی روزانه (DPI) در بین تیمارهای مورد مطالعه (به جزء تیمارهای هشتم و دهم) در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نداشتند ($P > 0/05$). بیشترین مقدار درصد پروتئین دریافتی روزانه (DPI) در تیمار دهم ($0/53 \pm 0/01$) و کمترین میزان آن مربوط به تیمار شاهد ($0/45 \pm 0/00$) بود.

بررسی نتایج (جدول ۳) نشان داد که ضریب کارایی پروتئین (PER) در تمام تیمارهای مورد مطالعه (به جزء تیمارهای هشتم، نهم و دهم) در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نداشته است ($P > 0/05$). به طوری که کمترین میزان ضریب کارایی پروتئین در تیمار دهم ($1/10 \pm 0/10$) و بیشترین مقدار در تیمارهای شاهد، سوم و چهارم به ترتیب در مقادیر $1/90 \pm 0/15$ ، $1/83 \pm 0/08$ و $1/93 \pm 0/03$ مشاهده شد. نتایج حاصل از این تحقیق (جدول ۳) نشان داد ضریب تبدیل غذایی (FCR)، در تمام تیمارهای مورد مطالعه (به جزء تیمارهای هشتم، نهم و دهم) در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت ($P > 0/05$). به طوری که بیشترین مقدار ضریب غذایی (FCR)، در تیمار دهم ($2/85 \pm 0/15$) و کمترین به ترتیب در تیمارهای شاهد و سوم و چهارم $1/66 \pm 0/12$ ، $1/70 \pm 0/05$ و $1/60 \pm 0/00$ مشاهده شد.

جدول ۳: شاخص‌های تغذیه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با جیره‌های مختلف آزمایشی به مدت ۸ هفته (میانگین $\pm$ خطای استاندارد، $n=3$).

گروه	نوع جیره	غذای دریافتی روزانه % (DFI)	پروتئین دریافتی روزانه % (DPI)	ضریب کارایی پروتئین (PER)	ضریب تبدیل غذایی (FCR)
۱ (شاهد)	غذای تجاری	$1/40 \pm 0/02^c$	$0/45 \pm 0/00^c$	$1/90 \pm 0/15^a$	$1/66 \pm 0/12^c$
۲	غذای تجاری + ۰/۲۵٪ محلول نانو کیتوزان در اسید فرمیک	$1/52 \pm 0/03^{abc}$	$0/49 \pm 0/01^{abc}$	$1/60 \pm 0/00^{ab}$	$1/95 \pm 0/05^{bc}$
۳	غذای تجاری + ۰/۲۵٪ اسید فرمیک	$1/50 \pm 0/01^{bc}$	$0/48 \pm 0/00^{abc}$	$1/83 \pm 0/08^a$	$1/70 \pm 0/05^c$
۴	غذای تجاری + ۰/۲۵٪ نمک پتاسیم دی فرمات	$1/48 \pm 0/00^{bc}$	$0/47 \pm 0/00^{bc}$	$1/93 \pm 0/03^a$	$1/60 \pm 0/00^c$
۵	غذای تجاری + ۰/۵٪ محلول نانو کیتوزان در اسید فرمیک	$1/50 \pm 0/05^{bc}$	$0/48 \pm 0/01^{abc}$	$1/66 \pm 0/17^{ab}$	$1/93 \pm 0/20^{bc}$
۶	غذای تجاری + ۰/۵٪ اسید فرمیک	$1/46 \pm 0/10^{bc}$	$0/47 \pm 0/03^{bc}$	$1/53 \pm 0/16^{ab}$	$2/13 \pm 0/28^{bc}$
۷	غذای تجاری + ۰/۵٪ نمک پتاسیم دی فرمات	$1/53 \pm 0/02^{abc}$	$0/49 \pm 0/01^{abc}$	$1/55 \pm 0/05^{ab}$	$2/00 \pm 0/00^{bc}$
۸	غذای تجاری + ۰/۷۵٪ محلول نانو کیتوزان در اسید فرمیک	$1/59 \pm 0/00^{ab}$	$0/51 \pm 0/00^{ab}$	$1/30 \pm 0/05^{bc}$	$2/36 \pm 0/06^{ab}$
۹	غذای تجاری + ۰/۷۵٪ اسید فرمیک	$1/57 \pm 0/01^{ab}$	$0/50 \pm 0/00^{abc}$	$1/40 \pm 0/11^{bc}$	$2/26 \pm 0/23^b$
۱۰	غذای تجاری + ۰/۷۵٪ نمک پتاسیم دی فرمات	$1/66 \pm 0/04^a$	$0/53 \pm 0/01^a$	$1/10 \pm 0/10^c$	$2/85 \pm 0/15^a$

*حروف متفاوت در هر ستون نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی است ($P<0/05$)

نتایج حاصل از اثر اسید فرمیک و نمک آن (پتاسیم دی فرمات)، محلول نانو کیتوزان در اسید فرمیک در جیره غذایی ماهی کپور معمولی بر ترکیب لاشه در طول دوره‌ی مطالعه در جدول ۴ نشان داده شده است.

یافته‌های حاصل از این تحقیق نشان داد که میزان پروتئین در تمام تیمارهای مورد مطالعه (به جزء تیمار دهم) در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشته است ($P>0/05$). به‌طوری‌که میزان پروتئین در تیمار دهم ($18/09 \pm 0/55$ درصد) نسبت به سایر تیمارها بالاتر بود ($P<0/05$). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد میزان چربی در بین تیمارهای مورد مطالعه از لحاظ سطح آماری اختلاف معنی‌داری داشت ($P<0/05$). بر این اساس بیشترین میزان چربی در تیمار پنجم ($15/33 \pm 0/55$ درصد) و کمترین در تیمار هشتم ($10/91 \pm 0/22$) در مقایسه با سایر تیمارها مشاهده شد. بررسی نتایج در جدول ۴ نشان داد که میزان خاکستر در بین تیمارهای مورد مطالعه (به جزء تیمارهای چهارم، پنجم، نهم و دهم) در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت ($P>0/05$). بیشترین مقدار خاکستر در تیمار دوم ($7/39 \pm 0/04$) در مقایسه با سایر تیمارها مشاهده شد. کمترین میزان خاکستر را تیمار دهم ($4/34 \pm 0/29$) به خود اختصاص داده است.

همچنین نتایج حاصل از این تحقیق در انتهای دوره‌ی آزمایش نشان داد، درصد رطوبت از لحاظ سطح آماری، در بین تیمارهای مختلف، تفاوت معنی‌داری نداشته است ($P>0/05$).

جدول ۴: ترکیبات لاشه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تغذیه شده با جیره های مختلف آزمایشی به مدت ۸ هفته (درصد وزن تر) (میانگین $\pm$ خطای استاندارد، $n=3$).

گروه	نوع جیره	پروتئین (%)	چربی (%)	خاکستر (%)	رطوبت (%)
۱ (شاهد)	غذای تجاری	۱۵/۹۳ $\pm$ ۰/۵۹ ^{bcd}	۱۲/۸۴ $\pm$ ۰/۴۷ ^b	۷/۰۲ $\pm$ ۰/۰۱ ^{ab}	۶۶/۱۱ $\pm$ ۱/۲۵ ^a
۲	غذای تجاری + ۰/۲۵٪ محلول نانو کیتوزان در اسید فرمیک	۱۷/۳۷ $\pm$ ۰/۳ ^{ab}	۱۳/۴۴ $\pm$ ۰/۱۶ ^b	۷/۳۹ $\pm$ ۰/۰۴ ^a	۶۶/۷۳ $\pm$ ۰/۳۹ ^a
۳	غذای تجاری + ۰/۲۵٪ اسید فرمیک	۱۶/۰۳ $\pm$ ۰/۷۳ ^{bcd}	۱۴/۷۷ $\pm$ ۰/۶۸ ^a	۵/۲۴ $\pm$ ۰/۰۲ ^{bc}	۶۷/۳۴ $\pm$ ۱/۵ ^a
۴	غذای تجاری + ۰/۲۵٪ نمک پتاسیم دی فرمات	۱۵/۷۱ $\pm$ ۰/۳۵ ^{cd}	۱۴/۶۳ $\pm$ ۰/۳۲ ^a	۴/۷۵ $\pm$ ۰/۰۱ ^c	۶۶/۵۳ $\pm$ ۰/۷۵ ^a
۵	غذای تجاری + ۰/۵٪ محلول نانو کیتوزان در اسید فرمیک	۱۶/۹۶ $\pm$ ۰/۶ ^{abc}	۱۵/۳۳ $\pm$ ۰/۵۵ ^a	۴/۹۷ $\pm$ ۰/۰۹ ^c	۶۶/۹۹ $\pm$ ۱/۱۸ ^a
۶	غذای تجاری + ۰/۵٪ اسید فرمیک	۱۶/۴۶ $\pm$ ۰/۲ ^{bcd}	۱۲/۶۳ $\pm$ ۰/۱۵ ^b	۶/۰۵ $\pm$ ۰/۰۶ ^{abc}	۶۸/۰۴ $\pm$ ۰/۳۹ ^a
۷	غذای تجاری + ۰/۵٪ نمک پتاسیم دی فرمات	۱۵/۲۵ $\pm$ ۰/۱ ^d	۱۵/۱۱ $\pm$ ۰/۱ ^a	۵/۱۹ $\pm$ ۰/۰۴ ^{bc}	۶۵/۶۸ $\pm$ ۰/۲۴ ^a
۸	غذای تجاری + ۰/۷۵٪ محلول نانو کیتوزان در اسید فرمیک	۱۶/۹۶ $\pm$ ۰/۳۵ ^{abc}	۱۰/۹۱ $\pm$ ۰/۲۲ ^c	۵/۱۵ $\pm$ ۰/۰۸ ^{bc}	۶۷/۰۹ $\pm$ ۰/۶۸ ^a
۹	غذای تجاری + ۰/۷۵٪ اسید فرمیک	۱۵/۱۶ $\pm$ ۰/۳۹ ^d	۱۴/۸۳ $\pm$ ۰/۳۹ ^a	۴/۷۹ $\pm$ ۰/۰۴ ^c	۶۵/۵۲ $\pm$ ۰/۰۹ ^a
۱۰	غذای تجاری + ۰/۷۵٪ نمک پتاسیم دی فرمات	۱۸/۰۹ $\pm$ ۰/۵۵ ^a	۱۲/۳۶ $\pm$ ۰/۳۷ ^b	۴/۳۴ $\pm$ ۰/۰۲۹ ^c	۶۶/۳۴ $\pm$ ۱/۰۳ ^a

*حروف متفاوت در هر ستون نشانه وجود اختلاف معنی دار بین گروه های آزمایشی است ($P<0/05$)

بحث و نتیجه گیری

نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد که تیمارهای هشتم، نهم و دهم (سطوح بالای افزودنی در جیره غذایی) کمترین مقادیر وزن نهایی، افزایش وزن و نرخ رشد ویژه را در بین سایر تیمارها داشته اند که در مقایسه با گروه شاهد معنی دار بوده است. لذا مقدار وزن نهایی (گرم) در تیمارهای هشتم، نهم و دهم به ترتیب (۲۴/۳۱ $\pm$ ۰/۵۸، ۲۵/۳۲ $\pm$ ۰/۳۸ و ۲۴/۲۲ $\pm$ ۰/۴۹)، افزایش وزن بدن (WG، گرم) به ترتیب (۷/۹۶ $\pm$ ۰/۶۴، ۸/۹ $\pm$ ۰/۲۶ و ۸/۲۳ $\pm$ ۰/۷۶) و مقادیر نرخ رشد ویژه (SGR) به ترتیب (۰/۷۷ $\pm$ ۰/۰۲ و ۰/۶۶ $\pm$ ۰/۰۲) بوده است.

از طرفی بررسی نتایج شاخص های تغذیه ای نشان داد که تیمار دهم بیشترین درصد غذای دریافتی روزانه (۱/۶۶ $\pm$ ۰/۰۴) را در مقایسه با تیمار شاهد (۱/۴۰ $\pm$ ۰/۰۲) نشان داد و تیمارهای هشتم و نهم (۱/۵۹ $\pm$ ۰/۰۰ و ۱/۵۷ $\pm$ ۰/۰۱) در درجه دوم از نظر دریافت غذای روزانه قرار گرفتند. همچنین مقدار درصد پروتئین دریافتی روزانه در تیمار دهم (۰/۵۳ $\pm$ ۰/۰۱) بیشترین مقدار بوده که در مقایسه با گروه شاهد (۰/۴۵ $\pm$ ۰/۰۱) اختلاف معنی داری داشته است. از طرفی مقدار ضریب تبدیل غذایی در تیمار شاهد (۱/۶۶ $\pm$ ۰/۱۲) در مقایسه با تیمارهای هشتم (۲/۳۶ $\pm$ ۰/۰۶)، نهم (۲/۲۶ $\pm$ ۰/۲۳) و دهم (۲/۸۵ $\pm$ ۰/۱۵) اختلاف معنی داری را نشان داد. همچنین ضریب کارایی پروتئین در تیمارهای هشتم، نهم و دهم در مقایسه با سایر تیمارها کاهش یافته است که با گروه شاهد نیز دارای تفاوت معنی داری بوده است. به طوری که کمترین میزان ضریب کارایی پروتئین در تیمار دهم (۱/۱۰ $\pm$ ۰/۱۰) مشاهده شد.

اطلاعات موجود در مورد اثرات مفید جیره های حاوی اسیدهای آلی و نمک هایشان در جیره بر روی کارایی رشد در ماهیان متناقض بوده و به نظر می رسد به عواملی همچون گونه ماهیان، اندازه و سن ماهیان، نوع و سطوح اسیدهای آلی و نمک هایشان و یا ترکیب آن ها بستگی دارد. همچنین ترکیبات جیره های آزمایشی، ظرفیت بافری مواد تشکیل دهنده جیره، مدیریت پرورش و تغذیه و کیفیت آب از دیگر عوامل مؤثر می باشد (Strom و Ringo, ۱۹۹۴). (lim et al., 2000) بیان نمودند جیره های حاوی اسید آلی (اسید لاکتیک و اسید پروپیونیک) باعث افزایش وزن در ماهی چار (*Salvelinus alpinus*) در مقایسه با گروه شاهد (فاقد اسید آلی) می شود. Sudagar و همکاران (۲۰۱۰) نیز در طی مطالعه ای اعلام نمودند استفاده از اسید آلی به عنوان ماده جاذب در جیره غذایی فیل ماهیان جوان به میزان ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم در کیلوگرم باعث افزایش وزن نهایی و بهبود معنی دار نرخ رشد روزانه، نرخ رشد ویژه، شاخص وضعیت و کاهش ضریب تبدیل غذایی می گردد. Krome و

همکاران (۲۰۱۸) مشاهده نمودند که فاکتورهای رشد در بچه ماهیان کپور معمولی که در جیره غذایی آنها اسید فرمیک و نمک پتاسیم فرمات به کار رفته بود در مقایسه با گروه شاهد به صورت مساوی و یا بیشتر بود. Wing-Keong و همکاران (۲۰۰۹) در مطالعه‌ی خود بیان نمودند که اختلاف معنی داری در میزان رشد و غذای مصرفی و هضم پذیری بین جیره‌های حاوی اسید آلی و گروه شاهد (فاقد اسید آلی) در ماهی تیلپیا مشاهده نشد.

لذا به نظر می‌رسد احتمالاً استفاده از مقادیر بالای اسید فرمیک و یا نمک آن از طریق اثرگذاری بر مقدار pH دستگاه گوارشی منجر به اختلال در هضم و جذب غذای دریافتی و در نتیجه کاهش کارایی غذا، کارایی پروتئین دریافتی، افزایش ضریب تبدیل غذایی و در نتیجه کاهش رشد شده است. از طرفی سطح پایین مکمل‌های افزودنی نیز نتوانسته‌اند شاخص‌های رشد را نسبت به گروه شاهد افزایش دهند؛ که ممکن است دلیل این موضوع وضعیت فیزیولوژیک دستگاه گوارشی ماهی کپور باشد. چراکه تحقیقات محققین نشان از اثرگذاری مؤثر اسیدهای آلی و نمک‌های آن در ماهیان گوشتخوار دارد.

Zaki و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه‌ای نشان دادند که وجود کیتوزان در جیره‌ی غذایی باعث افزایش رشد، پاسخ ایمنی غیراختصاصی، کاهش مرگ و میر و بهبود عملکرد رشد ماهی *sea bass (Dicentrarchus labrax)* گردید. Gopalakannan و Arul (۲۰۰۶) گزارش نمودند که کیتوزان با افزایش قابلیت هضم و جذب غذا باعث رشد بیشتر و کاهش ضریب تبدیل غذایی در گونه کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) می‌شود. همچنین بهبود شاخص‌های تغذیه‌ای از جمله ضریب تبدیل غذایی ماهیان در اثر استفاده خوراکی از کیتوزان توسط Reilly و Keferstein (۱۹۹۷) هم گزارش شده است؛ اما نتایج حاصل از تحقیق حاضر با یافته‌های سایر محققین در خصوص کاربرد نانوکیتوزان به عنوان محرک رشد در جیره غذایی گونه کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، همخوانی نداشت و مشخص گردید که استفاده از سطوح بالای محلول نانوکیتوزان در اسید فرمیک (۰/۷۵ درصد) در جیره غذایی منجر به کاهش معنی دار کارایی غذا و پروتئین دریافتی و در نتیجه کاهش سرعت رشد ویژه در ماهیان شده است. بیان شده است استفاده از نانوکیتوزان به عنوان افزودنی غیرقابل هضم می‌تواند تأثیری بر سلامت و تغییر در نوع و تعداد باکتری‌های روده داشته باشد (آفتابگرد و همکاران، ۱۳۹۰). لذا به نظر می‌رسد استفاده از محلول نانوکیتوزان در اسید فرمیک در سطوح بالا، از طریق اثرگذاری بر قابلیت هضم جیره‌های غذایی و فلور لومن روده منجر به اختلال در کارایی مواد مغذی دریافتی مانند پروتئین و چربی جیره غذایی و در نتیجه کاهش رشد در ماهیان شده است.

یافته‌های حاصل از این تحقیق نشان داد که میزان پروتئین در تیمار دوم حاوی ۰/۲۵ درصد محلول نانوکیتوزان در اسید فرمیک در مقایسه با گروه شاهد بهبود یافته است. همچنین بررسی نتایج در جدول ۴ نشان داد که میزان خاکستر در بین تیمارها دارای تفاوت معنی داری با یکدیگر بوده‌اند و در تیمار دوم، مقدار آن $(7/39 \pm 0/04)$ در مقایسه با سایر تیمارها بالاتر بود. همچنین میزان درصد رطوبت ازلحاظ سطح آماری، در بین تیمارهای مختلف، تفاوت معنی داری را نشان نداد. Li و Wang (۲۰۱۱) در مطالعه‌ای تأثیر کیتوزان و نانوکیتوزان را بر روی رشد، بازماندگی و کیفیت لاشه تیلپیا (*Oreochromis nilotica*) در شرایط آزمایشگاهی بررسی نمودند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد مکمل نانوکیتوزان در جیره غذایی باعث بهبود کیفیت گوشت تیلپیا (*Oreochromis nilotica*) شده است.

لذا باید توجه داشت که رشد و ترکیبات شیمیایی بدن ماهی می‌تواند تحت تأثیر مستقیم تغییرات منابع غذایی قرار گیرد (Kang,ombe et al., 2007)؛ بنابراین به نظر می‌رسد استفاده از سطوح متفاوت اسید فرمیک، نمک اسید فرمیک یا محلول نانوکیتوزان در اسید فرمیک می‌تواند از طریق اثرگذاری بر پارامترهای تغذیه‌ای مانند مقدار غذای دریافتی بر ترکیب لاشه ماهیان مانند پروتئین و خاکستر اثرگذار باشد.

میزان چربی در بین تیمارهای مورد مطالعه ازلحاظ سطح آماری اختلاف معنی داری داشت. بر این اساس کمترین میزان چربی در تیمار هشتم حاوی ۰/۷۵ نانوکیتوزان محلول در اسید فرمیک $(10/91 \pm 0/22)$ در مقایسه با شاهد $(12/84 \pm 0/47)$ مشاهده شد، که دلیل این امر را می‌توان در نقش ممانعت کنندگی کیتوزان در سطوح بالای مصرف، از جذب کامل چربی‌های جیره غذایی در دستگاه گوارش جستجو کرد (Shiau and Ya, 1999). به عبارت دیگر این امکان وجود دارد که سطوح بالای نانوکیتوزان با کاهش دادن جذب چربی‌ها، باعث کاهش چربی لاشه ماهیان

شده است. این نکته که کیتوزان در انسان هم با مکانیسم جلوگیری از جذب چربی‌ها و کربوهیدرات‌ها در روده به‌عنوان یک ماده ضد چاقی مطرح است (Melinda, 2012)، می‌تواند تأیید دیگری بر نقش نانوکیتوزان در سطوح بالا بر کاهش چربی بدن باشد. همچنین نتایج متفاوت به دنبال استفاده از نانوکیتوزان در حیوانات مختلف تحت تأثیر اختلاف گونه‌ای، اندازه‌ی ذرات نانوکیتوزان، میزان و مدت استفاده از آن و همچنین شرایط محیطی متفاوت انجام تحقیق می‌باشد.

به‌طور کلی با توجه به نتایج تحقیق حاضر استفاده از ۰/۲۵ درصد محلول نانوکیتوزان در اسید فرمیک در جیره غذایی، برای بهبود کیفیت لاشه ماهیان کپور معمولی توصیه می‌شود.

سپاسگزاری

از مسئولین محترم دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر به لحاظ حمایت مالی از این پروژه در قالب رساله دکتری تخصصی قدردانی می‌شود.

منابع

- آفتابگرد، م.، زمینی، ع. و ارشاد لنگرودی، ه.، ۱۳۹۰. تأثیر پری بیوتیک ایمنواستر بر شاخص‌های رشد، نرخ بازماندگی و ترکیب بدن بچه ماهیان انگشت قد ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*). مجله علوم و فنون دریایی، دوره ۱۰، شماره ۱، صفحات ۱۱۲-۱۰۰.
- پیغان، ر. و عبدالله مشایی، م.، ۱۳۸۷. مدیریت مزارع پرورشی ماهی گرمابی، بهداشت و تغذیه ماهی‌ها. چاپ دوم، انتشارات دریا، تهران، ۲۶۴ ص.
- Aathi, K., V. Ramasubramanian, V. Uthayakumar and Munirasu, S., 2013. Effect of supplemented diet on survival, growth, hematological, biochemical and immunological responses of indian major carp labeo rohita. International Research Journal of Pharmacy, 4(5):141-147.
- Abdou, E. S., Nagy, S. A. and Elsabee, Z. M., 2008. Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources. Bioresource Technology, 99: 1359-1367.
- Aoki, T., 1992. Chemotherapy and drug resistance in fish farms in Japan. In: Shariff M., Subasighe R.P. and Arthur J.R., (Eds), Diseases in Asian Aquaculture Vol. 1. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, pp. 519-529.
- Bar-Ilan, O., Albrecht, R. M., Fako, V. E. and Furgeson, D. Y., 2009. Toxicity assessments of multisized gold and silver nanoparticles in zebra fish embryos, Small, 5(1): 1897-1910.
- Cha, S. H., Lee, J. S., Song, C. B., Lee, K. J. and Jeon, Y. J., 2008. Effects of chitosan-coated diet on improving water quality and innate immunity in the olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture, 278:110-118.
- Christiansen, R. and Luckstadt, C., 2008. Effects of different dosages of potassium diformate in fishmeal on the performance of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Abstract CD-Rom, World Aquaculture Society, 19-23 May, Busan, Korea.
- Diebold, G. and Eidelsburger, U., 2006. Acidification of diets as an alternative to antibiotic growth promoters. Wageningen Academic publishers. Wageningen the Netherlands, pp. 311-327.
- Du, W. L., Niu, S., Xu, Y. L., Xu, Z. R. and Fan, C. L., 2009. Antibacterial activity of chitosan tri polyphosphate nanoparticles loaded with various metal ions. Carbohydrate Polymers, 75: 385-389.
- Eidelsburger, O., 1998. In recent advances in nutrition. Nottingham University press, Nottingham. pp. 93-106.
- Eshghi, S., Hashemi, M., Mohammadi, A., Badii, F., Mohammadhosseini, Z., Ahmadi Some'e, K. and Ghanati, K., 2012. The effect of nano-emulsion coating on the shelf life and post-harvest quality characteristics of strawberry fruit. MS Thesis, Shahid Beheshti University. (In Farsi)

- Esmaili Rad, A., Alishahi, M., Ghorbanpour, M. and Zarei, M., 2014.** The effects of oral administration of extracted chitosan from white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) on hematological and growth indices in common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Veterinary Research*, 69(4):385-393. (In Farsi).
- Falcao-E-Cunha, L., Castro-Solia, L., Maertens, L., Marounek, M., Pinheiro, V., Freire, J. and Mourao, J.L., 2007:** Alternatives to antibiotic growth promoters in rabbit feeding: a review. *World Rabbit Science*, 15: 127-140.
- Freitag, M., 2007.** Organic acids and salts promote performance and health in animal husbandry. In: *Acidifiers in Animal Nutrition—a guide for feed preservation and acidification to promote animal production*. (eds. Luckstadt C.). Nottingham University Press, U.K. pp 1 – 11.
- Gibson, G. R. and Roberfroid, M. B., 1995.** Dietary modulation of the colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125:1401-1412.
- Gopalakannan, A. and Arul, V., 2006.** Immunomodulatory effects of dietary intake of Chitin, Chitosan and Levamisol and immune system of *Cyprinus carpio* and control of *Aeromonas hydrophila* infection in pond. *Aquaculture*, 255:179-187.
- Jiang, Y. and Li, Y., 2001.** Effects of chitosan on postharvest life and quality of longan fruit. *Food Chemistry*, 73: 139-143.
- Kakuta, I. and Kurokura, H., 1995.** Defensive effect of orally administered bovine lactoferrin against Cryptocaryon irritans infection of red seabream. *Journal of Fish Pathology*, 30: 289–290.
- Kangombe, J., Likongwe, J.S., Eda, H. and Mtimuni, J.P., 2007.** Effect of varying dietary energy level on feed intake, feed conversion, whole body composition and growth of Malawian tilapia. *Aquaculture Research*, 38: 373-380.
- Kim, S.K. and Rajapakes, N., 2005.** Enzymatic production biological activities of chitosan oligosaccharides (COS): A review. *Carbohydrate Polymers*, 62: 357-368.
- Krome, C., Schuele, F., Jauncey, K. and Focken, U., 2018.** Influence of a sodium formate/formic acid mixture on growth of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*) fed different fishmeal replacement levels of detoxified *Jatropha curcaskernel* meal in practical, mixed diets. *Journal of Applied Aquaculture*, 30(2): 137-156.
- Laskin, A.I. Gadd, G.M. and Sariaslani, S., 2008.** *Advances in applied microbiology*. Vol.63. pp: 153. Academic Press.
- Lim, C., Klesius, P.H., Li, M.H. and Robinson, E.H., 2000.** Interaction between dietary levels of iron and vitamin C on growth, hematology, immune response and resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to *Edwardsiella ictaluri* challenge. *Aquaculture*, 185:313-327.
- Liu, Y. G., 2001.** Using organic acids to control salmonella in poultry production. *Common wealth Veterinary Congress*, October 10, 1 – 4.
- Luckstadt C., 2008.** The use of acidifiers in fish nutrition. *Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 3(044): 1-8.
- Malone, L.J., 2000.** Basic concepts of chemistry, 6th edition. Wiley Inter Science, 639 pp.
- Melinda, M., 2012.** Dietary Supplements for Improving Body Composition and Reducing Body Weight. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 22: 139 -154.
- Mohammadhosseini, Z., Hashemi, M., Mohammadi, A., Badi i.F. and Ahmadi Some'e, K., 2012.** Effects of chitosan based nano- emulsion coating on the changes of bioactive compounds, antioxidant activity and some qualitative features of orange and blood orange during storage. MS Thesis, Shahid Beheshti University. (In Farsi)
- Partanen, K.H. and Mroz, Z., 1999.** Organic acids for performance enhancement in pig diets. *Nutrition on Research Reviews*, 12: 117-145.
- Raafat, D., von Bargen, K., Haas, A. and Sahl, H. G., 2008.** Insights into the Mode of Action of Chitosan as an Antibacterial Compound. *Applied and Environmental Microbiology*, 74, 3764-3773.
- Ramli N, Heindl U and Sunanto S. 2005.** Effect of potassium-diformate on growth performance of tilapia challenged with *Vibrio anguillarum*. Abstract CD-Rom World Aquaculture Society, 9–13 May; Bali, Indonesia; 2005.

- Reilly, A. and Keferstein, F., 1997.** Food safety hazards and the application of the principles of the hazard analysis and critical control point (HACCP) for their control in aquaculture production. *Aquaculture Research*, 28: 735-752.
- Ringo, E. and Strom, E., 1994.** Micro flora of arctic charr (*Salvelinus alpinus*) Gastrointestinal microflora of free-living fish and effect of diet and salinity on intestinal micro flora. *Aquaculture and Fisheries Management*, 25: 623-629.
- Rodde, R.H., Einbu, A. and Varum, K. M. 2008.** A seasonal study of the chemical composition and chitin quality of shrimp shells obtained from northern shrimp (*Pandalus borealis*). *Carbohydrate Polymers*, 71: 388-393.
- Romoren, K., Thu, B. J. and Evensen, O., 2002.** Immersion delivery of plasmid DNAIL, A study of the potential of a chitosan based delivery system in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. *Jornal of Controlled Release*, 85: 215-225.
- Sharifzadeh, M. B., Hosseinzadeh, M. J. and Younesi, H., 2012.** Whey Processing with nano chitosan, *World Applied Sciences Journal*, 19 (4): 530-537.
- Shiau, S.Y. and Ya, Y.P., 1999.** Dietary supplementation of chitin and Chitosan depresses growth in Tilapia, *Oreochromis niloticus*×*Oreochromis auratus*. *Aquaculture*, 179: 439-446.
- Skinner, J.T., and Walder, P., 1991.** Fumaric and propionic acids enhances performance of broiler chickens. *Poultry Science*, 70:1444-1447.
- Sudagar M., Hosseinpoor Z., Hosseini A., 2010.** The use of citric acid as attractant in diet of grand sturgeon (*Huso huso*) fry and its effects on growing factors and survival rate. *AACL Bioflux*, 3: 311-316.
- Tokur B., Ozkutuk S., Atici E., Ozyurt G., Ozyurt C.E., 2006.** Chemical and sensory quality changes of fish fingers, made from mirror carp (*Cyprinus carpio* L., 1758), during frozen storage (-18C). *Food Chemistry*, 99: 335-341.
- Wang, Y. and Li, J. 2011.** Effects of chitosan nanoparticles on survival, growth and meat quality of tilapia, *Oreochromis nilotica*. *Nanotoxicology*, 5(3): 425-431.
- Windisch, W.M., Gotherbarm, G.G. and Roth, F.X., 2001.** Effect of potassium diformate in combination with different amounts and sources of excessive dietary copper on production performance in weaning piglets. *Archives of animal nutrition*, 54(2): 87-100.
- Wing-Keong, N., Koh, C.B., Sudesh, K. and Siti-Zahrah, A., 2009.** Effects of dietary organic acids on growth, nutrient digestibility and gut microflora of red hybrid tilapia (*Oreochromis* sp.) and subsequent survival during a challenge test with *Streptococcus agalactiae*. *Aquaculture Research*. 40(13):1490-1500.
- Xie, S., Zhang, L. and Wand, D., 2003.** Effects of several organic acids on the feeding behaviour of tilapia nilotica. *Journal of Applied Ichthyology*, 19: 255- 257.
- Zaki, M.A., Salem, M. El-S., Gaber, M.M. and Nour, A.M., 2015.** Effect of Chitosan Supplemented Diet on Survival, Growth, Feed Utilization, Body Composition & Histology of Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*). *World Journal of Engineering and Technology*, 3: 38-47.
- Zhou, Z., Liu, Y., He, S., Shi, P., Gao, X., Yao, B. and Ringo, E. 2009.** The effects of dietary potassium diformate on growth performance, feed conversion and intestinal microbiota of hybrid tilapia. *Aquaculture*, 291: 89-94.

