

مقاله پژوهشی

تأثیر غلظت‌های مختلف پروتئین هیدرولیز شده در جیره غذایی بر فعالیت‌های
آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و گوارشی بچه فیل ماهی (*Huso huso*) پرورشی

علی حسین پور زلتی^{۱*}، تورج سهرابی لنگرودی^۱، میرحامد سیدحسینی^۲، مریم منصف شکری^۳

DOI: 10.22124/japb.2024.27300.1538

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۴۰۳

تاریخ پذیرش: آبان ۱۴۰۳

چکیده

در این پژوهش، اثر جایگزینی پودر ماهی با پروتئین هیدرولیز شده ماهی بر میزان برخی شاخص‌های استرس اکسیداتیو و فعالیت آنزیم‌های گوارشی در بچه فیل ماهی (*Huso huso*) بررسی شد. به این منظور، به مدت ۴۸ روز، ۷۵۰ قطعه بچه فیل ماهی با وزن اولیه 3 ± 0.5 گرم در پنج گروه آزمایشی با سه تکرار شامل گروه شاهد (بدون پروتئین هیدرولیز شده)، ۳ تیمار با سطوح مختلف جایگزینی پودر ماهی با پروتئین هیدرولیز شده (تیمارهای ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۲/۷۵، ۵/۵ و ۸/۲۵ درصد) و تیمار ۴ (شاهد مثبت) با جیره تجاری پرورش داده شدند. نتایج مربوط به شاخص‌های استرس اکسیداتیو نشان داد که بین گروه‌های آزمایشی در مقدار فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز و میزان مالون دی‌آلدهید اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$). در مورد آنزیم‌های گوارشی تریپسین، پپسین، آمیلاز و لیپاز نیز هیچ‌گونه اختلاف آماری معنی‌داری در هیچ یک از مراحل چهارگانه بررسی فعالیت‌های آنزیمی (۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۵ روز پس از ذخیره‌سازی) و در هیچ کدام از انواع آنزیم‌های مورد بررسی مشاهده نشد ($P > 0.05$). به طور کلی، نتایج این مطالعه نشان داد که جایگزینی پودر ماهی با پروتئین هیدرولیز شده ماهی در جیره غذایی بچه فیل ماهی تا سطح ۸/۲۵ درصد تأثیر معنی‌داری بر فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی و گوارشی این ماهیان نداشت.

واژگان کلیدی: پروتئین هیدرولیز شده، بچه فیل ماهی، آنزیم گوارشی، آنزیم آنتی‌اکسیدانی.

- ۱- استادیار بخش آبی‌پروری، انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران.
- ۲- دکتری تخصصی، بخش آبی‌پروری، انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران.
- ۳- استادیار بخش فیزیولوژی و بیوشیمی، انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران.

* نویسنده مسئول: ahpour.z@gmail.com

مقدمه

ماهیان، بویژه گونه‌های گوشتخوار دریایی شود (Gatlin et al., 2007). یافتن جایگزین‌های مناسب برای پودر ماهی که بتواند نیازهای تغذیه‌ای ماهیان گوشتخوار را به طور کامل برآورده کند، چالشی اساسی در صنعت آبزی پروری است.

صنعت فرآوری غذاهای دریایی با تولید حجم قابل توجهی از ضایعات شامل پوست، باله، سر، ضایعات گوشت، احشا، استخوان‌ها و تخم روبرو است که بیش از ۶۰ درصد وزن کل ضایعات را تشکیل می‌دهند (Chalamaiah et al., 2012). این ضایعات معمولاً به محصولاتی با ارزش کم مانند خوراک دام، پودر ماهی و کود تبدیل می‌شوند (Hsu, 2010). با این حال، پتانسیل قابل توجهی برای استفاده از این ضایعات سرشار از پروتئین به عنوان منبعی برای تولید غذاهای مغذی با ارزش افزوده وجود دارد. یکی از این روش‌ها، تبدیل ضایعات به پروتئین هیدرولیز شده ماهی است (Benhabiles et al., 2012). پروتئین هیدرولیز شده ضایعات ماهی حاوی پپتیدهای کوچک‌تر با ۲ تا ۲۰ اسید آمینه است. پروتئین هیدرولیز شده ماهی دارای خواص فیزیکوشیمیایی مطلوبی از جمله افزایش حلالیت، امولسیون‌کنندگی، ظرفیت

پودر ماهی به عنوان مهم‌ترین جزء حیره غذایی ماهیان گوشتخوار شناخته می‌شود و دلیل آن، داشتن میزان بالای پروتئین، اسیدهای چرب ضروری Ω -3، اسیدهای آمینه ضروری، عوامل رشد، طعم مطلوب و همچنین انواع مواد معدنی، نوکلئوتیدها و ویتامین‌ها است (Gatlin et al., 2007; Hardy, 2010; Yang et al., 2020). با این حال، به دلیل کاهش منابع صید ماهیان برای تولید پودر ماهی، تقاضا بیشتر شده و این کمبود قابل توجه منابع به افزایش قیمت آن منجر شده است (Hardy, 2010; Ding et al., 2015). این چالش، پژوهشگران را بر آن داشته است تا در چند دهه اخیر به دنبال جایگزین‌های مختلفی برای پودر ماهی به عنوان منبع پروتئین باشند. جایگزینی پودر ماهی با منابع پروتئینی گیاهی به عنوان روشی برای توسعه پایدار آبزی پروری شناخته شده است (Wu et al., 2018). با این حال، استفاده از پروتئین‌های گیاهی نیز با چالش‌هایی همچون وجود عوامل ضدتغذیه‌ای، عدم تعادل یا سطوح ناکافی اسیدهای آمینه ضروری و قابلیت هضم پایین‌تر مواد معدنی در مقایسه با پودر ماهی همراه است. این چالش‌ها می‌تواند منجر به کاهش سرعت رشد و ضریب تبدیل غذایی در

نگهداری آب و ظرفیت اتصال چربی است. این ویژگی‌ها به نوبه خود باعث افزایش طعم‌پذیری خوراک و تسهیل جذب زیستی مواد مغذی می‌شود (Sarmadi and Ismail, 2010; Chalamaiah et al., 2012). علاوه بر این، مطالعات نشان داده‌اند که پپتیدهای موجود در پروتئین هیدرولیز شده ماهی در صورت مصرف خوراکی، دارای خواص زیست‌فعال متعددی از جمله فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد فشار خون، ضد میکروبی، تعدیل کننده سیستم ایمنی و ضد سرطانی هستند (Bhaskar et al., 2008; Gajanan et al., 2016; Slizyte et al., 2016; Soleimani et al., 2016; Nikoo et al., 2024).

در آبی‌پروری، افزودن سطوح مناسب پروتئین هیدرولیز شده ماهی با زنجیره کوتاه در جیره غذایی ماهیان، باعث بهبود عملکرد رشد، بهره‌وری از مواد مغذی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و پاسخ ایمنی آنها می‌شود (Zheng et al., 2014; Siddik et al., 2018). این اثرات بویژه در لارو و ماهیان جوان مشهودتر است (Xu et al., 2016; Siddik et al., 2019).

پروتئین هیدرولیز شده ماهی می‌تواند قابلیت هضم و جذب اسیدهای آمینه را در ماهی در مقایسه با پروتئین‌های پودر ماهی بهبود بخشد (Hlodzi et al., 2022). فرایند هیدرولیز، پروتئین‌ها را به پپتیدهای کوچک‌تر تجزیه می‌کند که به راحتی جذب می‌شوند. مطالعات نشان داده‌اند که مصرف پروتئین هیدرولیز شده ماهی در پاسخ به عفونت‌های خاص ویروسی، باکتریایی و انگلی، منجر به افزایش ایمنی ذاتی و مقاومت در برابر بیماری‌ها در ماهیان می‌شود (Kotzamanis et al., 2007; Siddik et al., 2020; Chaklader et al., 2019). بنابراین، تبدیل ضایعات فراوری غذاهای دریایی به پروتئین هیدرولیز شده ماهی روشی مفید و پایدار برای استفاده از این منابع ارزشمند و تولید جیره مغذی با کاربردهای متنوع است. این امر می‌تواند به کاهش ضایعات، افزایش ارزش افزوده محصولات دریایی و ارتقای سلامت انسان منجر شود.

صنعت پرورش ماهیان خاویاری امروزه در جهان با رشدی سریع مواجه است و در سالیان اخیر در ایران نیز توجه قابل ملاحظه‌ای به این صنعت شده است (Bronzi et al., 2019). به طوری که در سال ۱۴۰۱، ۴۶۶۴ تن گوشت و ۱۴ تن خاویار با مجموع ارزش صادراتی ۳۹۹۷ هزار دلار در ایران تولید شد (Iranian Fisheries Organization, 2021). در بین ماهیان خاویاری، فیل‌ماهی (*Huso huso*) به

به تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی در ماهیان کمک کنند (Korczek et al., 2018; Fan et al., 2022; Sheng et al., 2022; Borges et al., 2023). از این رو، در مطالعه حاضر اثر جایگزینی پروتئین هیدرولیز شده ماهی با پودر ماهی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و گوارشی بچه فیل ماهیان مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

شرایط پرورش بچه فیل ماهیان و تیمار بندی

این پژوهش به مدت ۴۸ روز در انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دریای خزر انجام شد. در این مطالعه، ۷۵۰ قطعه بچه فیل ماهی (*Huso huso*) با وزن متوسط 5 ± 3 گرم به طور تصادفی به پنج گروه آزمایشی با سه تکرار تقسیم شدند. آزمایش در ۱۵ مخزن ۵۰۰ لیتری انجام شد، به طوری که در هر مخزن ۵۰ بچه ماهی ذخیره سازی شد.

آب مورد نیاز برای این مطالعه از چاه موجود در انستیتو تامین شد. هر مخزن ۵۰۰ لیتری با حجم آبگیری ۴۰۰ لیتر، دبی ورودی ۲ لیتر در دقیقه (معادل ۰/۳ لیتر در ثانیه) داشت. میزان تعویض آب در هر مخزن بین ۶ تا ۷ بار در طول شبانه روز بود. هوادهی نیز از طریق سیستم

دلیل گوشت و بویژه خاویار باارزش، از گونه‌های اقتصادی و ارزشمند محسوب می‌شود و از این رو، مدیریت تغذیه‌ای این ماهیان در آبی پروری امری ضروری است. صنعت پرورش ماهیان خاویاری نیز از چالش‌های مربوط به کمبود پودر ماهی مستثنی نیست و یافتن منابع جایگزین مناسب برای پودر ماهی در جیره غذایی این ماهیان حائز اهمیت است (Sayed Hassani et al., 2021). مطالعات بیشتر در این زمینه برای درک بهتر سازوکارهای هضم پروتئین هیدرولیز شده در ماهیان خاویاری و شناسایی سطوح بهینه این پروتئین در جیره غذایی برای افزایش حداکثری عملکرد گوارشی و رشد این ماهیان حائز اهمیت است. این امر می‌تواند به توسعه جیره‌های غذایی پایدارتر و مقرون به صرفه‌تر برای پرورش ماهیان خاویاری و کاهش وابستگی به پودر ماهی به عنوان منبع پروتئین منجر شود. از طرفی در صورتی که پروتئین هیدرولیز شده کیفیت مناسب را نداشته باشد یا این که در صورت نامناسب بودن سطح اسیدهای آمینه در جیره ممکن است به استرس تغذیه‌ای منجر شود. همچنین بسیاری از مطالعات تاثیرات پروتئین هیدرولیز شده را به نقش آنها در افزایش ظرفیت گوارشی نسبت داده‌اند و این مواد با داشتن پپتیدهای زیست‌فعال می‌توانند

هواده کمپرسور مرکزی و با استفاده از دیفیوزرهای صفحه‌ای صورت گرفت.

آماده‌سازی و هیدرولیز ضایعات

برای آماده‌سازی ضایعات، امعا و احشا منجمد فیل ماهی پرورشی از انستیتو تحقیقات بین‌المللی دریای خزر و شرکت آبی گستران ساعی تهیه و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس با استفاده از یخ و یونولیت، به آزمایشگاه فرآوری محصولات شیلاتی پژوهشکده آرتیمیا و آبی‌پروری منتقل شد. برای افزایش کارایی هیدرولیز و دسترسی آنزیم‌ها، ضایعات توسط چرخ گوشت صنعتی خرد و در کیسه‌های پلاستیکی بسته‌بندی شد. این کیسه‌ها تا زمان استفاده (حداکثر یک هفته) در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

برای هیدرولیز، ضایعات فیل ماهی به صورت خمیری درآمد و مطابق روش Nikoo و همکاران (۲۰۲۴) تحت فرایند اتولیز قرار گرفت. ابتدا، ضایعات خرد شده با نسبت مساوی با آب مقطر مخلوط و به مدت ۲ دقیقه همگن شدند. سپس، هیدرولیز به مدت ۱ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و pH اولیه ۷/۱ انجام شد. در طول فرایند، مخلوط به طور مداوم هم زده شد. برای غیرفعال کردن آنزیم‌ها، محلول به مدت

۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. پس از خنک شدن و صاف کردن اولیه، مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (Beckman, Allgera 21R, Coulter، آمریکا) شد و مایع باقی مانده به مدت ۲۴ ساعت در دستگاه خشک‌کن انجمادی (Christ, Type 102042، آلمان) خشک شد.

ساخت جیره‌های آزمایشی و مدیریت غذادهی

ابتدا مواد خشک جیره به مدت ۱۵ دقیقه مخلوط شدند. سپس روغن ماهی و لسیتین سویا افزوده شد و اختلاط برای ۱۰ دقیقه ادامه یافت. در ادامه، پودر پروتئین هیدرولیز شده در آب ولرم حل و به مخلوط اضافه شد. خمیر نهایی با چرخ گوشت صنعتی (GM32، پارس اصفهان، ایران) و مش ۲ میلی‌متر چرخ شد. سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک شد. آنالیز شیمیایی جیره‌ها شامل پروتئین خام، چربی خام، فیبر خام، خاکستر، ماده خشک و انرژی خالص طبق روش‌های استاندارد (AOAC, 1990) انجام شد. جیره‌های مختلف با تناسب‌های گوناگون پودر ماهی و پروتئین هیدرولیز شده، بر اساس نیازهای غذایی بچه‌ماهی‌ها فرموله و تهیه شدند

(جدول‌های ۱ و ۲). در این جیره‌ها ۲/۷۵، ۵/۵ و ۸/۲۵ درصد از پودر ماهی با پروتئین هیدرولیز شده جایگزین شد و به ترتیب برای تغذیه بچه‌ماهی‌ها در تیمارهای ۱، ۲ و ۳ به کار رفت.

جیره بدون پروتئین هیدرولیز شده به عنوان شاهد منفی و جیره تجاری (فراوانه، ایران) به عنوان شاهد مثبت (تیمار ۴) در نظر گرفته شد.

جدول ۱: اجزای جیره‌های آزمایشی برای تغذیه بچه فیل‌ماهیان

اجزای جیره (%)	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
پودر ماهی	۵۵	۵۲/۲۵	۴۹/۵	۴۶/۷۵
پروتئین هیدرولیز شده	۰	۲/۷۵	۵/۵	۸/۲۵
گلوتن گندم	۱۳	۱۳	۱۳	۱۳
شیر خشک	۵	۵	۵	۵
آرد گندم	۶	۶	۶	۶
کنجاله سویا	۸	۸	۸	۸
روغن ماهی	۵/۵	۵/۵	۵/۵	۵/۵
لیستین سویا	۲	۲	۲	۲
ویتامین E	۰/۶	۰/۶	۰/۶	۰/۶
مکمل ویتامینی	۱	۱	۱	۱
مکمل معدنی	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
لیزین	۲	۲	۲	۲
متیونین	۰/۸	۰/۸	۰/۸	۰/۸
دی کلسیم فسفات	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴
بتائین	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲
جمع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

جدول ۲: ترکیب تقریبی جیره‌های آزمایشی برای تغذیه بچه فیل ماهیان

ترکیب شیمیایی	تیمارها					پروتئین هیدرولیز شده
	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	
پروتئین خام (%)	۵۳/۵۴	۵۳/۷۹	۵۳/۹۱	۵۴/۴۸	۵۲/۴۶	۵۳/۰۷
چربی خام (%)	۱۷/۲۹	۱۷/۶۵	۱۶/۹۳	۱۷/۳۶	۱۲/۳۵	۷/۳
فیبر خام (%)	۱/۲۶	۱/۳۶	۱/۵۸	۱/۳۹	۱/۲۸	۰/۴
خاکستر (%)	۸/۹۶	۸/۳۸	۸/۶۶	۸/۲۹	۱۲/۵۸	۶/۳۲
ماده خشک (%)	۹۳/۱۲	۹۳/۱۶	۹۳/۰۶	۹۳/۸۷	۹۲/۹	۸۴/۸۶
انرژی (کیلوکالری/کیلوگرم)	۵۵۶۵/۳۸	۵۴۳۸/۷۸	۵۲۸۳/۵۲	۵۴۶۸/۶۴	۵۰۰۴/۰۶	۵۲۹۳/۰۸

فراسنجه‌های کلیدی کیفیت آب به طور روزانه اندازه‌گیری شدند.

خون‌گیری و تهیه سرم

در پایان دوره پرورش، برای سنجش مالون دی‌آلدهید (MDA) و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سرم، از ۳ قطعه ماهی به صورت تصادفی از هر تکرار در تمامی گروه‌های آزمایشی خون‌گیری شد. خون‌گیری با استفاده از سرنگ ۵ میلی‌لیتری و از سیاهرگ ساقه دمی (پشت باله مخرجی) با کمترین دستکاری و اعمال استرس انجام گرفت. به منظور جلوگیری از تأثیر بر شاخص‌های خونی، از مواد بی‌هوش کننده استفاده نشد. برای جداسازی سرم، ۱/۵ میلی‌لیتر خون (ترکیبی از خون ماهی‌های هر

برای بررسی رشد و محاسبه دقیق میزان خوراک مورد نیاز، هر ۱۵ روز یک‌بار عملیات زیست‌سنجی انجام می‌شد. توزیع خوراک به صورت دستی و در سه نوبت صبح، ظهر و عصر انجام می‌گرفت. میزان خوراک بر اساس دمای آب و میانگین وزن بچه‌ماهی‌ها، ۳ تا ۴ درصد وزن بدن آنها در هر نوبت بود. قبل از توزیع خوراک، آب حوضچه‌ها سیفون می‌شد تا از باقی ماندن خوراک و فضولات جلوگیری شود.

فراسنجه‌های فیزیکی‌وشیمیایی آب

اکسیژن محلول (North et al., 2006) توسط اکسی‌متر دیجیتال (WTW، آلمان)، دما و pH (Wuertz et al., 2006) توسط pH‌متر دیجیتال (WTW، PH 330i، آلمان) به عنوان

تکرار) جمع‌آوری و در ویال‌های اپندورف بدون هپارین ریخته شد. سپس، خون در ویال‌های میکروتیوب (بدون هپارین) به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سرم جدا شده با استفاده از سمپلر به ویال‌های جدید منتقل و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. تعیین شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی سرم در آزمایشگاه تخصصی ویرومد (گیلان، رشت) انجام شد.

سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش Aebi (۱۹۸۴) و بر اساس واکنش کینتیک اندازه‌گیری شد. در این روش از هیدروژن پراکسید ۵۰ میلی‌مولار به عنوان سوبسترا استفاده و جذب نور در طول موج ۲۴۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (Synergy HT, BioTek Instruments، آمریکا) به مدت ۱ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد ثبت شد. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) با استفاده از روش Stop-reaction (Kono, 1978) و سوبسترای نیتروبلوتترازولیوم (NBT) اندازه‌گیری شد. در این روش، NBT در بافر ۵۰ میلی‌مولار سدیم کربنات (۱۰ pH) حاوی تریتون ۰/۶ درصد و هیدروکسیل

آمین هیدروکلرید ۲۰ میلی‌مولار تهیه شد. هیدروکسیل آمین هیدروکلرید در حضور نور فتواکسیده شده و رادیکال‌های سوپراکسید تولید می‌کند. این رادیکال‌ها باعث کاهش NBT (و تولید رنگ آبی) می‌شوند. SOD به عنوان کاتالیزور عمل کرده و از کاهش NBT جلوگیری می‌کند. واکنش به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و با اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری میزان مالون دی‌آلدهید (MDA) در سرم، از روش رنگ‌سنجی استفاده شد (Heath and Packer, 1968).

نمونه‌گیری و آماده‌سازی برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های گوارشی

فعالیت آنزیم‌های گوارشی در بچه‌ماهیان در چهار مرحله زمانی مختلف (۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۵ روز پس از ذخیره‌سازی) بررسی شد. در مراحل اول و دوم به دلیل کوچک بودن جثه و عدم امکان جدا کردن دستگاه گوارش، تنها سر و دم بچه‌ماهیان از گروه‌های آزمایشی مختلف قطع شد و نمونه‌ها بلافاصله در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. در مرحله سوم و چهارم، به دلیل امکان جداسازی اندام‌ها، فقط دستگاه گوارش بچه‌ماهیان جدا، نمونه‌گیری و تا

زمان انجام آزمایش‌های آنزیمی در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در هر مرحله، ۶ نمونه از هر تیمار برای بررسی فعالیت آنزیم‌های مختلف گوارشی مورد استفاده قرار گرفت.

فعالیت آنزیم پپسین (با عدد گروه آنزیمی E.C. 3.2.1.1) با استفاده از روش Rungruangsak و Utne (۱۹۸۱) اندازه‌گیری شد. در این روش، از تیروزین به عنوان استاندارد استفاده شد. برای سنجش فعالیت آنزیمی، از محلول هموگلوبین سرم گاوی ۱ درصد به عنوان سوبسترا و از محلول تری‌کلرواستیک اسید ۵ درصد برای متوقف کردن واکنش استفاده شد. واکنش در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام و جذب نور با اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۸۰ نانومتر خوانده شد. هر واحد از فعالیت آنزیم پپسین به صورت ۱ میکرومول تیروزین آزاد شده در هر دقیقه تعریف شد.

فعالیت آنزیم تریپسین با استفاده از سوبسترای ۱ میلی‌مولار Benzoyl-DL-arginine-p-nitroanilide (BAPNA) اندازه‌گیری شد (Torrisen et al., 1994). برای تهیه سوبسترا، ابتدا ۴۳/۵ میلی‌گرم BAPNA در ۱ میلی‌لیتر DMSO حل شد و سپس با محلول بافر Tris-HCl ۰/۰۵ مولار حاوی $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ۰/۰۲ مولار (pH ۷/۵) به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. در صورت عدم حل کامل BAPNA، محلول به مدت ۵ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد در بن‌ماری قرار داده شد تا محلولی شفاف به دست آید. بلافاصله بعد از مرحله انکوباسیون، واکنش آنزیمی با افزودن ۸۰۰ میکرولیتر محلول ۳۰ درصد استیک اسید متوقف و میزان جذب با اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۰ نانومتر خوانده شد و با منحنی استاندارد پارانیتروانیلین ۵۰-۰ میلی‌مولار برای یافتن غلظت محصول تولیدی مقایسه شد. هر واحد از فعالیت آنزیم تریپسین به صورت میکرومول پارانیتروانیلین آزاد شده در هر دقیقه تعریف و فعالیت ویژه تریپسین نیز به صورت هر واحد در هر میلی‌گرم پروتئین (U.mg Protein^{-1}) بیان شد.

فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز با استفاده از معرف دی‌نیتروسالسیلیک اسید اندازه‌گیری شد. در این روش، ۲۵۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی به همراه ۲۵۰ میکرولیتر نشاسته ۱ درصد به مدت ۳ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس، ۵۰۰ میکرولیتر معرف رنگی دی‌نیتروسالسیلیک اسید اضافه و پس از خنک شدن، جذب نور با اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۴۰ نانومتر خوانده شد (Bernfeld, 1951). میزان مالتوز آزاد شده توسط آنزیم با منحنی

تجزیه و تحلیل آماری

تمامی داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ تحلیل و نمودارها با استفاده از برنامه Microsoft Excel 2010 رسم شدند. برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها در گروه‌ها و تکرارها (برای تشکیل تیمارها) از آزمون Shapiro-Wilk استفاده شد. در صورت نرمال بودن داده‌ها، مقایسه آماری بین گروه‌ها در تیمارها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه (One-way ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد. پیش از مقایسه گروه‌ها با یکدیگر، همگنی داده‌ها در گروه‌ها با آزمون Test of Homogeneity of Variances بررسی شد. برای مقایسه گروه‌ها از آزمون Duncan استفاده شد.

نتایج

نتایج بررسی فراسنجه‌های فیزیوشیمیایی آب در طول دوره پرورش در جدول ۳ نشان داده شده است. هیچ اختلاف معنی‌داری در میزان دما، pH، اکسیژن و میزان اشباعیت آن در طول دوره پرورش وجود نداشت.

استاندارد مالتوز مقایسه و همچنین فعالیت آنزیمی ویژه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین (U/mg Protein) محاسبه شد.

فعالیت آنزیم لیپاز با استفاده از روش هیدرولیز پارانیتروفنیل مریستات (p-Nitrophenyl Myristate) و خواندن میزان پارانیتروفنل آزاد شده، اندازه‌گیری شد. در این روش، ۱۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی به ۰/۵ میلی‌لیتر محلول سوپسترا حاوی پارانیتروفنیل مریستات، ۲- متوکسی اتانول، سدیم کولت و بافر تریس-اسید کلریدریک (۹ pH) اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس، واکنش با افزودن استون / n-هپتان متوقف و پس از سانتریفیوژ، جذب نور لایه آبی زیرین با اسپکتروفتومتر در ۴۰۵ نانومتر خوانده شد (Iijima et al., 1998) و با منحنی استاندارد پارانیتروفنل با غلظت‌های ۵۰-۰ میکرومولار برای یافتن غلظت محصول تولیدی مقایسه شد. یک واحد فعالیت آنزیمی مقدار میکرومول پارانیتروفنل آزاد شده در دقیقه تعریف شد و همچنین فعالیت آنزیمی ویژه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین (U/mg Protein^{-1}) محاسبه شد.

جدول ۳: شاخص‌های فیزیکوشیمیایی آب در گروه‌های آزمایشی مختلف در دوره پرورش
 (میانگین $\pm$ خطای استاندارد)

شاخص‌ها	دو هفته اول	دو هفته دوم	دو هفته سوم
اکسیژن محلول (mg/L)	۶/۹۴ $\pm$ ۰/۱۱	۶/۸۹ $\pm$ ۰/۱۲	۶/۹۲ $\pm$ ۰/۱۱
اشباعیت اکسیژن (%)	۷۷/۶۳ $\pm$ ۱/۴۱	۷۶/۷۰ $\pm$ ۱/۳۶	۷۶/۸۹ $\pm$ ۱/۲۶
دما ($^{\circ}$ C)	۲۰/۳۸ $\pm$ ۰/۱۴	۲۰/۳۸ $\pm$ ۰/۱۴	۲۰/۲۴ $\pm$ ۰/۱۳
pH	۸/۲۸ $\pm$ ۰/۰۲	۸/۲۵ $\pm$ ۰/۰۳	۸/۲۶ $\pm$ ۰/۰۲

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

میزان آنزیم کاتالاز در تیمارهای ۲ و ۳

بر اساس نتایج بررسی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی میزان آنزیم کاتالاز، مالون دی‌آلدئید و سوپراکسید دیسموتاز بچه فیل‌ماهیان در تمام گروه‌های آزمایشی فاقد اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد بود ($P>0/05$)؛ جدول ۴).
 نسبت به گروه شاهد روند افزایشی داشت. ولی در تیمار ۴، اگرچه نسبت به گروه شاهد افزایش داشت، اما در مقایسه با تیمارهای ۲ و ۳ کاهش را نشان داد. بیشترین میزان آنزیم کاتالاز ($112 \pm 1/06$ واحد در میلی‌لیتر) در تیمار ۳ و کمترین آن ($108 \pm 1/78$ واحد در میلی‌لیتر) با تفاوت بسیار اندک با گروه شاهد، در تیمار ۱ بود.

جدول ۴: سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بچه فیل‌ماهیان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی برای ۴۸ روز
 (میانگین $\pm$ خطای استاندارد)

شاخص	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
کاتالاز (U/mL)	۱۰۸/۱۷ $\pm$ ۱/۷۹	۱۰۸/۰۰ $\pm$ ۱/۷۸	۱۱۱/۳۳ $\pm$ ۰/۹۱	۱۱۲/۰۰ $\pm$ ۱/۰۶	۱۰۹/۸۰ $\pm$ ۲/۵۷
مالون دی‌آلدئید (nmol/L)	۸۳/۳۳ $\pm$ ۴/۹۶	۷۹/۱۷ $\pm$ ۱/۹۲	۸۰/۳۳ $\pm$ ۳/۰۴	۷۹/۵۰ $\pm$ ۱/۷۸	۷۶/۰۰ $\pm$ ۳/۴۵
سوپراکسید دیسموتاز (U/mL)	۸۵/۱۷ $\pm$ ۴/۹۸	۸۷/۱۷ $\pm$ ۳/۵۲	۷۸/۵۰ $\pm$ ۲/۵۷	۹۱/۲۰ $\pm$ ۲/۷۴	۸۴/۹۳ $\pm$ ۸/۱۵

شاهد: جیره بدون پروتئین هیدرولیز شده؛ تیمار ۱: جیره دارای ۲/۷۵ درصد پروتئین هیدرولیز شده؛ تیمار ۲: جیره دارای ۵/۵ درصد پروتئین هیدرولیز شده؛ تیمار ۳: جیره دارای ۸/۲۵ درصد پروتئین هیدرولیز شده؛ تیمار ۴: تغذیه شده با جیره تجاری.

در هیچ یک از شاخص‌ها اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ($P>0/05$).

چهارم در تیمار ۲ مشاهده شد. کمترین میزان تولید آنزیم پپسین در مرحله اول در تیمار ۲، در مرحله دوم، سوم و چهارم در گروه شاهد مشاهده شد.

نتایج به دست آمده از فعالیت آنزیم تریپسین، اختلاف معنی‌داری را در مراحل مختلف نمونه‌برداری نشان نداد ($P > 0.05$). بیشترین میزان تولید آنزیم تریپسین در مرحله اول در تیمار ۱، در مرحله دوم در تیمار ۳، در مرحله سوم در تیمار ۴ و در مرحله چهارم در تیمار ۱ مشاهده شد. کمترین میزان تولید آنزیم تریپسین در مرحله اول در تیمار ۳، در مرحله دوم در تیمار ۱، در مرحله سوم در تیمار ۲ و در مرحله چهارم در گروه شاهد مشاهده شد.

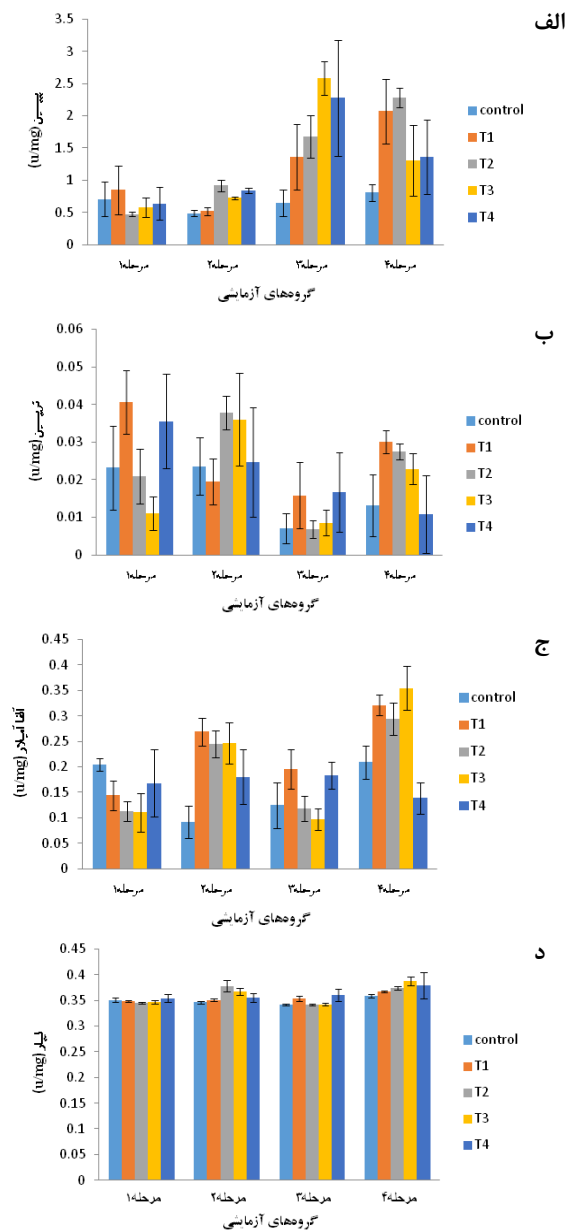
بر اساس نتایج این مطالعه، اختلاف معنی‌داری در تولید آنزیم آلفا آمیلاز در مراحل مختلف نمونه‌برداری مشاهده نشد ($P > 0.05$). بیشترین میزان تولید آنزیم آلفا آمیلاز در مرحله اول در گروه شاهد، در مرحله دوم و سوم در تیمار ۱ و در مرحله چهارم در تیمار ۳ مشاهده شد. کمترین میزان تولید آنزیم آلفا آمیلاز در مرحله اول در تیمار ۲، در مرحله دوم در گروه شاهد، در مرحله سوم در تیمار ۳ و در مرحله چهارم در تیمار ۴ مشاهده شد.

میزان آنزیم مالون دی‌آلدهید در گروه شاهد نسبت به دیگر تیمارهای دیگر (به استثنای تیمار ۲) روند کاهشی داشت. بیشترین میزان آنتی‌اکسیدان مالون دی‌آلدهید ($83/33 \pm 4/96$) نانومول در لیتر) در گروه شاهد و کمترین آن ($76 \pm 3/45$ نانومول در لیتر) در تیمار ۴ بود.

میزان تولید آنزیم سوپراکسید دیسموتاز یک روند ثابتی نداشت و میزان آن در گروه شاهد از تیمارهای ۱ و ۳ کمتر بود، اما نسبت به تیمارهای ۲ و ۴ افزایش داشت. بیشترین میزان آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز ($91/20 \pm 2/74$ واحد در میلی‌لیتر) در تیمار ۳ و کمترین آن ($78/50 \pm 2/57$ واحد در میلی‌لیتر) در تیمار ۲ بود.

آنزیم‌های گوارشی

نتایج مربوط به بررسی فعالیت آنزیم‌های گوارشی مختلف در مراحل چهارگانه در شکل ۱ نشان داده شده است. بر اساس نتایج، اختلاف معنی‌داری در میانگین فعالیت آنزیم پپسین در مراحل مختلف نمونه‌برداری مشاهده نشد ($P > 0.05$). بیشترین میزان تولید آنزیم پپسین در مرحله اول در تیمار ۱، در مرحله دوم در تیمار ۲، در مرحله سوم در تیمار ۳ و در مرحله



شکل ۱: مقایسه فعالیت آنزیم‌های گوارشی مختلف در مراحل چهارگانه نمونه‌برداری در بچه فیل ماهیان پرورشی (میانگین $\pm$ خطای استاندارد). الف) آنزیم پپسین. ب) آنزیم تریپسین. ج) آنزیم آلفا آمیلاز. د) آنزیم

لیپاز. اختلاف معنی‌داری بین تیمارها در شاخص‌های بررسی شده در مراحل مختلف نمونه‌برداری وجود نداشت ($P > 0.05$).

بر اساس نتایج، اختلاف معنی‌داری در تولید آنزیم لیپاز در مراحل مختلف نمونه‌برداری مشاهده نشد ($P > 0.05$). بیشترین میزان تولید آنزیم لیپاز در مرحله اول در تیمار ۴، در مرحله دوم در تیمار ۲، در مرحله سوم در تیمار ۴ و در مرحله چهارم در تیمار ۳ مشاهده شد. کمترین میزان تولید آنزیم لیپاز در مرحله اول در تیمار ۱ و ۲، در مرحله دوم در گروه شاهد، در مرحله سوم در گروه شاهد، تیمارهای ۲ و ۳ و در مرحله چهارم در گروه شاهد مشاهده شد.

بحث

خواص آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده به توالی پپتیدها، وزن مولکولی پپتیدها، خواص شیمیایی و توانایی انتقال الکترون آمینواسیدها در توالی وابسته است (Qian et al., 2008). بنابراین، شرایط هیدرولیز و نوع آنزیم مورد استفاده با تاثیر بر اندازه پپتیدها و توالی آمینواسیدها در خاصیت آنتی‌اکسیدانی موثر است. پروتئین‌های هیدرولیز شده خاصیت آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحظه‌ای دارند (Klompong et al., 2007; Elavarasan et al., 2014) و در بعضی مواقع با

آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی مانند بوتیل هیدروکسی آنیزول (BHA) و بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHN) برابری می‌کند (Elavarasan et al., 2014).

استرس اکسیداتیو به شرایطی اطلاق می‌شود که در آن میزان شکل‌گیری اکسیژن و نیترژن با واکنش پذیری بالا زیاد است و از طرف دیگر فرایند حذف این عوامل کُند است (Martinez-Alvarez et al., 2005). سه شاخص استرس اکسیداتیو شامل کاتالاز، مالون دی‌آلدهید و سوپراکسید دیسموتاز در گروه‌های مختلف آزمایشی این پژوهش مورد ارزیابی قرار گرفتند که در هیچ یک از آنها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. کاتالاز یکی از آنزیم‌های بسیار فعال است که در تجزیه پراکسید هیدروژن تجمع یافته در بافت نقش دارد. تشدید فعالیت مالون دی‌آلدهید به عنوان یک نشانگر زیستی پراکسیداسیون چربی و آسیب غشای سلولی در زمان افزایش اکسیژن واکنش‌پذیر رخ می‌دهد (Gawel et al., 2004). سوپراکسید دیسموتاز نیز به عنوان یکی دیگر از آنزیم‌های مهم، در غیرفعال‌سازی آنیون

سوپراکسید نقش اساسی دارد. در مطالعه حاضر اگرچه بین هیچ یک از شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، اما میزان کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز با افزایش درصد جایگزینی، روندی صعودی داشت (به استثناء کاتالاز در تیمار ۱ و سوپراکسید دیسموتاز در تیمار ۲) و در تیمار ۳ بالاتر از تیمارهای دیگر بود. همچنین با توجه به عدم تغییر معنی‌دار در میزان مالون دی‌آلدهید به عنوان یکی از شاخص‌های اصلی پراکسیداسیون چربی‌ها، می‌توان به این نتیجه رسید که جایگزینی پودر ماهی با پروتئین هیدرولیز شده هیچ استرس اکسیداتیوی ایجاد نکرد. گزارش‌های بسیاری در زمینه اثرگذاری جایگزینی پودر ماهی با پروتئین هیدرولیز شده وجود دارد (Bui et al., 2014; Javaherdoust et al., 2020; Yeganeh and Adel, 2021). در همین راستا پژوهش Wu و همکاران (۲۰۱۸) حاکی از عدم اثرگذاری جایگزینی پودر ماهی جیره با پروتئین هیدرولیز شده جانوری بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با وجود افزایش جزئی سطوح آنزیم‌های شاخص آنتی‌اکسیدان یعنی کاتالاز و گلووتاتیون پراکسیداز و همچنین میزان مالون دی‌آلدهید بود. در پژوهشی دیگر با افزودن پروتئین هیدرولیز شده ماهی به جیره ماهی باس دهان بزرگ (*Micropterus salmoides*) در سطح ۱۶/۳ درصد، سطوح سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلووتاتیون پراکسیداز نیز سیر صعودی داشت (Fan et al., 2022).

آنزیم‌های گوارشی که توسط سلول‌های پوششی معده، پانکراس و روده کوچک در آبزیان ترشح می‌شوند، نقشی اساسی در هضم غذا و جذب مواد مغذی ایفا می‌کنند. مطالعه این آنزیم‌ها برای درک بهتر فیزیولوژی گوارش در ماهیان حائز اهمیت است (Furne et al., 2005). فعالیت آنزیم‌های گوارشی شاخصی برای ارزیابی مشکلات تغذیه‌ای و توانایی سازگاری ماهیان با جیره‌های غذایی مصنوعی محسوب می‌شود (Bolasina et al., 2006). ترکیب آنزیم‌های گوارشی در ماهیان خاوباری تحت تأثیر عواملی مانند گونه، سن، ژنتیک و جیره غذایی قرار می‌گیرد (Buddington and Doroshov, 1986). با وجود اثر فرایند هیدرولیز بر هضم‌پذیری پروتئین‌ها، پودر ماهی در مقایسه با منابع دیگر، قابلیت هضم بهتری در دستگاه گوارش بسیاری از ماهیان دارد (Psafakis et al., 2020; Yu, 2023). مطالعات متعددی به تأثیر منابع مختلف

مشابه با مطالعه حاضر، در مورد عدم تاثیر پروتئین‌های هیدرولیز شده بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی در مطالعات دیگر نیز گزارش شده است (Oliva-Teles et al., 1999; Swanepoel and Goosen, 2018). Song و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه‌ای جایگزینی پودر ماهی با پروتئین هیدرولیز شده سویا را در جیره غذایی ماهی کفشک ستاره‌ای (*Platichthys stellatus*) جوان بررسی کردند و مشاهده کردند که هیچ تفاوت معنی‌داری در سطوح آنزیم‌های پپسین، آمیلاز و لیپاز بین تیمارها وجود ندارد. با این حال، سطح تریپسین در تیمارهای با سطوح جایگزینی ۱۵ تا ۷۰ درصد بیشتر بود. Srirachun و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه خود بر روی لارو باس دریایی آسیایی (*Lates calcarifer*)، هیچ تفاوتی را در ترشح پپسین بین تیمارهای حاوی پروتئین هیدرولیز شده و شاهد مشاهده نکردند. در مورد تریپسین، در سطح ۵۰ درصد جایگزینی پروتئین پودر ماهی تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد، اما در سطح ۲۵ درصد جایگزینی با پروتئین هیدرولیز شده عضله ماهی، کاهش معنی‌داری را در فعالیت تریپسین در مقایسه با تیمار شاهد نشان داد (Srirachun et al., 2014). مطالعات دیگر نیز تاثیر ناچیز جایگزینی

پروتئینی بر سطوح آنزیم‌های گوارشی ماهیان پرداخته‌اند (Silva et al., 2010; Moutinho et al., 2017; Gisbert et al., 2018). با این حال، اطلاعات کمی در مورد جایگزینی پودر ماهی با پروتئین هیدرولیز شده در جیره غذایی ماهیان خاویاری و تاثیر آن بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی در دسترس است (Siddik et al., 2021).

در مطالعه حاضر، هیچ تفاوت معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های گوارشی پپسین، تریپسین، آلفا آمیلاز و لیپاز بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد. عدم مشاهده تغییر در فعالیت آنزیم‌های گوارشی نیز می‌تواند به این دلیل باشد که پروتئین هیدرولیز شده به راحتی توسط ماهی هضم و جذب می‌شود و نیازی به استفاده بیشتر از ظرفیت آنزیم‌های گوارشی برای هضم جیره نیست، به طوری که Zeytin و همکاران (۲۰۱۶) نیز در مطالعات خود بیان کردند زمانی که هضم‌پذیری جیره بهتر باشد ماهی ظرفیت کمتری را برای هضم استفاده می‌کند. علاوه بر این، ممکن است ترکیبات موجود در جیره تاثیرات متفاوتی بر ترشح آنزیم‌های گوارشی داشته باشند. مطالعات مختلف تاثیرات متفاوتی از پروتئین هیدرولیز شده بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی در بچه‌ماهیان را نشان داده‌اند. نتایج

پودر ماهی با پروتئین هیدرولیز شده بر سطح آنزیم‌های گوارشی ماهی سیم سرطلایی (*Sparus aurata*) را نشان داده‌اند (Psofakis et al., 2020). Kotzamanis و همکاران در سال (۲۰۰۷) نشان دادند که لارو ماهی باس دریایی (*Dicentrarchus labrax*) تغذیه شده با پروتئین هیدرولیز شده تغییری را در فعالیت آنزیم‌های گوارشی پانکراسی نشان ندادند، این در حالی بود که آنزیم آلکالین فسفاتاز و آمینوپپتیداز غشای مسواکی پرزهای روده که نشان دهنده تکامل روده هستند، در گروهی که پروتئین هیدرولیز شده تجاری را دریافت کرده بود به طور معنی‌داری افزایش نشان داد. Sheng و همکاران (۲۰۲۲) افزایش فعالیت آنزیم پپسین و آلکالین فسفاتاز در اثر افزودن پروتئین هیدرولیز شده در جیره را به نقش آنها در سرعت تکامل معده و روده نسبت داده‌اند. با این حال، نتایج متفاوتی در مورد تأثیر پروتئین هیدرولیز شده بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی در مطالعات دیگر گزارش شده است. Nikoo و همکاران (۲۰۲۴) در مطالعه خود کاهش فعالیت پپسین و تریپسین را در بچه‌ماهی‌های شانک زردباله عربی (*Acanthopagrus arabicus*) و صبیتی (*Sparidentex hasta*) که با پروتئین هیدرولیز شده تغذیه شده بودند، مشاهده کردند. این امر می‌تواند به دلیل عدم نیاز به هضم پروتئین توسط بچه‌ماهی‌ها باشد، زیرا پپتیدهای کوچک (۴۲ درصد) و اسیدهای آمینه آزاد (۳۶ درصد) موجود در پروتئین هیدرولیز شده قابلیت هضم و جذب بالایی دارند (Nikoo et al., 2024). با وجود این، مطالعه‌ای روی لارو باس دهان بزرگ نشان داد که پروتئین هیدرولیز شده غذایی، فعالیت آنزیم‌های گوارشی مانند پپسین و تریپسین را افزایش داد که نشان می‌دهد افزودن پروتئین هیدرولیز به جیره باعث تکوین سریع‌تر معده در لارو این ماهی شد (Sheng et al., 2022). اضافه کردن پودر پروتئین هیدرولیز شده ماهی به جیره غذایی حاوی پودر ماهی کم باعث بهبود تکوین روده و افزایش سطح آنزیم‌های گوارشی ماهی هامور دورگه جوان (*Epinephelus fuscoguttatus* × *Epinephelus lanceolatus*) شد (Hlirdzi et al., 2022). همچنین، همکاران (۲۰۱۹) افزایش معنی‌داری را در فعالیت آنزیم پپسین در ماهی سیم دریایی سرطلایی تغذیه شده با جیره حاوی سطوح بالای پودر ضایعات طیور مشاهده کردند. عدم وجود تفاوت در فعالیت آنزیم‌های پروتئاز در برخی مطالعات می‌تواند به دلیل عدم وجود تفاوت در قابلیت هضم‌پذیری جیره‌های مختلف

عدم وجود سوبسترای کافی برای فعالیت تریپسین و در نتیجه مهار فعالیت تریپسین از طریق مکانیزم تنظیمی نسبت داده‌اند. با وجود عدم تغییر در میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی در تیمارهای مختلف در مطالعه حاضر، اثر مثبت پروتئین هیدرولیز شده در بعضی از تیمارها (داده در حال چاپ) را می‌توان به جذب بهتر اسیدهای آمینه در روده نسبت داد، همان گونه که پژوهشگران دیگر نیز این مساله را در مطالعات خود نشان دادند (Savoie et al., 2011; Wei et al., 2019; Fan et al., 2022). Fan و همکاران (۲۰۲۲) افزایش بیان ژن‌های انتقال دهنده اسیدهای آمینه آزاد را در بچه‌ماهی‌های باس دهان بزرگ که پروتئین هیدرولیز شده را در حد بهینه (۱۶/۳ درصد) دریافت کرده بودند، مشاهده کردند، این در حالی بود که وقتی بچه‌ماهی‌ها درصد بالای پروتئین هیدرولیز شده (۲۷/۳ درصد) را دریافت می‌کردند، درصد بیان ژن‌های انتقال دهنده اسیدهای آمینه آزاد و رشد از طریق مکانیزم‌های تنظیمی کاهش نشان داد.

تأثیر پروتئین هیدرولیز شده بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی در ماهیان می‌تواند به عوامل متعددی دیگری از جمله گونه ماهی، مرحله تکاملی، نوع پروتئین هیدرولیز شده، شرایط

باشد. با افزایش سطح جایگزینی پودر ماهی با پروتئین هیدرولیز شده، ممکن است تفاوت‌های قابل توجهی در فعالیت آنزیم‌ها مشاهده شود (Chalamaiah et al., 2012). برخی مطالعات نیز تأثیر منفی جایگزینی پودر ماهی با پروتئین‌های هیدرولیز شده مختلف را بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی نشان داده‌اند. Zheng و همکاران (۲۰۱۴) کاهش معنی‌دار قابلیت هضم‌پذیری جیره را در کفشک ماهی (*Paralichthys olivaceus*) جوان در اثر جایگزینی ۲۰ درصدی پودر ماهی با پروتئین هیدرولیز شده ماهی گزارش کردند. Siddik و همکاران (۲۰۱۸) نیز کاهش قابلیت هضم‌پذیری جیره را در ماهی باس دریایی آسیایی در اثر جایگزینی پودر ماهی با پروتئین هیدرولیز شده ماهی تون مشاهده کردند. دلایل مختلفی برای این کاهش هضم‌پذیری وجود دارد، از جمله قابلیت هضم کمتر ترکیبات نیتروژنی موجود در منابع پروتئینی هیدرولیز شده و یا وجود بیش از حد اسیدهای آمینه و نوکلئوتیدهای آزاد که می‌تواند منجر به اختلال در هضم و متابولیسم غذا شود (Tonheim et al., 2007; Siddik et al., 2021). Cahu و همکاران (۲۰۰۴) کاهش فعالیت تریپسین را در نتیجه افزایش درصد پروتئین هیدرولیز شده در جیره به دلیل

هیدرولیز و درصد افزودن به خوراک بستگی داشته باشد. مطالعات بیشتری در این زمینه برای درک کامل ساز و کارهای دخیل و تعیین سطوح بهینه پروتئین هیدرولیز شده در جیره غذایی گونه‌های مختلف ماهی ضروری است. در مجموع، از آنجایی که سیستم آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی در محافظت از ماهیان در برابر آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزادی که می‌توانند منجر به استرس اکسیداتیو، آسیب سلولی و بیماری شوند، دارد، نتیجه مطالعه حاضر نشان می‌دهد که پروتئین هیدرولیز شده تا سطح ۸/۲۵ درصد هیچ استرس اکسیداتیوی ایجاد نکرد. همچنین، عدم مشاهده تغییر در فعالیت آنزیم‌های گوارشی بچه‌فیل ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی پروتئین هیدرولیز شده تا سطوح مورد مطالعه می‌تواند به این دلیل باشد که پروتئین هیدرولیز شده بدون نیاز به فعالیت آنزیم‌های گوارشی بیشتر به راحتی توسط ماهی هضم و جذب می‌شود.

منابع

- Aebi H. 1984.** Catalase in vitro. P: 121–126. In: L. Packer (Eds.). *Methods in Enzymology*. Academic Press, USA.
- AOAC. 1990.** Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, USA. 664P.
- Benhabiles M.S., Abdi N., Drouiche N., Lounici H., Pauss A., Goosen M.F.A. and Mameri N. 2012.** Fish protein hydrolysate production from sardine solid waste by crude pepsin enzymatic hydrolysis in a bioreactor coupled to an ultrafiltration unit. *Materials Science and Engineering (C)*, 32(4): 922–928. doi: 10.1016/J.MS.EC.2012.02.013
- Bernfeld P. 1951.** Amylases α and β . P: 149–158. In: Colowick P. and Kaplan N.O. (Eds.). *Methods in Enzymology*. Academic Press, USA.
- Bhaskar N., Benila T., Radha C. and Lalitha R.G. 2008.** Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste proteins of catla (*Catla catla*) for preparing protein hydrolysate using a commercial protease. *Bioresource Technology*, 99(2): 335–343. doi: 10.1016/J.BIO.RTECH.2006.12.015
- Bolasina S., Tagawa M., Yamashita Y. and Tanaka M. 2006.** Effect of stocking density on growth, digestive enzyme activity and cortisol level in larvae and juveniles of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 259(1): 432–443. doi: 10.1016/j.aquaculture.2006.05.021
- Borges S., Odila J., Voss G., Martins R., Rosa A., Couto J.A., Almeida A. and Pintado M. 2023.** Fish by-products: A source of enzymes to generate circular bioactive hydrolysates. *Molecules*, 28(3): 1–16 (1155). doi: 10.3390/molecules28031155
- Bronzi P., Chebanov M., Michaels J.T., Wei Q., Rosenthal H. and Gessner J. 2019.** Sturgeon meat and caviar production: Global update 2017. *Journal of Applied Ichthyology*, 35(1): 257–266. doi: 10.1111/jai.13870
- Buddington R.K. and Doroshov S.I. 1986.** Development of digestive secretions in white sturgeon juveniles (*Acipenser transmontanus*). *Comparative Biochemistry and Physiology (A)*, 83(2): 233–238. doi: 10.1016/0300-9629(86)90567-0
- Bui H.T.D., Khosravi S., Fournier V., Herault M. and Lee K.J. 2014.** Growth performance, feed utilization, innate immunity, digestibility and disease resistance of juvenile red seabream (*Pagrus major*) fed diets supplemented with protein hydrolysates. *Aquaculture*,

418-419: 11–16. doi: 10.1016/j.aqua culture.2013.09.046

Cahu C., Ronnestad I., Grangier V. and Zambonino-Infante J.L.

2004. Expression and activities of pancreatic enzymes in developing sea bass larvae (*Dicentrarchus labrax*) in relation to intact and hydrolyzed dietary protein; involvement of cholecystokinin. *Aquaculture*, 238(1-4): 295–308. doi: 10.1016/j.aquaculture.2004.04.013

Chaklader M.R., Siddik M.A. and Fotedar R.

2020. Total replacement of fishmeal with poultry by-product meal affected the growth, muscle quality, histological structure, antioxidant capacity and immune response of juvenile barramundi, *Lates calcarifer*. *Plos One*, 15(11): 1–21 (0242079). doi: 10.1371/journal.pone.0242079

Chalamaiah M., Hemalatha R. and Jyothirmayi T.

2012. Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. *Food Chemistry*, 135(4): 3020–3038. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.06.100

Ding Z., Zhang Y., Ye J., Du Z. and Kong Y.

2015. An evaluation of replacing fish meal with fermented soybean meal in the diet of *Macrobrachium nipponense*: Growth, nonspecific immunity, and resistance to *Aeromonas*

hydrophila. *Fish and Shellfish Immunology*, 44(1): 295–301. doi: 10.1016/j.fsi.2015.02.024

Elavarasan K., Naveen Kumar V. and Shamasundar B.A.

2014. Antioxidant and functional properties of fish protein hydrolysates from freshwater carp (*Catla catla*) as influenced by the nature of enzyme. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38 (3): 1207–1214. doi: 10.1111/jfpp.12081

Fan Z., Wu D., Li J., Zhang Y., Cui Z., Li T., Zheng X., Liu H., Wang L. and Li H.

2022. Assessment of fish protein hydrolysates in juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*) diets: Effect on growth, intestinal antioxidant status, immunity, and microflora. *Frontiers in Nutrition*, 9: 1–18 (816341). doi: 10.3389/fnut.2022.816341

Furne J., Saeed A and Levitt M.D.

2008. Whole tissue hydrogen sulfide concentrations are orders of magnitude lower than presently accepted values. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 295(5): 1479–1485. doi: 10.1152/ajpregu.90566.2008

Gajanan P.G., Elavarasan K. and Shamasundar B.A.

2016. Bioactive and functional properties of protein hydrolysates from fish frame processing waste using plant proteases. *Environmental Science*

- and Pollution Research, 23: 24901–24911. doi: 10.1007/s11356-016-7618-9
- Gatlin III D.M., Barrows F.T., Brown P., Dabrowski K., Gaylord T.G., Hardy R.W., Herman E., Hu G., Krogdahl A., Nelson R. and Overturf K. 2007.** Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: A review. *Aquaculture Research*, 38(6): 551–579. doi: 10.1111/j.1365-2109.2007.01704
- Gawel S., Wardas M., Niedworok E. and Wardas P. 2004.** Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker. *Wiadomosci Lekarskie*, 57: 453–455.
- Gisbert E., Fournier V., Solovyev M., Skalli A. and Andree K.B. 2018.** Diets containing shrimp protein hydrolysates provided protection to European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) affected by a *Vibrio pelagius* natural infection outbreak. *Aquaculture*, 495: 136–143. doi: 10.1016/J.AQUACULTURE.2018.04.051
- Hardy R.W. 2010.** Utilization of plant proteins in fish diets: Effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquaculture Research*, 41(5): 770–776. doi: 10.1111/j.1365-2109.2009.02349
- Heath R.L. and Packer L. 1968.** Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125(1): 189–198. doi: 10.1016/0003-9861(68)90654-1
- Hlirdzi V., Wang J., Li T., Cui Z., Tan B., Liu H., Yang Q., Dong X., Zhang S. and Chi S. 2022.** Effects of lower fishmeal with hydrolyzed fish protein powder on the growth performance and intestinal development of juvenile pearl gentian grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*♀ and *Epinephelus lanceolatus*♂). *Frontiers in Marine Science*, 9: 1–12 (830398). doi: 10.3389/fmars.2022.830398
- Hsu K.C. 2010.** Purification of antioxidative peptides prepared from enzymatic hydrolysates of tuna dark muscle by-product. *Food Chemistry*, 122(1): 42–48. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.02.013
- Iijima N., Tanaka S. and Ota Y. 1998.** Purification and characterization of bile salt-activated lipase from the hepatopancreas of red sea bream, *Pagrus major*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 18: 59–69. doi: 10.1023/A:1007725513389
- Iranian Fisheries Organization. 2021.** Statistical Yearbook of the Iranian Fisheries Organization 2016-2021. Iranian Fisheries Organization, IRAN. 29P.
- Javaherdoust S., Yeganeh S. and Amirkolaie A.K. 2020.** Effects of dietary visceral protein hydrolysate

- of rainbow trout on growth performance, carcass composition, digestibility and antioxidant enzyme in juvenile *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Nutrition*, 26(1): 134–144. doi: 10.1111/anu.12975
- Karapanagiotidis I.T., Psfakis P., Mente E., Malandrakis E. and Golomazou E. 2019.** Effect of fishmeal replacement by poultry by-product meal on growth performance, proximate composition, digestive enzyme activity, haematological parameters and gene expression of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture Nutrition*, 25(1): 3–14. doi: 10.1111/anu.12824
- Klompong V., Benjakul S., Kantachote D. and Shahidi F. 2007.** Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. *Food Chemistry*, 102(4): 1317–1327. doi: 10.1016/j.foodchem.2006.07.016
- Kono Y. 1978.** Generation of superoxide radical during autoxidation of hydroxylamine and an assay for superoxide dismutase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 186(1): 189–195. doi: 10.1016/0003-9861(78)90479-4
- Korczek K., Tkaczewska J. and Migdal W. 2018.** Antioxidant and antihypertensive protein hydrolysates in fish products- A review. *Czech Journal of Food Sciences*, 36(3): 195–207. doi: 10.17221/283/2017-CJFS
- Kotzamanis Y.P., Gisbert E., Gatesoupe F.J., Zambonino Infante J. and Cahu C. 2007.** Effects of different dietary levels of fish protein hydrolysates on growth, digestive enzymes, gut microbiota, and resistance to *Vibrio anguillarum* in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology (A)*, 147(1): 205–514. doi: 10.1016/j.cbpa.2006.12.037
- Martinez-Alvarez R.M., Morales A.E. and Sanz A. 2005.** Antioxidant defenses in fish: Biotic and abiotic factors. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 15(1): 75–88. doi: 10.1007/s11160-005-7846-4
- Moutinho S., Peres H., Serra C., Martinez-Llorens S., Tomas-Vidal A., Jover-Cerda M. and Oliva-Teles A. 2017.** Meat and bone meal as partial replacement of fishmeal in diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles: Diets digestibility, digestive function, and microbiota modulation. *Aquaculture*, 479: 721–731. doi: 10.1016/j.aquaculture.2017.07.021
- Nikoo M., Mozanzadeh M.T., Noori F., Imani A., Houshmand H., Sam M.R. and Jafari F. 2024.** The effects of protein hydrolysates

- from rainbow trout by-products on growth, digestive and antioxidant enzymes, and liver lysozyme activity in sobaity (*Sparidentex hasta*) and Arabian yellowfin (*Acanthopagrus arabicus*) seabream juveniles. *Aquaculture Reports*, 37: 1–9 (102229). doi: 10.1016/j.aqrep.2024.102229
- North B.P., Turnbull J.F., Ellis T., Porter M.J., Migaud H., Bron J. and Bromage N.R. 2006.** The impact of stocking density on the welfare of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 255(1-4): 466–479. doi: 10.1016/J.AQUACULTURE.2006.01.004
- Oliva-Teles A., Cerqueira A.L. and Goncalves P. 1999.** The utilization of diets containing high levels of fish protein hydrolysate by turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles. *Aquaculture*, 179(1-4): 195–201. doi: 10.1016/S0044-8486(99)00162-3
- Psafakis P., Karapanagiotidis I.T., Malandrakis E.E., Golomazou E., Exadactylos A. and Mente E. 2020.** Effect of fishmeal replacement by hydrolyzed feather meal on growth performance, proximate composition, digestive enzyme activity, haematological parameters and growth-related gene expression of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 521: 1–9 (735006). doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.735006
- Qian Z.J., Jung Q.K. and Kim S.K. 2008.** Free radical scavenging activity of a novel antioxidative peptide purified from hydrolysate of bullfrog skin, *Rana catesbeiana* Shaw. *Bioresource Technology*, 99: 1690–1698. doi: 10.1016/j.biortech.2007.04.005
- Rungruangsak K. and Utne F. 1981.** Effect of different acidified wet feeds on protease activities in the digestive tract and on growth rate of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Aquaculture*, 22: 67–79. doi: 10.1016/0044-8486(81)90134-4
- Sarmadi B.H. and Ismail A. 2010.** Antioxidative peptides from food proteins: A Review. *Peptides*, 31(10): 1949–1956. doi: 10.1016/j.peptides.2010.06.020
- Savoie A., Le Francois N.R., Lamarre S.G., Blier P.U., Beaulieu L. and Cahu C. 2011.** Dietary protein hydrolysate and trypsin inhibitor effects on digestive capacities and performances during early-stages of spotted wolffish: Suggested mechanisms. *Comparative Biochemistry and Physiology (A)*, 158(4): 525–530. doi: 10.1016/j.cbpa.2010.12.017
- Sayed Hassani M.H., Banavreh A., Yousefi Jourdehi A., Mohseni M., Monsef Shokri M. and**

- Yeganeh Rastekenari H. 2021.** The feasibility of partial replacement fish meal with poultry by-products in practical diets of juvenile great sturgeon, *Huso huso*: Effects on growth performance, body composition, physio-metabolic indices, digestibility and digestive enzymes. *Aquaculture Research*, 52(8): 3605–3616. doi: 10.1111/are.15205
- Sheng Z., Turchini G.M., Xu J., Fang Z., Chen N., Xie R., Zhang H. and Li S. 2022.** Functional properties of protein hydrolysates on growth, digestive enzyme activities, protein metabolism, and intestinal health of larval largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Frontiers in Immunology*, 13: 1–18 (913024). doi: 10.3389/fimmu.2022.913024
- Siddik M.A., Howieson J. and Fotedar R. 2019.** Beneficial effects of tuna hydrolysate in poultry by-product meal diets on growth, immune response, intestinal health and disease resistance to *Vibrio harveyi* in juvenile barramundi, *Lates calcarifer*. *Fish and Shellfish Immunology*, 89: 61–70. doi: 10.1016/j.fsi.2019.03.042
- Siddik M.A., Howieson J., Fotedar R. and Partridge G.J. 2021.** Enzymatic fish protein hydrolysates in finfish aquaculture: A review. *Reviews in Aquaculture*, 13(1): 406–430. doi: 10.1111/raq.12481
- Siddik M.A., Howieson J., Partridge G.J., Fotedar R. and Gholipourkanani H. 2018.** Dietary tuna hydrolysate modulates growth performance, immune response, intestinal morphology and resistance to *Streptococcus iniae* in juvenile barramundi, *Lates calcarifer*. *Scientific Reports*, 8(1): 1–13 (15942). doi: 10.1038/s41598-018-34182-4
- Silva F.C.P., Nicoli J.R., Zambonino-Infante J. L., Le Gall M.M., Kaushik S. and Gatesoupe F.J. 2010.** Influence of partial substitution of dietary fish meal on the activity of digestive enzymes in the intestinal brush border membrane of gilthead sea bream, *Sparus aurata* and goldfish, *Carassius auratus*. *Aquaculture*, 306(1): 233–237. doi: 10.1016/j.aquaculture.2010.05.018
- Slizyte R., Rommi K., Mozuraityte R., Eck P., Five K. and Rustad T. 2016.** Bioactivities of fish protein hydrolysates from defatted salmon backbones. *Biotechnology Reports*, 11: 99–109. doi: 10.1016/j.btre.2016.08.003
- Soleimani M.R., Hosseini S.F. and Nikkhah M. 2016.** Evaluation of antioxidant activity of protein hydrolysate from common kilka (*Clupeonella cultriventris caspia*).

- Fisheries Science and Technology, 5(3): 95–108.
- Song Z., Li H., Wang J., Li P., Sun Y. and Zhang L. 2014.** Effects of fishmeal replacement with soy protein hydrolysates on growth performance, blood biochemistry, gastrointestinal digestion and muscle composition of juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*). *Aquaculture*, 426: 96–104. doi: 10.1016/j.aquaculture.2014.01.002
- Srichanun M., Tantikitti C., Kortner T.M., Krogdahl A. and Chotikachinda R. 2014.** Effects of different protein hydrolysate products and levels on growth, survival rate and digestive capacity in Asian seabass (*Lates calcarifer* Bloch) larvae. *Aquaculture*, 428: 195–202. doi: 10.1016/J.AQUACULTURE.2014.03.004
- Swanepoel J.C. and Goosen N.J. 2018.** Evaluation of fish protein hydrolysates in juvenile African catfish (*Clarias gariepinus*) diets. *Aquaculture*, 496: 262–269. doi: 10.1016/j.aquaculture.2018.06.084
- Tonheim S. K., Nordgreen A., Hogoy I., Hamre K. and Ronnestad I. 2007.** In vitro digestibility of water-soluble and water-insoluble protein fractions of some common fish larval feeds and feed ingredients. *Aquaculture*, 262(2): 426–435. doi: 10.1016/j.aquaculture.2006.10.030
- Torrissen K., Lied E. and Espe M. 1994.** Differences in digestion and absorption of dietary protein in Atlantic salmon (*Salmo salar*) with genetically different trypsin isozymes. *Journal of Fish Biology*, 45: 1087–1104. doi: 10.1111/j.1095-8649.1994.tb01075.x
- Wei Y., Liang M. and Xu H. 2019.** Fish protein hydrolysate affected amino acid absorption and related gene expressions of IGF-1/AKT pathways in turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture Nutrition*, 26(1): 145–155. doi: 10.1111/anu.12976
- Wu Y.B., Ren X., Chai X.J., Li P. and Wang Y. 2018.** Replacing fish meal with a blend of poultry by-product meal and feather meal in diets for giant croaker (*Nibea japonica*). *Aquaculture Nutrition*, 24(3): 1085–1091. doi: 10.1111/anu.12647
- Wuertz S., Lutz I., Gessner J., Loeschau P., Hogans B., Kirschbaum F. and Kloas W. 2006.** The influence of rearing density as environmental stressor on cortisol response of shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*). *Journal of Applied Ichthyology*, 22: 269–273. doi: 10.1111/J.1439-0426.2007.00966. X
- Xu H., Mu Y., Zhang Y., Li J., Liang M., Zheng K. and Wei Y. 2016.** Graded levels of fish protein hydrolysate in high plant diets for turbot (*Scophthalmus maximus*):

effects on growth performance and lipid accumulation. *Aquaculture*, 454: 140–147. doi: 10.1016/J.AQUACULTURE.2015.12.006

Yang X., He Y., Chi S., Tan B., Lin S., Dong X., Yang Q., Liu H. and Zhang S. 2020. Supplementation with *Saccharomyces cerevisiae* hydrolysate in a complex plant protein, low-fishmeal diet improves intestinal morphology, immune function and *Vibrio harveyi* disease resistance in *Epinephelus coioides*. *Aquaculture*, 529: 1–10 (735655). doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.735655

Yeganeh S. and Adel M. 2021. Effects of dietary rainbow trout visceral protein hydrolysate on hematological, immunological and biochemical serum parameters and antioxidant enzymes of juvenile Siberian sturgeon, *Acipenser baerii*. *Aquatic Animals Nutrition*, 7(4): 43–60. doi: 22124/janb.2022.23264.1176

Yu Y. 2023. Replacement of fish meal with poultry by-product meal and hydrolyzed feather meal in feeds for finfish. P: 51–93. In: Lim C., Lee C.S. and Webster C.D. (Eds.). *Alternative Protein Sources in Aquaculture Diets*. CRC Press, USA. doi: 10.1201/9781003421214

Zeytin S., Schulz C. and Ueberschar B. 2016. Diurnal patterns of tryptic enzyme activity under different feeding regimes in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture*, 457: 58–90. doi: 10.1016/j.aquaculture.2016.02.017

Zheng K., Xu T., Qian C., Liang M. and Wang X. 2014. Effect of low molecular weight fish protein hydrolysate on growth performance and IGF-I expression in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) fed high plant protein diets. *Aquaculture Nutrition*, 20(4): 372–380. doi: 10.1111/ANU.12090



Research Paper

Effects of different dietary levels of protein hydrolysate in diet on antioxidant and digestive enzyme activities of cultured beluga (*Huso huso*) juveniles

Ali Hosseinpour Zelaty^{1*}, Tooraj Sohrabi Langroudi¹, Mir Hamed Sayed Hasani²,
Maryam Monsef Shokri³

DOI: 10.22124/japb.2024.27300.1538

Received: May 2024

Accepted: November 2024

Abstract

In this study, the effect of replacing fish meal with hydrolyzed fish protein was investigated on the levels of selected oxidative stress indicators and the activity of digestive enzymes in juvenile beluga (*Huso huso*). For this purpose, 750 juvenile belugas with an initial weight of 3 ± 0.5 g were reared in five experimental groups with three replicates, for 48 days. The groups included a control group (without hydrolyzed protein), three treatments with different replacement levels of fish meal with hydrolyzed fish protein (treatments 1, 2 and 3 containing 2.75, 5.5 and 8.25%, respectively), and treatment 4 (positive control) with commercial diet. The results for oxidative stress indicators showed no significant differences in the activities of catalase and superoxide dismutase and in the malondialdehyde levels among the experimental groups ($P > 0.05$). For digestive enzymes trypsin, pepsin, amylase and lipase, no significant statistical differences were observed in any of the four stages (5, 10, 20 and 35 days after stocking) of enzyme activity assessment or in any of the types of studied enzymes ($P > 0.05$). Overall, the results of this study showed that replacing fishmeal with hydrolyzed fish protein up to 8.25% in the diet of beluga juveniles has no significant effect on the activities of the antioxidant and digestive systems of these fish.

Key words: Protein Hydrolysate, Beluga Juvenile, Digestive Enzyme, Antioxidant Enzyme.

1- Assistant Professor in Department of Aquaculture, International Sturgeon Research Institute, Iranian Fisheries Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran.

2- Ph.D., Department of Aquaculture, International Sturgeon Research Institute, Iranian Fisheries Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran.

3- Assistant Professor in Department of Physiology and Biochemistry, International Sturgeon Research Institute, Iranian Fisheries Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran.

*Corresponding Author: ahpour.z@gmail.com