

Effect of dietary *Lactobacillus fermentum* and lactulose on fatty acid profile and heavy metal residues in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Madreseh, S.¹, Ghaisari, H.R.², Hosseinzadeh, S.^{3*}

1. Ph.D. Student of Food Hygiene and Public Health, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

2. Associate Professor of Department of Food Hygiene and Public Health, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

3. Professor of Department of Food Hygiene and Public Health, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

*Corresponding author: hosseinzadeh@shirazu.ac.ir

(Received: 2018/9/24 Accepted: 2019/7/22)

Abstract

Recently, demands upon the consumption of various seafood are increasing in a human diet. Heavy metals naturally occur in the environment and contamination of foodstuffs are causing great concerns. This study was aimed to investigate the effects of encapsulated and lyophilized *Lactobacillus fermentum* as probiotic and lactulose on heavy metal residues and fatty acid profile in rainbow trout. Thus, fishes were randomly allocated into three replicates of six different treatments. The experimental groups received basal diet (control group), basal diet plus lactulose, basal diet plus lyophilized *L. fermentum* and lactulose, basal diet plus encapsulated *L. fermentum* and lactulose, basal diet plus lyophilized *L. fermentum*, basal diet plus encapsulated *L. fermentum*. All the groups were fed three times daily for a period of 56 days. At the end of experiments, samples of the fillet and liver were taken. Our results showed that encapsulated *L. fermentum* and lactulose as synbiotic, significantly increased n-6 fatty acid in muscles and reduced moisture ($p < 0.05$). This supplementary diet significantly reduced Pb and Cd residues in muscles and Pb, Zn and Cd residues in liver ($p < 0.05$). Results showed that using encapsulated *L. fermentum* and lactulose in the diet improve the overall quality of fish.

Conflict of interest: None declared.

Keyword: Probiotic, Synbiotic, Rainbow trout, Fatty acid profile, Heavy metal

DOI: 10.30495/JFH.2020.671509

«مقاله پژوهشی»

اثر افزودن لاکتوباسیلوس فرمنتوم و لاکتالوز در جیره غذایی بر پروفایل چربی و باقی مانده فلزات سنگین در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

شیدا مدرسه^۱، حمیدرضا قیصری^۲، سعید حسین‌زاده^{۳*}

۱. دانشجوی دکتری تخصصی بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، شیراز، ایران

۲. دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، شیراز، ایران

۳. استاد گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، شیراز، ایران

*نویسنده مسئول مکاتبات: hosseinzadeh@shirazu.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۷/۷/۲ پذیرش نهایی: ۹۸/۴/۳۱)

چکیده

اخیراً تمایل به استفاده از غذاهای دریایی در رژیم غذایی رو به افزایش است. آلودگی محیط با فلزات سنگین و ورود آن‌ها به غذا نیز سلامت انسان را به خطر می‌اندازد. هدف از این مطالعه بررسی اثر باکتری لاکتوباسیلوس فرمنتوم ریز پوشانی شده و لیوفیلیزه شده به‌عنوان پروبیوتیک و لاکتالوز بر جذب فلزات سنگین و پروفایل اسیدهای چرب ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد. به این منظور ماهی‌های خریداری شده به‌صورت تصادفی به ۶ گروه ۳۰ تایی تقسیم شدند. گروه‌ها به ترتیب دریافت‌کننده جیره پایه (کنترل)، جیره پایه همراه لاکتالوز، جیره پایه همراه لاکتوباسیلوس فرمنتوم لیوفیلیزه و لاکتالوز، جیره پایه همراه لاکتوباسیلوس فرمنتوم ریز پوشانی شده و لاکتالوز، جیره پایه همراه لاکتوباسیلوس فرمنتوم لیوفیلیزه شده، جیره پایه همراه لاکتوباسیلوس فرمنتوم ریز پوشانی شده بودند. ماهی‌ها ۳ بار در روز به‌مدت ۵۶ روز غذادهی شدند و در انتهای دوره پرورش نمونه‌های عضله و کبد هر گروه جمع‌آوری گردید. نتایج این تحقیق نشان داد که ترکیب لاکتوباسیلوس فرمنتوم ریز پوشانی شده و لاکتالوز به‌صورت سین‌بیوتیک، اسیدهای چرب امگا ۶ در عضله را با اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش داد. در ترکیبات فیله هم در این گروه، رطوبت نسبت به گروه کنترل کاهش یافت ($p < 0.05$). این مکمل همچنین به‌طور معنی‌داری باعث کاهش باقیمانده سرب و کادمیوم در عضله و سرب، کادمیوم و روی در کبد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان شد ($p < 0.05$). یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از لاکتوباسیلوس فرمنتوم ریز پوشانی شده همراه لاکتالوز در جیره باعث بهبود کیفیت ماهی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: پروبیوتیک، سین‌بیوتیک، ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، پروفایل اسیدهای چرب، فلزات سنگین

مقدمه

غذاهای دریایی منبع پروتئینی باارزشی برای انسانها می‌باشند. ماهی و سایر گونه‌های دریایی حاوی مقادری از ترکیبات مهم مثل ویتامین‌های محلول در چربی، املاح معدنی، اسیدهای چرب غیراشباع و ضروری می‌باشند. (Guo et al., 2015, Hoseinifar et al., 2015). اسیدهای چرب امگا ۳ در ماهی باعث بهبود رشد و کیفیت فیله می‌شوند (Yildiz et al., 2015). مصرف اسیدهای چرب امگا ۳، دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) و ایکوزا پنتانوئیک اسید (EPA)، توسط انسان، باعث بهبود سیستم قلبی عروقی می‌شود و از ایجاد لخته در عروق خونی جلوگیری می‌کند (Noël et al., 2013). به همین دلیل ماهی به‌عنوان منبع اسیدهای چرب غیراشباع و اسیدهای چرب امگا ۳ و ۶، یک غذای متعادل در رژیم غذایی انسان در نظر گرفته شده و استفاده از آن امروزه در حال گسترش است (Hoseinifar et al., 2015). به‌طور کلی ترکیب شیمیایی عضله ماهی به عواملی مثل گونه، سن، تغذیه، محیط، ژنتیک، چرخه تولید مثل و محل قرارگیری عضله بستگی دارد (Noel et al., 2013, Yildiz et al., 2015). از طرفی با توسعه روزافزون کشاورزی و صنعت، آلودگی آب‌ها و متعاقباً غذای انسان از جمله آبیان با فلزات سنگین امری اجتناب‌ناپذیر است. در مطالعه‌ای آلودگی به فلزات سنگین در ماهی‌های قزل‌آلای مصرفی در ایران گزارش شده است (Fallah et al., 2011). در کشورهای دیگر نیز آلودگی ماهی با این فلزات مورد مطالعه قرار گرفته است (Varol et al., 2017). مصرف بیش از حد مجاز فلزات سنگین باعث آسیب به سیستم قلبی عروقی، عصبی، تولید مثل، کبد و کلیه، اختلالات

خونی و سرطان می‌شوند (Fallah et al., 2011, Leung et al., 2014, Yi et al., 2011). این فلزات با اتصال به پروتئین سلول‌ها، مانع عملکرد آن‌ها و در نهایت باعث مرگ سلولی می‌شوند (Razavi et al., 2012).

پروبیوتیک‌ها را می‌توان در گروه باکتری‌های غیربیماری‌زا و یا به‌عبارتی بهتر، مفید برای سلامتی در نظر گرفت. به‌نظر می‌رسد مصرف این گونه باکتری‌ها اگر زنده به قسمت انتهایی دستگاه گوارش برسند، باعث اثرات مفیدی از جمله بهبود سیستم ایمنی، سنتز ویتامین‌ها، تولید مواد ضد میکروبی، بهبود فلور روده، کاهش کلسترول خون، خنثی‌سازی انتروتوکسین‌ها، کاهش جذب فلزات سنگین، خواص ضد جهش‌زایی و ضدسرطانی و همچنین جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها برای مقابله با پاتوژن‌ها در انسان و حیوان می‌شوند. پروبیوتیک‌ها همچنین در حیوانات برای بهبود رشد و ضریب تبدیل غذایی مورداستفاده قرار گرفته‌اند (Giannenas et al., 2015, Jafarpour et al., 2017, Majlesi et al., 2017). استفاده از پروبیوتیک‌ها در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (Firouzbaksh et al., 2014, Giannenas et al., 2015, Park et al., 2017), ماهی کپور (Yar-Ahmadi et al., 2014), ماهی تیلاپیا (Zhai et al., 2017) و ماهی کفشک (Delabanda et al., 2010, Tapia-Panigua et al., 2010) گزارش شده است.

لاکتوباسیلوس فرمنتوم (*Lactobacillus fermentum*) با تولید ترکیبات مهارکننده مثل پراکسید هیدروژن، باکتریوسین و بیوسورفاکتانت خواص پروبیوتیکی نشان داده است و باعث کاهش باکتری‌های بیماری‌زا و افزایش باکتری‌های مفید در دستگاه گوارش

مواد و روش‌ها

- آماده‌سازی پروبیوتیک

باکتری لاکتوباسیلوس فرمنتوم ۱۷۴۴ (L. fermentum 1744) (ATCC 1493) از سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران تهیه شد. باکتری در محیط (MRS) De Man Rogosa Sharpe برات (Merck, Darmstadt, Germany) کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس، در شرایط هوازی، انکوبه شد. سپس جهت دسترسی به کولونی خالص، در محیط MRS آگار (Merck, Darmstadt, Germany) کشت داده شد. مجدداً کولونی خالص به دست آمده، به محیط MRS برات منتقل شد و پس از یک شب انکوباسیون در ۳۷ درجه سلسیوس، با استفاده از منحنی رشد غلظت باکتری محاسبه شد.

- لیوفیلیزه کردن پروبیوتیک

باکتری مورد نیاز برای استفاده به صورت تازه در محیط MRS برات کشت داده شده و پس از سانتریفیوژ (Sorval, United States) $3200 \times g$ (۴ درجه سلسیوس، ۱۰ دقیقه) و ۲ مرتبه شست‌وشو با سرم فیزیولوژیک استریل، رسوبات باکتری جدا شد (Abbaszadeh et al., 2014). باکتری‌های جدا شده در شیر خشک ۱۰ درصد (وزنی - حجمی) اضافه و به مدت یک شب در فریزر ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری شدند. سپس به وسیله خشک‌کن انجمادی (ALPHA 2-4 LO plus, Germany) لیوفیلیز شدند (Kos et al., 2008).

- ریزپوشانی کردن پروبیوتیک

برای ریزپوشانی پروبیوتیک از سدیم آلزینات و کلرید کلسیم استفاده شد. در ابتدا محلول سدیم آلزینات

انسان شده است (Tulumoglu et al., 2014). همچنین در برابر برخی از باکتری‌های پاتوژن در ماهی استفاده شده است (Michael et al., 2014).

خواص پروبیوتیک‌ها در کنار پری‌بیوتیک‌ها که متشکل از قطعات کوچک کربوهیدرات‌ها و اجزاء غیرقابل هضم غذا هستند، بهبود می‌یابد (Yar-Ahmadi et al., 2014, Majlesi et al., 2017). نیز این اثر را تأیید می‌کنند (Yar-Ahmadi et al., 2014, Abhari et al., 2015). لاکتالوز یکی از پری‌بیوتیک‌های مورد تأیید سازمان جهانی خواربار و کشاورزی ملل متحد (FAO) است و اثرات مفید آن در سلامتی گزارش شده است (Calik and Erggun, 2015). یکی از راه‌های افزایش مقاومت پروبیوتیک‌ها، ریزپوشانی است. در این روش لایه‌ای از هیدروکلوئید اطراف سلول‌های زنده را فرا خواهد گرفت. یک دانک شامل غشای نیمه‌تراوا، نازک و محکم پیرامون پروبیوتیک است که آن را در برابر شرایط نامساعد محیط اطراف محافظت می‌کند و میزان بقا آن افزایش می‌یابد (Gbassi and Vandamme, 2012, Seth et al., 2017).

با توجه به افزایش مصرف آبزیان در رژیم غذایی انسان و احتمال آلودگی آن‌ها با فلزات سنگین، در این مطالعه اثر لاکتوباسیلوس فرمنتوم به صورت لیوفیلیزه و ریزپوشانی شده، لاکتالوز و لاکتوباسیلوس فرمنتوم و لاکتالوز به عنوان سین‌بیوتیک در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بر پروفایل چربی، ترکیبات عضله و باقیمانده فلزات سنگین در بافت بررسی گردید.

در نهایت دانک‌های تهیه شده، بعد از فریز شدن به دستگاه خشک‌کن انجمادی (ALPHA 2-4 LO plus, Germany) منتقل شدند. بعد از لیوفیلیزه شدن زنده‌مانی باکتری‌ها بررسی شد.

- طراحی آزمایش

آزمایش در مزرعه واقع در منطقه صنعتی ملوسجان در شیراز انجام شد. ماهی‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان خریداری شده ($9/4 \pm 114/2$ گرم)، به صورت تصادفی به ۶ گروه ۳۰ تایی تقسیم شدند و آزمایشات به صورت ۳ تکرار انجام گردید. همه گروه‌ها در شرایط یکسان پرورشی قرار گرفتند (دما ۱۶-۱۲ درجه سلسیوس، خروجی اکسیژن ۶ mg/l، $pH=7/2-7/5$).

گروه کنترل در طول دوره پرورش جیره پایه را دریافت کرد. تیمارها علاوه بر جیره پایه، لاکتالوز و پروبیوتیک را نیز دریافت نمودند. ماهی‌ها ۳ بار در روز به مدت ۵۶ روز غذادهی شدند. آنالیز جیره پایه دریافتی در جدول (۱) و جزئیات جیره دریافتی تیمارها در جدول (۲) گزارش شده است.

۲ درصد (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) تهیه گردید و در ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه استریل شد. پلت باکتری به سدیم آلزینات ۲ درصد استریل شده، اضافه و مخلوط شد. سپس به وسیله سرنگ انسولینی به قطر ۰/۱۱ میلی‌متر به صورت قطره قطره به محلول کلرید کلسیم ۰/۱ mol/L اضافه شد. در این مرحله در اثر تماس آلزینات با یون‌های کلسیم، دیواره کپسول شکل گرفته و قطرات به صورت دانک‌هایی در ته ظرف ته‌نشین شد. سپس دانک‌ها با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. در نهایت با استفاده از سدیم سیترات ۰/۱ mol/L، باکتری‌های داخل دانک‌ها آزاد شد و درصد ریزپوشانی به منظور محاسبه مقدار باکتری ریزپوشانی موردنیاز برای خوراک، به روش زیر محاسبه شد (Abbaszadeh et al., 2014):

$$EY(\%) = N/N_0 \times 100$$

N: تعداد باکتری‌های زنده به دام افتاده در دانک‌ها

N₀: تعداد باکتری‌های زنده قبل از ریز پوشانی

جدول (۱)- ترکیبات جیره دریافتی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

ترکیبات جیره	
۴۳	پروتئین خام (%)
۱۶	چربی خام (%)
۴۴۰۰	انرژی (کیلوکالری در هر کیلوگرم)
۲/۵	فیبر خام (%)
۰/۷	فسفر کل (%)
۱۰	رطوبت (%)

جدول (۲) - جیره دریافتی در گروه‌های مورد آزمایش

گروه‌ها	جیره دریافتی
گروه ۱	جیره پایه (گروه کنترل)
گروه ۲	جیره پایه همراه با لاکتالوز (۱۰ گرم در هر کیلوگرم جیره)
گروه ۳	جیره پایه همراه لاکتوباسیلوس فرمنتوم لیوفیلیز شده (CFU 10^7 در هر گرم جیره) و لاکتالوز (۱۰ گرم در هر کیلوگرم جیره) (سین‌بیوتیک ۱)
گروه ۴	جیره پایه همراه لاکتوباسیلوس فرمنتوم ریز پوشانی شده (CFU 10^7 در هر گرم جیره) و لاکتالوز (۱۰ گرم در هر کیلوگرم جیره) (سین‌بیوتیک ۲)
گروه ۵	جیره پایه همراه لاکتوباسیلوس فرمنتوم لیوفیلیزه (CFU 10^7 در هر گرم جیره)
گروه ۶	جیره پایه همراه لاکتوباسیلوس فرمنتوم ریز پوشانی شده (CFU 10^7 در هر گرم جیره)

- نمونه‌گیری

یک ساعت قرار گرفت. بعد از آنکه مخلوط به دمای محیط رسید، ۵ میلی‌لیتر آب مقطر غیر یونیزه اضافه و تکان داده شد. سپس به مدت ۵ دقیقه در دور $2800 \times g$ سانتریفیوژ و فاز روغنی جهت تزریق به دستگاه جدا شد. پس از تزریق به دستگاه Gas Chromatography (BEIFEN, Germany) میزان اسیدهای چرب محاسبه شد.

- اندازه‌گیری فلزات سنگین

جهت اندازه‌گیری فلزات سنگین، در ابتدا نمونه‌ها هضم شدند. به این منظور ۱ گرم نمونه در لوله پلی‌اتیلنی به حجم ۵۰ میلی‌لیتر قرار داده شد. سپس توسط ۲ میلی‌لیتر از مخلوط اسید نیتریک ۷۰ درصد و اسید پرکلریک ۳۰ درصد در بن‌ماری ۸۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۶ ساعت هضم و از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ عبور داده شد. محلول نهایی با آب مقطر دو بار تقطیر به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده و سپس میزان جذب نمونه توسط دستگاه جذب اتمی (Shimadzu AA-670، ژاپن) و محلول استاندارد برای هر عنصر محاسبه شد (Khanipour et al., 2018).

قبل از شروع دوره پرورش، نمونه آب و خوراک جهت بررسی فلزات سنگین گرفته شد. بعد از اتمام دوره پرورش، از هر گروه ۵ نمونه به صورت تصادفی اخذ گردید. ابتدا ماهی‌ها کاملاً خون‌گیری شدند، سپس نمونه کبد و عضلات تا زمان انجام آزمایش در فریزر $^{\circ}C$ ۱۸- نگهداری شدند.

- تعیین ترکیبات ماهی

به منظور تعیین رطوبت از روش خشک‌کردن در آون و برای تعیین خاکستر از کوره الکتریکی با دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس استفاده شد. میزان چربی به روش سوکسله و میزان پروتئین به روش کلدال سنجیده شد (AOAC, 2000).

- تعیین پروفایل چربی

به این منظور از روش GC (Gas Chromatography) استفاده شد. ابتدا عضله به وسیله فریزدرایر (ALPHA 2- 4 LO plus, Germany) خشک شد. به ۰/۵ گرم از نمونه لیوفیلیز شده، ۱۰ میلی‌لیتر از مخلوط اتانول و اتیل کلراید اضافه شد و در آون ۸۰ درجه سلسیوس به مدت

یافته‌ها

تعداد باکتری اولیه $1/18 \times 10^9$ CFU/ml تخمین زده شد. درصد ریز پوشانی نیز $67/3 \pm 0/11$ درصد محاسبه شد. شمارش باکتری لاکتوباسیلوس فرمنتوم پس از ریز پوشانی و لیوفیلیز شدن در نمودار (۱) نشان داده شده است.

برای آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار Analysis (SPSS) System Statistical استفاده شد. مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون one way ANOVA و تست تعقیبی Duncan انجام گردید. سطح معنی‌داری برای مقایسه میانگین داده‌ها $p < 0/05$ در نظر گرفته شد.



نمودار (۱) - شمارش باکتری لاکتوباسیلوس فرمنتوم پس از ریز پوشانی و لیوفیلیز شدن

سین‌بیوتیک ۲ مشاهده شد ($p < 0/05$)، در صورتی که در مقدار سایر اسیدهای چرب اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0/05$).

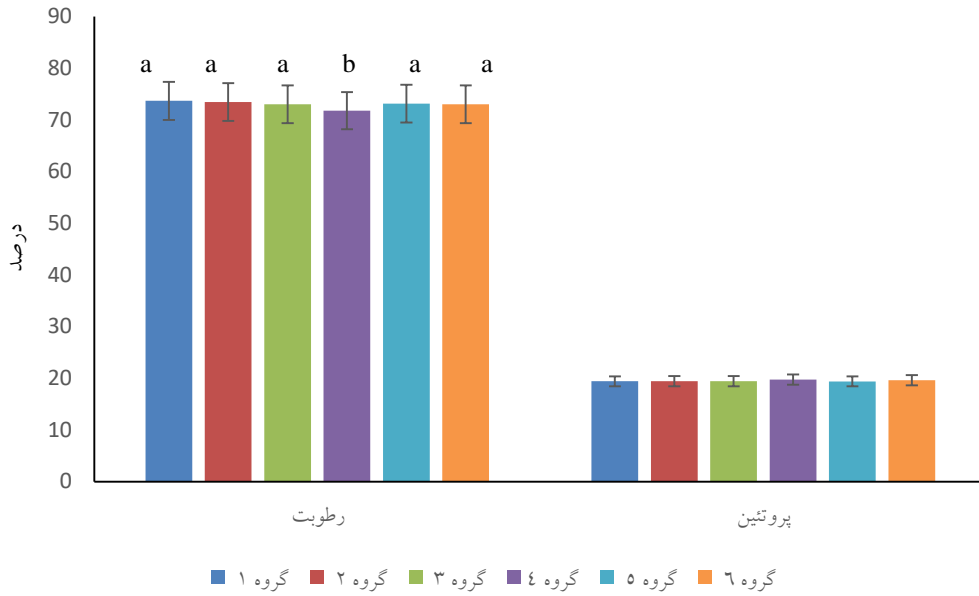
اثر جیره حاوی لاکتوباسیلوس فرمنتوم و لاکتالوز بر روی پروفایل اسیدهای چرب ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در جدول (۳) نشان داده شده است. بیشترین میزان اسیدهای چرب امگا ۶ ($n=6$) در گروه دریافت‌کننده

جدول (۳) - پروفایل اسید چرب (% اسیدهای چرب) عضله ماهی‌های قزل‌آلای دریافت‌کننده جیره‌های مختلف

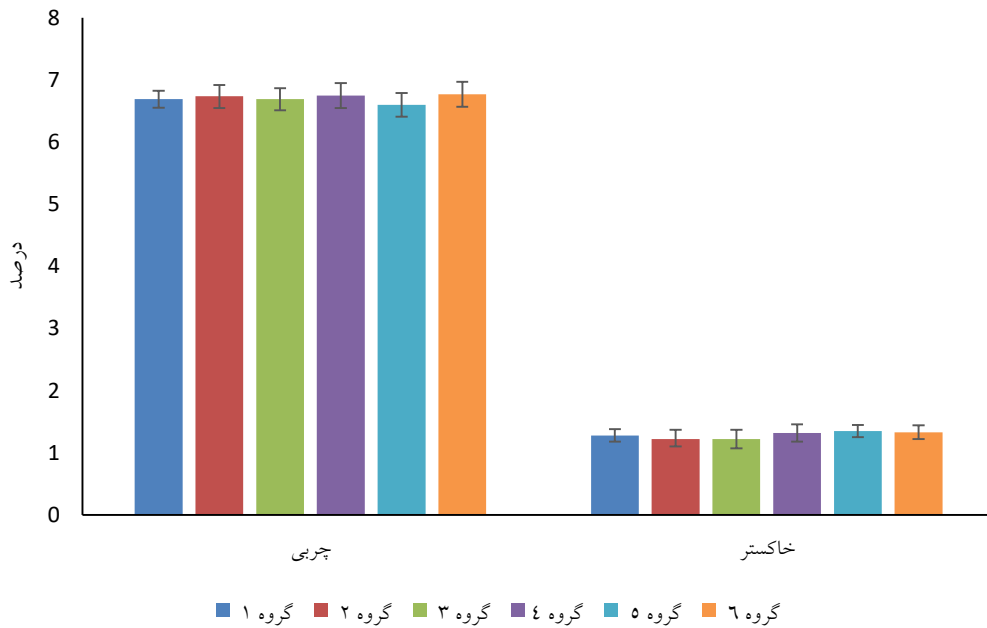
تیمارها						اسید چرب
گروه ۱	گروه ۲	گروه ۳	گروه ۴	گروه ۵	گروه ۶	
۲/۵۱±۰/۰۸۴	۲/۵۶±۰/۰۷	۲/۵۱±۰/۰۷	۲/۵۳±۰/۰۷	۲/۵۲±۰/۰۱۴	۲/۵۲±۰/۰۱۴	C۱۴:۰
۹/۸۳±۰/۰۸۳	۱۰/۰۴±۰/۰۹۶	۹/۸۸±۰/۰۷	۹/۸۳±۰/۰۷۲	۹/۹۰±۰/۰۷۴	۹/۸۸±۰/۰۷۱	C۱۶:۰
۰/۸۶±۰/۰۰۴	۰/۸۶±۰/۰۱۳	۰/۸۵±۰/۰۰۱	۰/۸۷±۰/۰۰۸	۰/۸۶±۰/۰۰۴	۰/۸۶±۰/۰۰۱	C۱۷:۰
۵/۶۴±۰/۰۶۵	۵/۳۵±۰/۰۴۴	۵/۷۹±۰/۰۸۹	۵/۳۹±۰/۰۸	۵/۹۲±۰/۰۶۸	۵/۲۳±۰/۰۲۵	C۱۸:۰
۱/۲±۰/۰۰۳۲	۱/۲۳±۰/۰۰۷	۱/۲۳±۰/۰۰۱	۱/۲۸±۰/۰۰۹۷	۱/۱۹±۰/۰۱	۱/۲۳±۰/۰۰۱	C۲۰:۰
۱/۰۵±۰/۰۰۴۳	۱/۱۱±۰/۰۱۱	۱/۱۴±۰/۰۱۳	۱/۱۱±۰/۰۱۲	۱/۰۲±۰/۰۰۳۵	۱/۱±۰/۰۱۱	C۲۱:۰
۱/۶۸±۰/۰۱۵	۱/۶۶±۰/۰۱۴	۱/۶۴±۰/۰۱۸	۱/۶۷±۰/۰۲۶	۱/۷۴±۰/۰۱۴	۱/۶۴±۰/۰۱۳	C۲۲:۰
۲۲/۲۸±۰/۰۸۱	۲۲/۸۳±۰/۰۰۲	۲۲/۱۷±۰/۰۱	۲۲/۷۱±۰/۰۴۹	۲۳/۱۶±۰/۰۱۴	۲۲/۴۹±۰/۰۵۸	∑ SFAs
۳/۲±۰/۰۰۶۸	۳/۱۷±۰/۰۰۶	۳/۲۵±۰/۰۱۳	۳/۳۱±۰/۰۲۹	۳/۲۳±۰/۰۱۷	۳/۱۵±۰/۰۰۴۸	C۱۶:۱n۹
۳۰/۹۵±۰/۰۳۱	۳۰/۹۶±۰/۰۱	۳۱/۳±۰/۰۸۱	۳۰/۹۸±۰/۰۹۳	۳۰/۶۳±۰/۰۸۵	۳۱/۰±۰/۰۸۷	C۱۸:۱n۹
۳۴/۱۵±۰/۰۰۶	۳۴/۱۳±۰/۰۰۹	۳۵/۱±۰/۰۶۷	۳۴/۶۴±۰/۰۶۴	۳۴/۰۳±۰/۰۸۶	۳۴/۱۵±۰/۰۰۹۲	∑ MUFAs
۱۶/۶۹±۰/۰۳۶ ^a	۱۶/۷±۰/۰۳۶ ^a	۱۶/۷۱±۰/۰۳۷ ^a	۱۷/۹۹±۰/۰۲۹ ^b	۱۶/۷۰±۰/۰۴۱ ^a	۱۶/۷۱±۰/۰۲۸ ^a	C۱۸:۲n۶
۰/۳۵±۰/۰۰۱۴	۰/۳۵±۰/۰۰۰۴	۰/۳۴±۰/۰۰۰۳	۰/۳۴±۰/۰۰۲۴	۰/۳۵±۰/۰۰۰۴	۰/۳۵±۰/۰۰۲۸	C۱۸:۳n۶
۱/۷۵±۰/۰۰۰۷	۱/۷۲±۰/۰۱۳	۱/۷۷±۰/۰۰۸	۱/۷۸±۰/۰۰۱	۱/۷۷±۰/۰۰۰۷	۱/۷۷±۰/۰۰۱۳	C۲۰:۴n۶
۱۸/۸۰±۰/۰۲۹ ^a	۱۸/۷۸±۰/۰۲۳ ^a	۱۸/۸۸±۰/۰۴۴ ^a	۲۰/۱۵±۰/۰۴۲ ^b	۱۸/۸۶±۰/۰۴۸ ^a	۱۸/۸۴±۰/۰۴۴ ^a	∑ n-۶
۲/۲۴±۰/۰۲۷	۲/۲۲±۰/۰۲۱	۲/۴۲±۰/۰۱۴	۲/۳۳±۰/۰۱۴	۲/۳۸±۰/۰۰۶	۲/۳۷±۰/۰۲۱	C۱۸:۳n۳
۵/۴۸±۰/۰۳۶	۵/۴۸±۰/۰۳۵	۵/۴۹±۰/۰۵۳	۵/۶±۰/۰۵۳	۵/۴۷±۰/۰۰۴	۵/۴۷±۰/۰۳۶	C۲۰:۵n۳
۵/۸۲±۰/۰۰۷۲	۵/۸۱±۰/۰۰۷	۵/۸۱±۰/۰۰۷۲	۶/۰۱±۰/۰۲۹	۵/۸۱±۰/۰۰۷۱	۵/۸۲±۰/۰۰۶۸	C۲۲:۶n۳
۱۳/۵۵±۰/۰۶۲	۱۳/۶±۰/۰۸۶	۱۳/۷±۰/۰۱۴	۱۴/۰۶±۰/۰۶۸	۱۳/۶۷±۰/۰۳۸	۱۳/۶۶±۰/۰۵۳	∑ n-۳
۳۲/۳۵±۰/۰۰۹۲	۳۲/۳۰±۰/۰۶۲	۳۲/۶۱±۰/۰۹۵	۳۴/۲۲±۰/۰۲۶	۳۲/۵۴±۰/۰۸۷	۳۲/۵۱±۰/۰۹۸	∑ PUFAs
۰/۷۲±۰/۰۰۲۲	۰/۷۱±۰/۰۰۵	۰/۷۲±۰/۰۰۹	۰/۶۹±۰/۰۰۴	۰/۷۲±۰/۰۰۰۱	۰/۷۲±۰/۰۰۰۱	∑ n۳/∑ n۶

∑SFAs: مجموع اسیدهای چرب اشباع، ∑MUFAs: مجموع اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه، ∑PUFAs: مجموع اسیدهای چرب غیراشباع با بیش از یک پیوند دوگانه. مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است. a, b: حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد (p < ۰/۰۵).

در آنالیز ترکیبات عضلات ماهی گروه‌های مختلف در نمودار (۲) و (۳)، رطوبت در گروه ۴ به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد (p < ۰/۰۵). در صورتی‌که در سایر ترکیبات تفاوت معنی‌داری در بین گروه‌ها مشاهده نشد (p > ۰/۰۵).



نمودار (۲)- میزان رطوبت و پروتئین در عضله ماهی‌های قزل‌آلای دریافت‌کننده جیره‌های مختلف
 a, b: حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$).



نمودار (۳)- میزان چربی و خاکستر در عضله ماهی‌های قزل‌آلای دریافت‌کننده جیره‌های مختلف

میزان فلزات سنگین آب و جیره غذایی در جدول

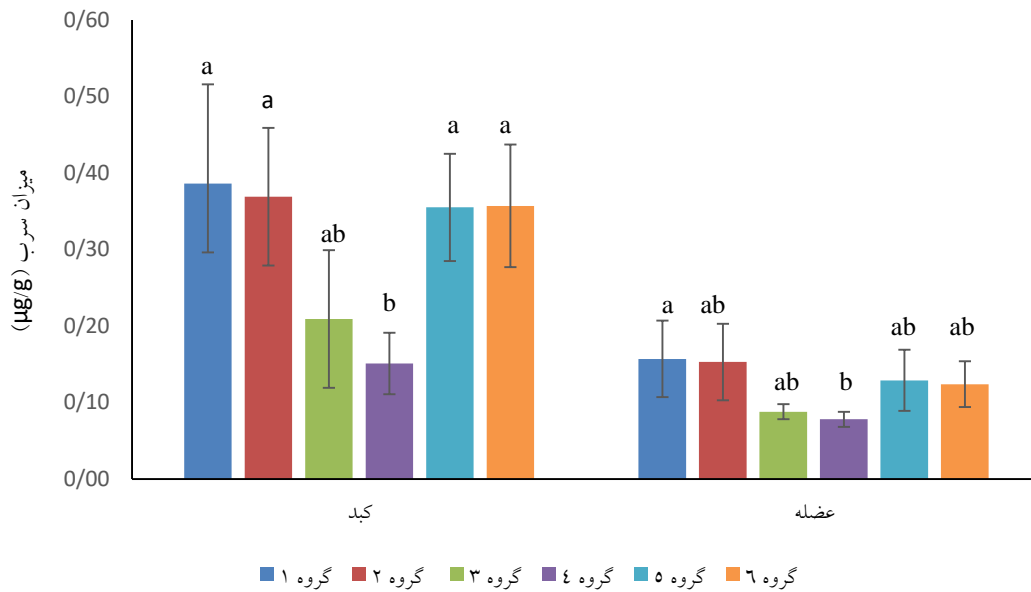
(۴) نشان داده شده است.

جدول (۴) - میزان فلزات سنگین (میانگین \pm انحراف معیار) در آب و جیره ($\mu\text{g/ml}$ or g)

فلزات سنگین	آب	جیره
سرب	$0/017 \pm 0/01$	$0/6 \pm 0/01$
روی	$0/55 \pm 0/03$	$37/02 \pm 0/38$
کادمیوم	$0/026 \pm 0/002$	$0/06 \pm 0/003$

میزان تجمع سرب در عضله سایر گروه‌ها ($p < 0/05$). نیز کاهش یافت، هرچند نسبت به گروه کنترل این کاهش معنی دار نبود.

میزان سرب در کبد و عضله سایر گروه‌ها در نمودار (۴) نشان داده شده است. میزان این فلز سنگین در کبد و عضله گروه دریافت‌کننده جیره حاوی سین بیوتیک ۲ نسبت به گروه کنترل به صورت معنی داری کاهش یافت

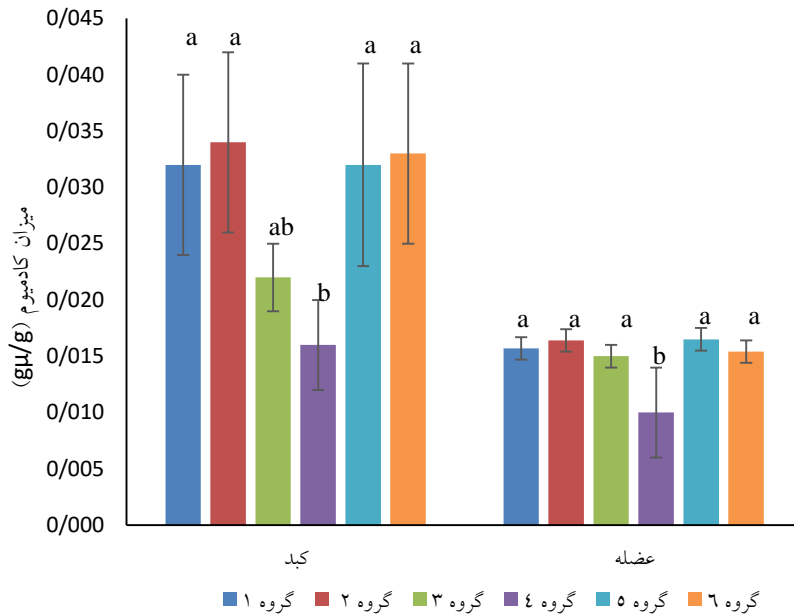


نمودار (۴) - میزان سرب در کبد و عضله ماهی‌های قزل‌آلای دریافت‌کننده جیره‌های مختلف

a, b: حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی دار می‌باشد ($p < 0/05$).

به صورت معنی دار نسبت به سایر گروه‌ها کاهش یافت ($p < 0/05$).

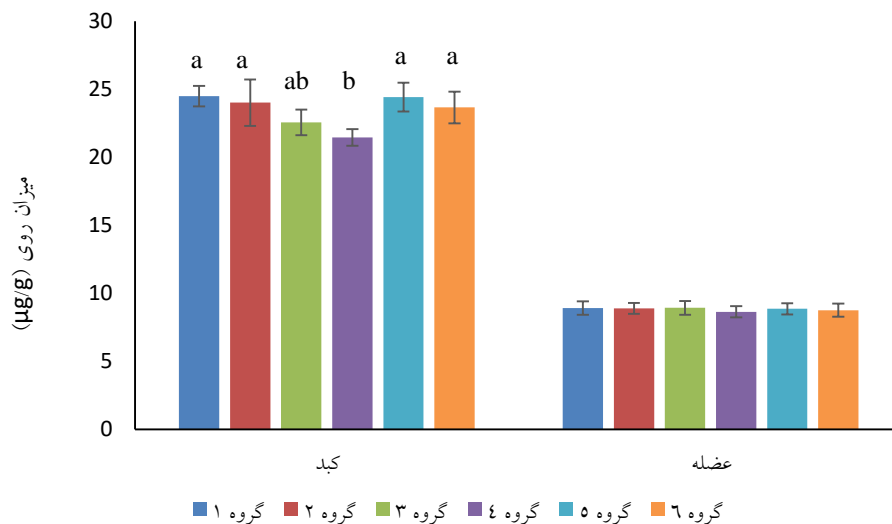
بر اساس یافته‌های نمودار (۵)، میزان کادمیوم در کبد و عضله گروه دریافت‌کننده جیره حاوی سین بیوتیک ۲



نمودار (۵)- میزان کادمیوم در کبد و عضله ماهی‌های قزل‌آلای دریافت‌کننده جیره‌های مختلف نمودار: a, b: حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$).

نشان داد ($p < 0.05$). در کبد گروه دریافت‌کننده سین‌بیوتیک ۱ نیز میزان روی کاهش یافت، هرچند نسبت به گروه کنترل به صورت معنی‌دار نبود.

میزان روی در کبد و عضله سایر گروه‌ها در نمودار (۶) نشان داده شده است. گروه دریافت‌کننده جیره حاوی سین‌بیوتیک ۲ تجمع کمتری از روی را در کبد



نمودار (۶)- میزان روی در کبد و عضله ماهی‌های قزل‌آلای دریافت‌کننده جیره‌های مختلف نمودار: a, b: حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

تغییر در ترکیبات عضله ماهی در اثر مصرف مکمل پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و سین‌بیوتیک به دنبال تغییر در فلور میکروبی روده، افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی (آمیلاز، لیپاز و پروتئاز) و هضم بیشتر غذا رخ می‌دهد، در نتیجه مواد غذایی قابل جذب در دسترس افزایش می‌یابد و میزان ماده خشک، چربی، خاکستر و پروتئین تغییر می‌کند (Delabanda et al., 2010, Yar-Ahmadi et al., 2014). در این مطالعه نیز استفاده از لاکتوباسیوس فرمتوم ریزپوشانی و لاکتالوز باعث افزایش پروتئین، چربی و خاکستر و کاهش رطوبت در عضله ماهی شد، هرچند افزایش پروتئین، چربی و خاکستر به صورت معنی‌دار نبود. استفاده از ۱۰۰ گرم کفیر در هر کیلوگرم جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان باعث بهبود پروفایل اسیدهای چرب به‌خصوص PUFA، کاهش میزان رطوبت و افزایش لیپید عضله شد، بدون اینکه اثری بر رشد، مصرف غذا و میزان زنده‌مانی داشته باشد (Gumus et al., 2017). استفاده از سین‌بیوتیک IMBO[®] در جیره ماهی کپور، باعث افزایش میزان پروتئین و کاهش چربی در عضله، بهبود رشد و برخی از پارامترهای بیوشیمیایی سرم شده است (Yar-Ahmadi et al., 2014).

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، دریافت جیره حاوی سین‌بیوتیک ۲ به صورت معنی‌داری باعث افزایش ۱۸:۲n۶ (لینولئیک اسید) و اسیدهای چرب امگا ۶ در عضله شده است ($p < 0/05$). هرچند مقدار اسیدهای چرب PUFA، SFA، MUFA و امگا ۳ در سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($p > 0/05$). اسید چرب لینولئیک در تولید DHA و EPA نقش دارد.

همچنین مصرف PUFA، اسیدهای چرب امگا ۳ و ۶ باعث بهبود سلامتی انسان می‌شوند (Gbadamosi and Lupatsch, 2018, Hoseinifar et al., 2015). نسبت اسیدهای چرب امگا ۳ به ۶ در رژیم غذایی مهم است. افزایش بیش از حد اسیدهای چرب امگا ۶ در عضله باعث کاهش کیفیت تغذیه و بروز مشکلات قلبی می‌شود (Delabanda et al., 2010). با توجه به اینکه نسبت اسیدهای چرب امگا ۳ به ۶ تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل و تیمارها نداشت، ارزش تغذیه‌ای ماهی نیز حفظ شده است. تحقیقات نشان داده است که پروفایل اسیدهای چرب در گونه‌های مختلف ماهی، متفاوت است (Akpınar et al., 2009) و در هرگونه معمولاً وابسته به پروفایل اسیدهای چرب جیره دریافتی است (Gümüş et al., 2017). در زمینه اثر پروبیوتیک‌ها بر پروفایل چربی ماهی تحقیقات کمی انجام شده است. در مطالعه‌ای استفاده از پروبیوتیک *Shewanella putrefaciens* و *Shewanella baltica* در جیره ماهی کفشک، باعث افزایش معنی‌دار میزان اسیدهای چرب امگا ۶، ۱۸:۲n۶، ۲۰:۴n۶، ۱۸:۳n۳ و کاهش ۲۲:۶n۶ (DHA) در کبد تیمارهای دریافت‌کننده پروبیوتیک در مقایسه با گروه کنترل شد. در صورتی‌که تغییر معنی‌داری در میزان اسیدهای چرب امگا ۳ مشاهده نشد (Tapia-Paniagua et al., 2014). همچنین در مطالعه دیگر، دو پروبیوتیک *Shewanella putrefaciens* و *Shewanella baltica* در جیره ماهی کفشک استفاده شدند و افزایش در میزان MUFA، امگا ۶، ۱۸:۲n۶، ۱۸:۳n۳، کاهش DHA و نسبت اسیدهای چرب امگا ۳ به ۶ در کبد گروه‌های دریافت‌کننده پروبیوتیک نسبت به گروه کنترل و افزایش اسیدهای

مطالعات زیادی توانایی جذب فلزات سنگین توسط آن‌ها را تأیید کرده است (Jafarpour et al., 2017). از طرفی ریزپوشانی پروبیوتیک‌ها با افزایش مقاومت آن‌ها نسبت به شرایط محیطی و روده باعث افزایش زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها می‌شود، در نتیجه تعداد بیشتری از باکتری‌ها به روده می‌رسند (Divya and Nampoothiri, 2015). اثر سین‌بیوتیک در جیره را می‌توان به بهبود اثر پروبیوتیک در کنار پری‌بیوتیک نسبت داد (Yar-Ahmadi et al., 2014). در تأیید نتایج به‌دست آمده، توانایی جذب سرب و کادمیوم توسط برخی از باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک (LAB) مثل لاکتوباسیلوس فرمنتوم گزارش شده است (Halttunen et al., 2007). اثر لاکتوباسیلوس پلنتاروم (*Lactobacillus plantarum*) در جیره بر بهبود رشد، کاهش استرس اکسیداتیو و تجمع سرب در عضله ماهی تیلاپیا نیز در مطالعات قبلی گزارش شده است (Zhai et al., 2017). استفاده از لاکتوباسیلوس روتری (*Lactobacillus reuteri*) در جیره ماهی کپور، علاوه بر کاهش تجمع سرب در بافت‌های ماهی، باعث بهبود رشد و سیستم ایمنی شده است (Giri et al., 2018). نتایج این تحقیق نشان داد استفاده از لاکتوباسیلوس فرمنتوم ریزپوشانی شده و لاکتالوز به‌عنوان سین‌بیوتیک در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان باعث کاهش تجمع روی، سرب و کادمیوم در کبد، سرب و کادمیوم در عضله و بهبود پروفایل چربی عضله می‌شود.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافی برای اعلام ندارند.

چرب امگا ۶ و پروتئین در عضله به‌صورت معنی‌دار گزارش شد (Delabanda et al., 2010).

ورود عناصر و فلزات سنگین به‌صورت عمد و یا غیر عمد در آب و جیره آبزیان و به دنبال آن تجمع این مواد در بافت‌های آن‌ها، سلامت انسان را به خطر می‌اندازد. میزان تجمع فلزات سنگین در ماهی علاوه بر میزان اولیه این فلزات در آب و جیره، به عواملی مثل فرایند دفع توسط بدن، قابلیت زیستی، چرخه رشد و سن ماهی نیز بستگی دارد (Varol et al., 2017). در طی بررسی عناصر کمیاب و فلزات سنگین، مشخص شد که تجمع آن‌ها در کبد بیشتر از عضله است. این امر به دلیل وجود متالوتیونن در کبد و تمایل بالای عناصر به واکنش با این پروتئین است (Fallah et al., 2011). روی یکی از عناصر ضروری برای سیستم بیولوژیک بدن است اما مصرف بیش از حد آن باعث بروز اختلالاتی در بدن می‌شود (Leung et al., 2014). سرب و کادمیوم حتی در مقادیر کم هم برای انسان بسیار خطرناک هستند (Fallah et al., 2011, Topal et al., 2017). نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از جیره حاوی لاکتوباسیلوس فرمنتوم ریزپوشانی شده و لاکتالوز (سین‌بیوتیک ۲) به‌صورت معنی‌داری میزان تجمع سرب و کادمیوم در عضله و سرب، روی و کادمیوم در کبد را کاهش داده است ($p < 0.05$). دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت دارای مقادیر زیادی تیکوئیک اسید و پپتیدوگلیکان می‌باشد. مکانیسم واکنش فلزات با دیواره سلولی باکتری‌ها شامل واکنش تبادل یونی با تیکوئیک اسید و پپتیدوگلیکان و ترکیب با نیتروژن و اکسیژن است. همچنین باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک (LAB) دارای گروه‌های عامل با بار منفی هستند و

منابع

- Abbaszadeh, S., Gandomi, H., Misaghi, A., Bokaei, S. and Noori, N. (2014). The effect of alginate and chitosan concentrations on some properties of chitosan-coated alginate beads and survivability of encapsulated *Lactobacillus rhamnosus* in simulated gastrointestinal conditions and during heat processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(11): 2210-2216.
- Abhari, K., Shekarforoush, S., Sajedianfard, J., Hosseinzadeh, S. and Nazifi, S. (2015). The effects of probiotic, prebiotic and synbiotic diets containing *Bacillus coagulans* and inulin on rat intestinal microbiota. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 16(3): 267-273.
- Akpinar, M. A., Görgün, S., and Akpinar, A. E. (2009). A comparative analysis of the fatty acid profiles in the liver and muscles of male and female *Salmo trutta macrostigma*. *Food Chemistry*, 112(1): 6-8.
- AOAC (2000). Official Method of the Analytical Chemists, AOAC International. 17th edition. pp: 21-447.
- Calik, A. and Ergün, A. (2015) Effect of lactulose supplementation on growth performance, intestinal histomorphology, cecal microbial population, and short-chain fatty acid composition of broiler chickens. *Poultry Science* 94 (9):2173-2182.
- Delabanda, I. G., Lobo, C., Leon-Rubio, J. M., Tapia-Paniagua, S., Balebona, M. C., Morinigo, M. A. *et al.*, (2010). Influence of two closely related probiotics on juvenile Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup 1858) performance and protection against *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*. *Aquaculture*, 306(4): 281-288.
- Divya, J. B. and Nampoothiri, K. M. (2015). Encapsulated *Lactococcus lactis* with enhanced gastrointestinal survival for the development of folate enriched functional foods. *Bioresource Technology*, 188: 226-230.
- Fallah, A. A., Saei-Dehkordi, S. S., Nematollahi, A. and Jafari, T. (2011). Comparative study of heavy metal and trace element accumulation in edible tissues of farmed and wild rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using ICP-OES technique. *Microchemical Journal*, 98(2): 275-279.
- Firouzbakhsh, F., Mehrabi, Z., Heydari, M., Khalesi, M. K. and Tajick, M. A. (2014). Protective effects of a synbiotic against experimental *Saprolegnia parasitica* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research*, 45(4): 609-618.
- Gbadamosi, O. K. and Lupatsch, I. (2018). Effects of dietary Nannochloropsis salina on the nutritional performance and fatty acid profile of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Algal Research*, 33: 48-54.
- Gbassi, G. K. and Vandamme, T. (2012). Probiotic encapsulation technology: from microencapsulation to release into the gut. *Pharmaceutics*, 4(1): 149-163.
- Giannenas, I., Karamaligas, I., Margaroni, M., Pappas, I., Mayer, E., Encarnacao, P. *et al.*, (2015). Effect of dietary incorporation of a multi-strain probiotic on growth performance and health status in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 41(1): 119-128.
- Giri, S. S., Yun, S., Jun, J. W., Kim, H. J., Kim, S. G., Kang, J. W. *et al.*, (2018). Therapeutic effect of intestinal autochthonous *Lactobacillus reuteri* P16 against waterborne lead toxicity in *Cyprinus carpio*. *Frontiers in Immunology*, <https://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2018.01824>.
- Gumus, E., Kubilay, A., Guney, Ş., Guzel-Seydim, Z., Kok-Tas, T., Metin, S. *et al.*, (2017). Effect of dietary kefir on the growth performance, feed utilization and fatty acid profile of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Nutrition*, 23(5): 964-972.
- Guo, H., Chen, L., Cui, H., Peng, X., Fang, J., Zuo, Z. *et al.*, (2015). Research advances on pathways of nickel-induced apoptosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 17: 10-14.
- Halttunen, T., Salminen, S., Tahvonen, R. (2007). Rapid removal of lead and cadmium from water by specific lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 114(1): 30-35.

- Hoseinifar, S. H., Mirvaghefi, A., Amoozegar, M. A., Sharifian, M. and Esteban, M. Á. (2015). Modulation of innate immune response, mucosal parameters and disease resistance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) upon synbiotic feeding. *Fish and Shellfish Immunology*, 45(1): 27-32.
- Jafarpour, D., Shekarforoush, S. S., Ghaisari, H. R., Nazifi, S., Sajedianfard, J. and Eskandari, M. H. (2017). Protective effects of synbiotic diets of *Bacillus coagulans*, *Lactobacillus plantarum* and inulin against acute cadmium toxicity in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17: 291-298.
- Khanipour, A., Ahmadi, M. and Seifzadeh, M. (2018). Study on bioaccumulation of heavy metals (cadmium, nickel, zinc and lead) in the muscle of wels catfish (*Silurus glanis*) in the Anzali Wetland. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 17(1): 244-250.
- Kos, B., Šuskovic, J., Beganovic, J., Gjuracic, K., Frece, J., Iannaccone, C. *et al.*, (2008). Characterization of the three selected probiotic strains for the application in food industry. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(5): 699-707.
- Leung, H., Leung, A., Wang, H., Ma, K., Liang, Y., Ho, K. *et al.*, 2014. Assessment of heavy metals/metalloid (As, Pb, Cd, Ni, Zn, Cr, Cu, Mn) concentrations in edible fish species tissue in the Pearl River Delta (PRD), China. *Marine Pollution Bulletin*, 78: 235-245.
- Majlesi, M., Shekarforoush, S. S., Ghaisari, H. R., Nazifi, S., Sajedianfard, J. and Eskandari, M. H. (2017). Effect of probiotic *Bacillus coagulans* and *Lactobacillus plantarum* on alleviation of mercury toxicity in rat. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 9(3): 300-309.
- Michael, E., Amos, S. O. and Hussaini, L.T. (2014). A review on probiotics application in aquaculture. *Fisheries and Aquaculture Journal*, 5 (4):111-113.
- Noel, L., Chekria, R., Millour, S., Merlo, M., Leblanc, J. C. and Guerin, T. (2013). Distribution and relationships of As, Cd, Pb and Hg in freshwater fish from five French fishing areas. *Chemosphere*, 90: 1900-1910.
- Park, Y., Lee, S., Hong, J., Kim, D., Moniruzzaman, M. and Bai, S. C. (2017). Use of probiotics to enhance growth, stimulate immunity and confer disease resistance to *Aeromonas salmonicida* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research*, 48(6): 2672-2682.
- Razavi, S., Vahabzadeh, H., Zamini, A., Askary Sary, A. and Velayatzadeh M. (2012). Measured and Comparison of heavy metals Hg, Pb, Cd in the muscle and shell of *Fenneropenaeus indicus* Persian Gulf (Bahrekan, Khuzestan Province). *Journal of Aquatic Animals and Fisheries*, 3(9): 43-90.
- Seth, D., Mishra, H. N. and DEKA, S. C. (2017). Effect of microencapsulation using extrusion technique on viability of bacterial cells during spray drying of sweetened yoghurt. *International Journal of Biological Macromolecules*, 103: 802-807.
- Tapia-Paniagua, S. T., Diaz-Rosales, P., De La Banda, I. G., Lobo, C., Clavijo, E., Balebona, M. C. *et al.*, (2014). Modulation of certain liver fatty acids in *Solea senegalensis* is influenced by the dietary administration of probiotic microorganisms. *Aquaculture*, 424: 234-238.
- Topal, A., Atamanalp, M., Oruc, E. and Erol, H. S. (2017). Physiological and biochemical effects of nickel on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) tissues: Assessment of nuclear factor kappa B activation, oxidative stress and histopathological changes. *Chemosphere*, 166: 445-452.
- Tulumoglu, S., Kaya, H. and Simsek, O. (2014). Probiotic characteristics of *Lactobacillus fermentum* strains isolated from tulum cheese. *Anaerobe* 30:120-125.
- Varol, M., Kaya, G. K. and Alp, A. (2017). Heavy metal and arsenic concentrations in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farmed in a dam reservoir on the Firat (Euphrates) River: Risk-based consumption advisories. *Science of the Total Environment*, 599: 1288-1296.
- Yar-Ahmadi, P., Moradi, N. and Ghysvandi, N. (2014). The effect of dietary supplemented with Synbiotic (Biomim IMBO®) on growth performance, carcass composition, hematological and serum biochemical parameters of common carp (*Cyprinus carpio Linnaeus*, 1758, Cyprinidae). *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences*, 4(3): 2129-2139.

-
- Yi, Y., Yang, Z. and Zhang, S. (2011). Ecological risk assessment of heavy metals in sediment and human health risk assessment of heavy metals in fishes in the middle and lower reaches of the Yangtze River basin. *Environmental Pollution*, 159: 2575-2585.
 - Yildiz, M., Kose, I., Issa, G. and Kahraman, T. (2015). Effect of different plant oils on growth performance, fatty acid composition and flesh quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research*, 46: 2885-2896.
 - Zhai, Q., Wang, H., Tian, F., Zhao, J., Zhang, H., Chen, W. (2017). Dietary *Lactobacillus plantarum* supplementation decreases tissue lead accumulation and alleviates lead toxicity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Research*, 48(9): 5094-5103.