

## تاثیر رژیم غذایی حاوی مکمل کوئرستین نانودرون پوشانی شده در نانو ذرات کیتوزان بر عملکرد رشد و بازماندگی در میگوی سفید غربی (*Penaeus vannamei*)

وحیده عبدی<sup>۱</sup>، ایمان سوری نژاد<sup>۱</sup>، زهرا قاسمی<sup>۱\*</sup>، سید علی جوهری<sup>۲</sup>

۱- گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

۲- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

### چکیده

### نوع مقاله

#### مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۵/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۲۰

تاریخ چاپ الکترونیکی:

۱۴۰۳/۰۸/۱۵

\*نویسنده مسئول:

z.ghasemi@hormozgan.ac.ir

کوئرستین یک فلاونوئید است که به وفور در گیاهان وجود دارد و به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. مطالعه حاضر به منظور ارزیابی و مقایسه تاثیر کوئرستین عادی و نانو درون پوشانی شده بر عملکرد رشد و بازماندگی میگوی سفید غربی (*Penaeus vannamei*) طراحی شده است. به منظور ساخت و ارزیابی کوئرستین درون پوشانی شده در نانوذرات کیتوزان از روش انعقاد یونی و DLS استفاده شد. نتایج مرتبط با کوئرستین (Qu) - کیتوزان (Chi) نشان داد که سایز هیدرودینامیکی و پتانسیل زتا به ترتیب برابر با ۱۶۰/۱ نانومتر و ۳۳/۸ میلی ولت بود و رهایش دارو از آن در محیط شبیه سازی شده بصورت انفجاری بود. در خصوص آزمایش تغذیه، میگوها با متوسط وزن  $0.18 \pm 2/27$  گرم با ۵ جیره شامل: جیره پایه بدون مکمل Qu، Qu-Chi و Chi (کنترل)، کوئرستین، کوئرستین درون پوشانی شده در نانو ذرات کیتوزان با دوز ۰/۲۵ گرم، کوئرستین درون پوشانی شده در نانو ذرات کیتوزان با دوز ۰/۵ گرم و نانو ذرات کیتوزان با دوز ۰/۵ گرم بر کیلوگرم غذا تغذیه شدند. میگوها به طور تصادفی به ۵ گروه تقسیم شدند که در هر گروه ۳ تکرار و در هر تکرار ۵۰ میگو بود. نتایج نشان داد که تمامی تیمارهای غذایی حاوی مکمل های غذایی باعث بهبود وزن نهایی، درصد افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی شدند. پس از یک دوره تغذیه ای ۲ ماهه، نتایج نشان داد وزن نهایی، افزایش وزن، میانگین افزایش وزن روزانه در میگوهای تیمار Qu-Chi 0.5 گرم نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود ( $P < 0.05$ ). با این حال، از نظر بازماندگی تفاوت معنی داری میان تیمارها مشاهده نشد. نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از کوئرستین- کیتوزان با دوز ۰/۵ گرم در کیلوگرم جیره غذایی می تواند بر عملکرد رشد و بقای میگوی سفید غربی (*P. vannamei*) تاثیر مثبت داشته باشد.

**کلیدواژه ها:** کوئرستین، نانو درون پوشانی، کیتوزان، رشد، *Penaeus vannamei*

### مقدمه

آبزی پروری یکی از بخش های مهم تولید مواد غذایی مورد نیاز بشر در جهان است که به سرعت در حال رشد می باشد. سخت پوستان به دلیل ارزش اقتصادی بالا، نقش مهمی در تجارت جهانی آبزی پروری ایفا می کنند. میگوی سفید غربی (*P. vannamei*) یکی از گونه های مهم اقتصادی بومی سواحل غربی آمریکای لاتین و اقیانوس آرام می باشد [۱، ۲ و ۳]. پرورش میگوی سفید غربی به دلایل متعدد از جمله تحمل طیف گسترده ای از شرایط پرورش مانند تراکم بالا و دامنه وسیع شوری و دما و همچنین نرخ رشد بالا و مقاومت بیشتر نسبت به بیماری ها از روند رو به رشدی برخوردار بوده است. این گونه گرمسیری در سراسر جهان در سیستم های گسترده، متراکم و نیمه متراکم پرورش داده می شود [۴ و ۵]. میگوی سفید غربی (*P. vannamei*)، در سال ۲۰۱۹ در بین سخت پوستان، ۵۲ درصد تولید جهانی را به خود اختصاص داده است. میزان تولید آن از ۱۵۵

میلیون تن در سال ۲۰۰۰ به ۵۴۴۶ میلیون تن در سال ۲۰۱۹ افزایش یافته است [۸ و ۷]. هم زمان با رشد صنعت آبی پروری میگو، استرس‌هایی مانند کیفیت پایین آب می تواند باعث تضعیف سیستم ایمنی در آبی گردد و این امر سبب بروز بیماری‌های گوناگونی در آبیان می‌شود [۹]. استفاده از مواد محرک سیستم ایمنی در صنعت آبی پروری برای بهبود ایمنی و مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا از اهمیت بسزایی برخوردار می‌باشد. بهبود شرایط غذایی نقش مهمی در عملکرد سیستم ایمنی و مقاومت در برابر بیماری‌ها ایفا می‌نماید در نتیجه کیفیت غذا می‌تواند باعث رشد بهتر و کاهش تلفات در طی دوره پرورش گردد [۱۰ و ۱۱]. گیاهان منابع غنی از ترکیبات زیست فعالی همچون آلکالوئیدها<sup>۱</sup>، فلاونوئیدها<sup>۲</sup>، رنگدانه‌ها<sup>۳</sup>، فنول‌ها<sup>۴</sup>، تریپنوئیدها<sup>۵</sup> و استرول‌ها<sup>۶</sup> می‌باشند. این ترکیبات محرک رشد، محرک ایمنی، آنتی‌اکسیدان، ضد التهاب و ضد میکروبی‌اند که در این میان، فلاونوئیدها به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی قوی بسیار مورد توجه قرار گرفته است [۱۲ و ۱۳].

از میان رویکردهای درمانی جدید، کوئرستین<sup>۷</sup> به عنوان یک فلاونوئید طبیعی و آنتی‌اکسیدان قوی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. کوئرستین به طور عمده در میوه‌ها، گیاهان دارویی و سبزیجات وجود دارد و دارای خاصیت ضدسرطانی، ضد ویروسی، ضدباکتریایی و ضدالتهابی می‌باشد [۱۴ و ۱۵ و ۱۶ و ۱۷]. یک نکته مهم در استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها توجه به حلالیت آن‌هاست. آنتی‌اکسیدان‌ها رفتارهای مختلفی از نظر حلالیت در آب یا چربی با توجه به ساختارشان از خود نشان می‌دهند. علاوه بر حلالیت، تقریباً همه آنتی‌اکسیدان‌ها به نور، اکسیژن، گرما، رطوبت و شرایط نگهداری حساس هستند. یکی از رایج‌ترین روش‌ها برای محافظت از خواص آنتی‌اکسیدانی، روش درون پوشانی کردن است [۱۸]. استفاده از کوئرستین به صورت خوراکی، با مشکلاتی مانند حلالیت کم در آب، فراهمی زیستی پایین در دستگاه گوارش، بی ثباتی در محیط فیزیولوژیکی و ضعف در تحویل هدفمند همراه می‌باشد. بنابراین برای غلبه بر این موانع و بهبود کارایی کوئرستین، فناوری نانو کمک قابل توجهی کرده است و از نانو حامل‌ها برای درون پوشانی کردن استفاده می‌گردد. در سال‌های اخیر، توجه فراوانی به استفاده از نانو ذرات به عنوان حامل‌های دارو شده است. نانو ذرات در مقایسه با ذرات عادی ورود بهتری به بافت‌ها از خود نشان می‌دهند که علت آن اندازه کوچک ذرات می‌باشد. داروهای درون پوشانی شده در نانو ذرات می‌توانند به صورت پایدار تحویل داده شوند و از تخریب آنزیمی و گوارشی محافظت شوند و افزایش فراهمی زیستی، افزایش پایداری و کاهش عوارض جانبی دارو را فراهم آورند [۱۹ و ۲۰ و ۲۱ و ۲۲].

نانو حامل‌های پلیمری طبیعی به دلیل رهایش هدفمند دارو بسیار مورد توجه هستند. در این میان، نانو حامل‌های کیتوزان با توجه به سازگاری زیستی بالا، تجزیه پذیری زیستی خوب، عدم سمیت و پایداری از اهمیت بالایی برخوردار هستند و از استیل زدایی کیتین بدست می‌آیند. کیتین به وفور در اسکلت خارجی سخت پوستانی مانند خرچنگ، میگو و حشرات و همچنین در دیواره خارجی قارچ‌ها و مخمرها وجود دارد. ماهیت کاتیونی کیتوزان برای توسعه سیستم‌های دارورسانی بسیار مناسب می‌باشد. خصوصیات مختلف فیزیکی و شیمیایی مانند اندازه، سطح، گروه‌های عملکردی فعال و کارایی بالای درون پوشانی کردن نانو ذرات کیتوزان در ترکیب با سایر ترکیبات بسیار مناسب می‌باشد [۲۰ و ۲۳ و ۲۴ و ۲۵]. با توجه به اینکه بخش عمده‌ای از هزینه‌های پرورش، مربوط به تهیه غذا می‌باشد بهبود وضعیت تغذیه‌ای میگو منجر به سودمندتر شدن پرورش آن می‌شود. کوئرستین یکی از مهم‌ترین فلاونوئیدها است که بیشترین خواص آنتی‌اکسیدانی را به خود اختصاص داده است. کوئرستین به دلیل اینکه در محیط آبی پایداری پایینی دارد و دارای فراهمی زیستی پایینی در دستگاه گوارش است به منظور جلوگیری از تخریب در سیستم گوارش و اثر بخشی بیشتر در بدن موجود زنده درون نانو ذرات کیتوزان نانو درون پوشانی می‌شود. نانو درون پوشانی کردن کوئرستین درون کیتوزان، پایداری و فراهمی زیستی کوئرستین را افزایش می‌دهد. نانو درون پوشانی کردن این امکان را فراهم می‌کند تا اجزای زیست فعال مواد غذایی را از شرایط

1 Alkaloids

2 Flavonoids

3 Pigments

4 Phenols

5 Terpènes

6 Sterols

7 Quercetin

نامطلوب محیطی محافظت کرده و مشکلات مربوط به حالیت ترکیبات را نیز برطرف نماید. یکی از مزایای نانو درون پوشانی کردن، کنترل رسانش و رهایش ترکیبات می‌باشد. کیتوزان نسل جدیدی از حامل‌های دارویی هستند که به علت مزایای بالا نسبت به سایر حامل‌ها بیشتر مورد توجه قرار گرفته است [۱۹ و ۲۶]. با توجه به مرور منابع به نظر می‌رسد تاکنون پژوهشی در خصوص اثر کوئرستین نانو درون پوشانی شده با استفاده از نانو ذرات کیتوزان به عنوان مکمل غذایی، بر رشد و بازماندگی میگوی سفید غربی گزارش نشده است. در پژوهش حاضر، برای اولین بار از کوئرستین نانو درون پوشانی شده با استفاده از نانو ذرات کیتوزان به عنوان مکمل غذایی در جیره میگوی سفید غربی به منظور افزایش عملکرد رشد و بازماندگی استفاده شد.

## مواد و روش‌ها

### سنتز نانو ذرات کیتوزان و نانو درون پوشانی کوئرستین با استفاده از نانو ذرات کیتوزان

برای تبدیل کیتوزان به نانو ذرات کیتوزان از روش ژل سازی یونی استفاده شد. به این صورت که ۲۰۰ میلی گرم پودر کیتوزان در ۱۰۰ میلی لیتر محلول اسید استیک گلاسیال ۱ درصد حل شد و به مدت یک شبانه روز در دمای اتاق با دور rpm ۵۰۰ تحت استیرر قرار گرفت تا کیتوزان کاملاً حل شود. سپس pH محلول با استفاده از NaOH (۱ مولار) روی ۵/۵ تنظیم گردید. سپس به ۱۰ میلی لیتر محلول کیتوزان، مقدار ۳/۵ میلی لیتر محلول سدیم تری پلی فسفات (۲۰۰ میلی گرم سدیم تری پلی فسفات در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد) به صورت قطره قطره اضافه گردید و به مدت یک ساعت تحت استیرر قرار گرفت. سپس سوسپانسیون با استفاده از سانتریفیوژ با دور rpm ۹۰۰۰ به مدت ۳۰ دقیقه شستشو داده شد. در نهایت سوسپانسیون حاصله به مدت ده دقیقه توسط دستگاه اولتراسونیک، سونیکه شد و نانوذرات کیتوزان آماده گردید و با استفاده از دستگاه فریز درایر خشک گردید. به منظور نانو درون پوشانی کردن کوئرستین در کیتوزان نیز از روش فوق استفاده شد با این تفاوت که به ۱۰ میلی لیتر از محلول کیتوزان اولیه، میزان ۳ میلی گرم کوئرستین اضافه گردید (۳ میلی گرم کوئرستین در ۱ میلی لیتر الکل ۹۶ درصد حل شده و به محلول کیتوزان اولیه اضافه شد). سپس ۳/۵ میلی لیتر محلول TPP به صورت قطره قطره اضافه شده و به مدت یک ساعت تحت استیرر قرار گرفت. در ادامه، پس از اتمام فرایند درون پوشانی کردن، سوسپانسیون حاصل با استفاده از سانتریفیوژ (با دور rpm ۹۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی گراد) و آب مقطر سه بار شستشو داده شده و به مدت ده دقیقه توسط دستگاه اولتراسونیک، سونیکه شد و در نهایت خشک گردید [۲۷ و ۲۸].

### آنالیز کوئرستین نانو درون پوشانی شده در کیتوزان و نانو ذرات کیتوزان

برای تعیین اندازه نانو ذرات، شاخص پراکندگی ذرات و پتانسیل زتا از دستگاه پراکنش نور پویا (DLS) و برای بررسی بازده و کارایی درون پوشانی کردن از روش منحنی کالیبراسیون استفاده شد [۱۹]. برای محاسبه درصد کارایی کوئرستین درون پوشانی شده در نانوذرات کیتوزان (%EE)، محاسبه ظرفیت بارگذاری کوئرستین در نانوذرات کیتوزان (%LC) و همچنین غلظت کوئرستین آزاد شده از فرمولاسیون، نیاز به رسم منحنی کالیبراسیون می‌باشد. برای رسم منحنی کالیبراسیون، ابتدا غلظت‌های مختلف کوئرستین در اتانول ۹۶٪ تهیه گردید و جذب هر نمونه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. بر اساس جذب به دست آمده، منحنی کالیبراسیون رسم گردید. با توجه به منحنی کالیبراسیون کوئرستین و جذب به دست آمده، غلظت داروی آزاد شده از محیط محاسبه گردید [۲۰].

$$\% EE = \frac{\text{Total drug} - \text{Free drug}}{\text{Total drug}} \times 100$$

$$\% LC = \frac{\text{Total drug} - \text{Free drug}}{\text{Nanoparticle weight}} \times 100$$

(Total drug): مقدار دارویی که در آغاز کار استفاده شده است.

(Free drug): مقدار داروی آزاد شده در محیط

(Nanoparticle weight): وزن نهایی نانوذره خشک شده

### بررسی میزان رهایش کوئرستین در محیط شبیه سازی شده

به منظور بررسی رهایش دارو از نانوکپسول‌های کوئرستین-کیتوزان، از روش Hosseini و همکاران (۲۰۱۳) با اندکی تغییر استفاده گردید. میزان ۵ میلی گرم نانوحامل کوئرستین-کیتوزان به ۱۰/۵ میلی لیتر بافر فسفات با pH برابر با ۷/۴ اضافه شده و به مدت ۵ دقیقه اولتراسونیک گردید. سپس به میزان ۴/۵ میلی لیتر به آن الکل ۹۶٪ اضافه شده و به آرامی مخلوط گردید. سپس نمونه بدست آمده در انکوباتور شیکردار در دمای ۲۹ درجه سانتی گراد (مطابق با دمای محیط پرورش میگوی مورد مطالعه) به مدت ۱۴۴ ساعت نگهداری گردید. سپس در فواصل زمانی مشخص، حجم مشخصی از نمونه برداشته شده و پس از سانتریفیوژ، در طول موج مشخص شده بررسی و با بافر فسفات و اتانول جایگزین گردید. در نهایت با استفاده از فرمول زیر میزان رهایش دارو محاسبه شد [۲۹].

$$100 * (\text{داروی کل} / \text{داروی یافته} - \text{داروی کل}) = \text{درصد رهایش تجمعی}$$

### میگو و شرایط پرورش

در این پژوهش، ۷۵۰ عدد میگوی سفید غربی با میانگین وزن  $0.18 \pm 0.27$  گرم و طول کل  $1.35 \pm 58.35$  میلی متر به یک کارگاه تکثیر میگو در استان هرمزگان، شهرستان سیریک منتقل گردید. میگوها به منظور سازگاری با شرایط آزمایش، در ۱۵ تانک ۳۰۰ لیتری حاوی ۲۸۰ لیتر آب فیلتر شده دریا با تراکم ۵۰ عدد میگو در هر تانک به مدت ۱۰ روز قرار گرفتند. برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. در این مدت تمامی تیمارها با خوراک فراهم شده برای میگوهای گروه کنترل به میزان ۵ درصد وزن بدن در سه نوبت ۷ صبح، ۱۲ ظهر و ۵ عصر تغذیه شدند. جیره غذایی پایه، غذای تجاری شرکت حاتمی با ترکیب تقریبی، ۴۲ درصد پروتئین خام، ۹ درصد چربی خام، ۴ درصد فیبر خام، ۱۴ درصد خاکستر و ۱۰ درصد رطوبت بود. پس از پایان دوره سازگاری، غذادهی با خوراک مخصوص هر تیمار به مدت ۶۰ روز انجام گرفت. جیره‌های غذایی در قالب پنج تیمار و سه تکرار برای هر تیمار تهیه گردید (جدول ۱).

جدول ۱. جیره‌های غذایی مورد استفاده در مطالعه حاضر

ردیف	تیمارها	توضیحات
۱	کنترل	بدون هیچ گونه افزودنی
۲	کوئرستین معمولی با دوز ۰/۵ گرم بر کیلوگرم غذا	خوراک کنترل + ۰/۵ گرم کوئرستین معمولی
۳	کوئرستین درون پوشانی شده در نانو ذرات کیتوزان با دوز ۰/۲۵ گرم بر کیلوگرم غذا	خوراک کنترل + ۰/۲۵ گرم کوئرستین درون پوشانی شده در نانو ذرات کیتوزان
۴	کوئرستین درون پوشانی شده در نانو ذرات کیتوزان با دوز ۰/۵ گرم بر کیلوگرم غذا	خوراک کنترل + ۰/۵ گرم کوئرستین درون پوشانی شده در نانو ذرات کیتوزان
۵	نانو ذرات کیتوزان با دوز ۰/۵ گرم بر کیلوگرم غذا	خوراک کنترل + ۰/۵ گرم نانوذرات کیتوزان

مکمل‌های غذایی آماده شده بر روی جیره میگو اسپری گردید و در دمای اتاق خشک شدند و پس از خشک شدن، برای حفظ ماده اضافه شده در آب، اسپری ژلاتین (۱ گرم ژلاتین در ۱۰۰ سی سی آب کاملاً حل شد) بر روی خوراک انجام شد. در طول دوره آزمایش، آب تانک‌ها قبل از غذاهای نوبت صبح به منظور پاکسازی تانک‌ها از مدفوع و باقی مانده غذا سیفون می‌شدند. هر تانک با آب دریای فیلتر شده با شوری ۳۷-۳۸ گرم بر لیتر، pH ۸/۵-۸/۲، اکسیژن محلول ۵/۸-۵/۱ میلی گرم بر لیتر و دمای ۲۹-۳۲ درجه سانتی گراد آبیگری شد و عمل هوادهی با سنگ هوای متصل به پمپ هوا صورت گرفت. دوره نوری در این مطالعه ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در نظر گرفته شد. برای آگاهی از عملکرد جیره‌های غذایی و رشد میگوها، در ابتدای دوره پرورش و در طول دوره پرورش، هر ۱۵ روز میگوها مورد زیست‌سنجی قرار گرفتند. تمام میگوهای موجود در تانک توسط ترازوی دیجیتال توزین شدند. با توجه به اطلاعات به دست آمده از هر زیست‌سنجی، میزان غذاهای برای هر تیمار بر اساس محاسبه وزن توده زنده محاسبه گردید [۳۰ و ۳۱].

### سنجش پارامترهای رشد و بازماندگی

به منظور بررسی عملکرد رشد، از فرمول‌های زیر جهت سنجش پارامترهای رشد استفاده گردید: [۱۱ و ۳۳]

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

$100 \times \text{وزن اولیه (گرم)} / (\text{وزن اولیه} - \text{وزن نهایی}) = \text{درصد افزایش وزن بدن}$

$100 \times \text{تعداد روزهای پرورش} / (\text{Ln وزن اولیه} - \text{Ln وزن نهایی}) = \text{نرخ رشد ویژه}$

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

طول اولیه - طول نهایی = میانگین افزایش طول بدن

$100 \times \text{طول دوره پرورش} \times \text{وزن نهایی} / (\text{وزن اولیه} - \text{وزن نهایی}) = \text{میانگین رشد روزانه}$

$100 \times \text{تعداد نمونه‌های مورد آزمایش در روز اول} / (\text{تعداد تلفات در طول دوره آزمایش} - \text{تعداد نمونه‌های مورد آزمایش در روز اول}) = \text{درصد بازماندگی}$

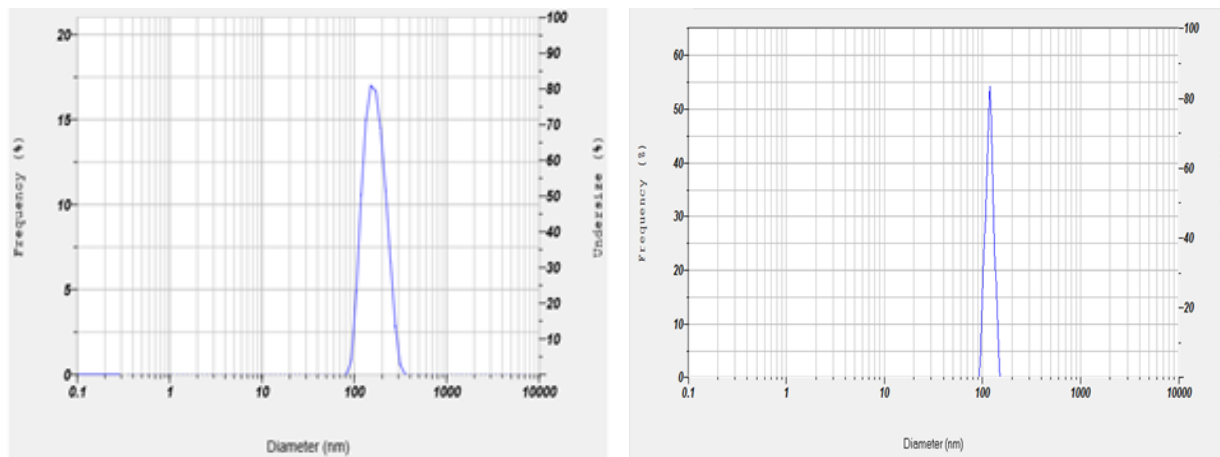
### تجزیه و تحلیل آماری

از نرم افزار SPSS برای تجزیه و تحلیل نتایج بدست آمده استفاده گردید. ابتدا با استفاده از آزمون کلموگروف اسمیرنوف (Kolmogrov-smirnov) نرمال بودن داده‌ها مورد بررسی قرار گرفت و سپس از آنالیز واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) جهت مقایسه بین تیمارها استفاده شد. سپس به کمک آزمون Duncan مقایسه در سطح احتمال ۵ درصد جهت بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی دار بین تیمارهای غذایی استفاده شد. داده‌ها بر اساس میانگین  $\pm$  انحراف معیار ارائه گردید.

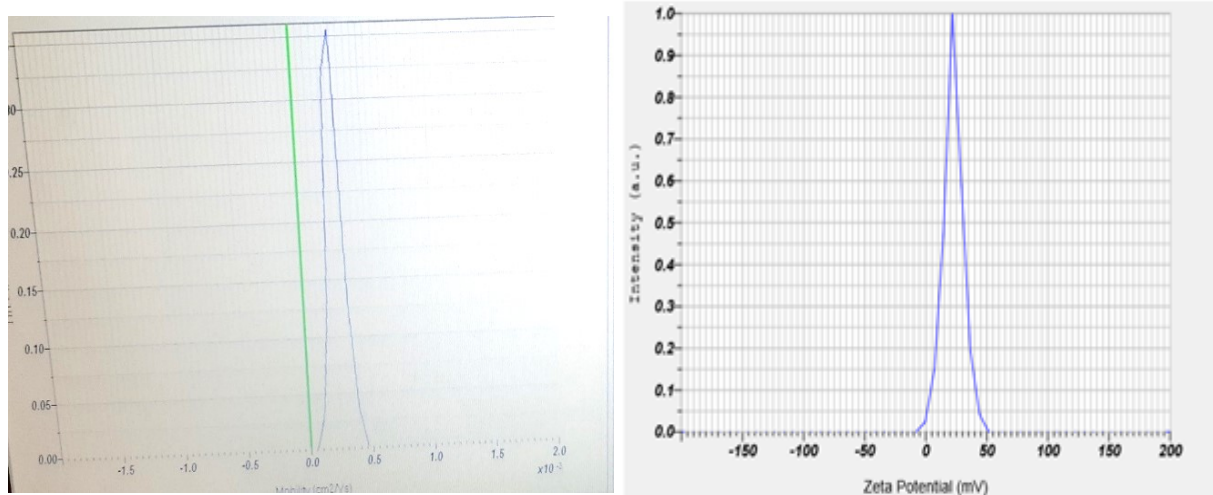
### نتایج

#### مشخصات نانو ذرات کیتوزان و کوئرستین درون پوشانی شده در نانو ذرات کیتوزان

در این مطالعه ابتدا به بررسی مشخصات نانو ذرات کیتوزان و کوئرستین درون پوشانی شده در نانو ذرات کیتوزان و همچنین رهایش دارو پرداخته شد. به منظور بررسی اندازه نانو ذرات، پتانسیل زتا، Z-Average size و Polydispersity Index نانو ذرات کیتوزان و کوئرستین درون پوشانی شده در نانو ذرات کیتوزان از آنالیز DLS استفاده شد. نتایج نشان داد که نانو ذرات کیتوزان دارای میانگین اندازه ۱۱۱/۶ نانومتر (شکل ۱، الف) و پتانسیل زتا ۲۲/۶ میلی ولت بوده (شکل ۲، الف) و Z-Average size برابر با ۴۹۷۸/۱ d.nm و Polydispersity Index نیز ۶/۳۴۶ می‌باشد. همچنین نمونه کوئرستین درون پوشانی شده در نانو ذرات کیتوزان دارای میانگین اندازه ۱۶۰/۱ نانومتر (شکل ۱، ب) و پتانسیل زتا ۳۳/۸ میلی ولت بوده (شکل ۲، ب) و Z-Average size برابر با ۱۵۴/۰ d.nm و Polydispersity Index نیز ۰/۰۱۵ می‌باشد.



شکل ۱. نتایج اندازه هیدرودینامیکی نانو ذرات کیتوزان (راست) و کوئرستین درون پوشانی شده در نانو ذرات کیتوزان (چپ)



ب

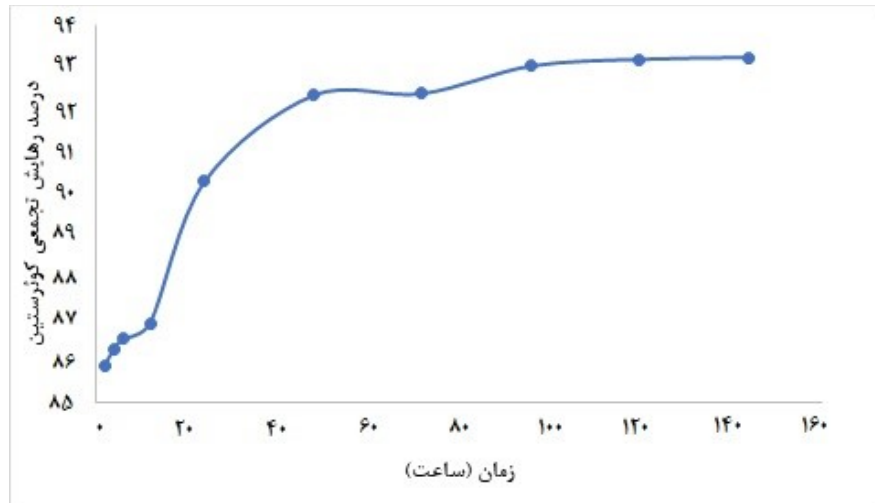
الف

شکل ۲. نتایج پتانسیل زتا نانو ذرات کیتوزان (الف) و کوئرستین درون پوشانی شده در نانو ذرات کیتوزان (ب)

از طرفی با استفاده از منحنی کالیبراسیون، میزان کارایی انکپسولاسیون (%EE)  $99/67 \pm 0/02$  درصد و همچنین محتوای بارگذاری (%LC) برابر با  $16/75 \pm 1/86$  درصد بدست آمد.

### بررسی رهایش دارو در محیط شبیه سازی شده با بدن میگو

نتایج رهایش دارو در محیط شبیه سازی شده با بدن میگو در شکل ۳ به تصویر کشیده شده است. رهایش دارو از نانوکپسول کوئرستین-کیتوزان به صورت انفجاری بوده، بطوری که ۸۵ درصد دارو در دو ساعت اول رهایش پیدا کرده و در ۲۴ ساعت اول بیش از ۹۰ درصد رهایش پیدا کرد. درصد رهایش دارو در مدت زمان ۱۴۴ ساعت به بیش از ۹۳ درصد رسید.



شکل ۳. درصد رهايش تجمعی دارو کورستين از کورستين-کیتوزان پس از ۱۴۴ ساعت در محیط شبیه سازی شده با بدن میگوی سفید غربی

### شاخص‌های رشد

تأثیر جیره‌های غذایی مختلف نظیر گروه کنترل بدون افزودنی، کورستين معمولی با دوز ۰/۵ گرم بر کیلوگرم غذا، کورستين درون پوشانی شده در نانو ذرات کیتوزان با دوز ۰/۲۵ گرم بر کیلوگرم غذا، کورستين درون پوشانی شده در نانو ذرات کیتوزان با دوز ۰/۵ گرم بر کیلوگرم غذا و نانو ذرات کیتوزان با دوز ۰/۵ گرم بر کیلوگرم غذا بر پارامترهای رشد و بازماندگی میگوی سفید غربی در طی دوره پرورش مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده از فاکتورهای رشد در طی دوره پرورش در روز اول، روز پانزده، روز سی، روز چهل و پنج و روز شصت شامل وزن کل و طول کل می باشد که در تیمارهای مختلف غذایی به ترتیب در جدول ۲ و جدول ۳ نشان داده شده است. در بیومتری اول که در روز اول انجام گرفت در میزان وزن و طول کل اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده نشد. بر طبق نتایج بدست آمده، میگوهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی مکمل غذایی در فاکتورهای رشد با تیمار کنترل دارای اختلاف معنی داری می‌باشند ( $P < 0.05$ ).

نتایج در روزهای مختلف نشان داد که وزن و طول کل نهایی تیمارهای تغذیه شده با کورستين درون پوشانی شده در نانو ذرات کیتوزان و نانو ذرات کیتوزان بطور معنی داری نسبت به گروه کنترل افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). وزن و طول کل در روزهای ۱۵، ۳۰ و ۴۵ در تیمارهای کورستين درون پوشانی شده در نانو ذرات کیتوزان و تیمار نانو ذرات کیتوزان و تیمار نانو ذرات کیتوزان دارای بیشترین مقدار بود. وزن تیمارهای کورستين درون پوشانی شده با نانو ذرات کیتوزان با دوز ۰/۵ گرم و نانو ذرات کیتوزان در روز ۴۵ اختلاف معنی داری با گروه کنترل نشان داد ( $P < 0.05$ ) و طول کل تیمار کورستين درون پوشانی شده با نانو ذرات کیتوزان با دوز ۰/۵ گرم اختلاف معنی داری با گروه کنترل نهایی و طول کل نهایی در تیمار کورستين درون پوشانی شده با نانو ذرات کیتوزان با دوز ۰/۵ گرم دارای اختلاف معنی داری با گروه کنترل نشان داد ( $P < 0.05$ ) و دارای بیشترین مقدار  $0.10 \pm 9.63$  گرم و  $0.15 \pm 106.93$  میلی متر بود. نتایج به دست آمده نشان داد که در وزن نهایی و طول کل نهایی در تیمارهای تغذیه شده با کورستين درون پوشانی شده در نانو ذرات کیتوزان با دوز ۰/۵ گرم در مقایسه با کورستين معمولی اختلاف معنی داری وجود دارد ( $P < 0.05$ ).

جدول ۲. وزن اولیه و نهایی میگوی سفید غربی تغذیه شده با جیره‌های غذایی مختلف در روزهای مختلف بیومتری

وزن کل (گرم)	کنترل	Qu	Qu-Chi 0.25	Qu-Chi 0.5	Chi NPs
روز اول	۲/۲۲ ± ۰/۰۸ <sup>a</sup>	۲/۱۴ ± ۰/۰۷ <sup>a</sup>	۲/۱۸ ± ۰/۲۳ <sup>a</sup>	۲/۴۰ ± ۰/۱۹ <sup>a</sup>	۲/۴۳ ± ۰/۱۳ <sup>a</sup>
روز ۱۵	۳/۴۳ ± ۰/۱۲ <sup>e</sup>	۳/۶۷ ± ۰/۱۱ <sup>d</sup>	۴/۱۱ ± ۰/۱۱ <sup>c</sup>	۴/۴۱ ± ۰/۰۹ <sup>b</sup>	۴/۷۳ ± ۰/۱۴ <sup>a</sup>
روز ۳۰	۵/۱۵ ± ۰/۰۳ <sup>b</sup>	۵/۵۳ ± ۰/۰۷ <sup>b</sup>	۶/۳۳ ± ۰/۱۳ <sup>a</sup>	۶/۸۲ ± ۰/۰۵ <sup>a</sup>	۶/۸۱ ± ۰/۴۲ <sup>a</sup>
روز ۴۵	۷/۰۶ ± ۰/۲۰ <sup>b</sup>	۶/۹۶ ± ۰/۴۰ <sup>b</sup>	۷/۱۸ ± ۰/۰۱ <sup>b</sup>	۸/۰۶ ± ۰/۰۱ <sup>a</sup>	۷/۸۷ ± ۰/۲۷ <sup>a</sup>
روز ۶۰	۷/۳۳ ± ۰/۰۶ <sup>e</sup>	۷/۷۲ ± ۰/۱۶ <sup>d</sup>	۸/۰۹ ± ۰/۱۳ <sup>c</sup>	۹/۶۳ ± ۰/۱۰ <sup>a</sup>	۸/۷۵ ± ۰/۲۱ <sup>b</sup>

مقادیر بصورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده اند و وجود حروف غیر همسان در هر سطر نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارها در سطح ۵ درصد است ( $P < 0.05$ ). کوئرستین عادی (Qu)، کوئرستین درون پوشانی شده در نانو ذرات کیتوزان با دوز ۰/۲۵ گرم بر کیلوگرم غذا (Qu-Chi 0.25)، کوئرستین درون پوشانی شده در نانوذرات کیتوزان با دوز ۰/۵ گرم بر کیلوگرم غذا (Qu-Chi 0.5)، نانو ذرات کیتوزان (Chi NPs)

جدول ۳. طول کل اولیه و نهایی میگوی سفید غربی تغذیه شده با جیره های غذایی مختلف در روزهای مختلف بیومتری

طول کل (میلی متر)	کنترل	Qu	Qu-Chi 0.25	Qu-Chi 0.5	Chi NPs
روز اول	۵۷/۵ ± ۱/۸۰ <sup>a</sup>	۵۸/۵ ± ۰/۴۶ <sup>a</sup>	۵۷/۸۳ ± ۱/۶۲ <sup>a</sup>	۵۸/۴۰ ± ۱/۲۱ <sup>a</sup>	۵۹/۵ ± ۱/۳۰ <sup>a</sup>
روز ۱۵	۷۳/۹ ± ۰/۶۵ <sup>d</sup>	۷۵/۰۳ ± ۰/۴۷ <sup>c</sup>	۷۶/۲۳ ± ۰/۱۱ <sup>b</sup>	۷۸/۴۳ ± ۰/۲۱ <sup>a</sup>	۷۸/۰۷ ± ۰/۰۶ <sup>a</sup>
روز ۳۰	۷۹/۶ ± ۰/۲۶ <sup>d</sup>	۸۲/۳ ± ۲/۰۷ <sup>c</sup>	۸۴/۴۳ ± ۰/۱۵ <sup>b</sup>	۹۲/۲۳ ± ۰/۱۵ <sup>a</sup>	۹۱/۵۳ ± ۰/۲۱ <sup>a</sup>
روز ۴۵	۸۳/۱ ± ۰/۵۵ <sup>d</sup>	۸۷/۲۷ ± ۰/۶۱ <sup>c</sup>	۸۹/۱۳ ± ۰/۰۶ <sup>b</sup>	۹۷/۷۳ ± ۰/۳۰ <sup>a</sup>	۹۴/۶۷ ± ۰/۷۴ <sup>b</sup>
روز ۶۰	۸۵/۰ ± ۰/۲۶ <sup>d</sup>	۹۲/۸ ± ۰/۴۶ <sup>c</sup>	۹۶/۲ ± ۰/۳۶ <sup>c</sup>	۱۰۶/۹۳ ± ۰/۱۵ <sup>a</sup>	۱۰۱/۱۰ ± ۴/۶۳ <sup>b</sup>

مقادیر بصورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده اند و وجود حروف غیر همسان در هر سطر نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارها در سطح ۵ درصد است ( $P < 0.05$ ). کوئرستین عادی (Qu)، کوئرستین درون پوشانی شده در نانو ذرات کیتوزان با دوز ۰/۲۵ گرم بر کیلوگرم غذا (Qu-Chi 0.25)، کوئرستین درون پوشانی شده در نانوذرات کیتوزان با دوز ۰/۵ گرم بر کیلوگرم غذا (Qu-Chi 0.5)، نانو ذرات کیتوزان (Chi NPs)

همچنین افزایش وزن، درصد افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، میانگین افزایش طول بدن، میانگین رشد روزانه و درصد بازماندگی مورد محاسبه قرار گرفت (جدول ۴). نتایج نشان داد که وزن نهایی و طول نهایی در تیمارهای Qu-Chi 0.25، Qu-Chi 0.5 و Chi بیشتر از سایر تیمارها بود و همچنین کمترین میزان وزن نهایی و طول نهایی در گروه کنترل مشاهده گردید ( $P < 0.05$ ). افزایش وزن بدن و درصد افزایش وزن بدن در تیمارهای تغذیه شده با مکمل غذایی اختلاف معنی داری با گروه کنترل نشان داد ( $P < 0.05$ ). نرخ رشد ویژه نشان داد که بیشترین میزان این فاکتور در بین تیمارها به ترتیب مربوط به تیمار Qu-Chi 0.5 (۲/۳۲ ± ۰/۱۵ درصد) و Qu-Chi 0.25 (۲/۱۹ ± ۰/۲۱ درصد) و کمترین میزان آن مربوط به تیمار کنترل (۱/۹۹ ± ۰/۰۷ درصد) بود ( $P < 0.05$ ). نتایج ضریب تبدیل غذایی نشان داد که تیمارهای آزمایشی با تیمار کنترل اختلاف معنی داری داشتند. کمترین مقدار آن در تیمار Qu-Chi 0.5 (۳/۰۰ ± ۰/۳۵) و بیشترین آن در تیمار کنترل (۳/۹۲ ± ۰/۲۵) مشاهده گردید ( $P < 0.05$ ). در میزان افزایش طول بدن در تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی داری با تیمار کنترل مشاهده گردید و بیشترین میانگین افزایش طول بدن مربوط به تیمار Qu-Chi 0.5 (۴۸/۵۳ ± ۱/۳۶) بود ( $P < 0.05$ ). بیشترین میانگین رشد روزانه مربوط به تیمار Qu-



Chi 0.05 و کمترین میانگین رشد روزانه مربوط به تیمار کنترل بود ( $P < 0.05$ ). میزان درصد بازماندگی نشان داد که در پایان آزمایش تفاوت معنی داری در بین گروه‌های مختلف تیماری با تیمار کنترل مشاهده نشد.

جدول ۴. اثر تیمارهای غذایی مختلف بر شاخص‌های رشد و تغذیه ای میگوی سفید غربی (*Penaeus vannamei*)

Chi NPs	Qu-Chi 0.5	Qu-Chi 0.25	Qu	کنترل	پارامترهای رشد
2/43 ± 0/13 <sup>a</sup>	2/40 ± 0/19 <sup>a</sup>	2/18 ± 0/23 <sup>a</sup>	2/14 ± 0/07 <sup>a</sup>	2/22 ± 0/08 <sup>a</sup>	وزن اولیه (گرم)
8/75 ± 0/21 <sup>b</sup>	9/63 ± 0/10 <sup>a</sup>	8/09 ± 0/13 <sup>c</sup>	7/72 ± 0/16 <sup>d</sup>	7/33 ± 0/06 <sup>c</sup>	وزن نهایی (گرم)
59/5 ± 1/3 <sup>a</sup>	58/4 ± 1/21 <sup>a</sup>	57/83 ± 1/62 <sup>a</sup>	58/5 ± 0/46 <sup>a</sup>	57/5 ± 1/8 <sup>a</sup>	طول اولیه (گرم)
10/11 ± 4/63 <sup>b</sup>	10/693 ± 0/15 <sup>a</sup>	96/2 ± 0/36 <sup>c</sup>	92/8 ± 0/46 <sup>c</sup>	85 ± 0/26 <sup>d</sup>	طول نهایی (گرم)
6/31 ± 0/33 <sup>b</sup>	7/22 ± 0/29 <sup>a</sup>	5/91 ± 0/36 <sup>bc</sup>	5/58 ± 0/1 <sup>cd</sup>	5/11 ± 0/14 <sup>d</sup>	افزایش وزن بدن (گرم)
260/06 ± 26/22 <sup>ab</sup>	302/45 ± 37/30 <sup>a</sup>	275/13 ± 48/23 <sup>ab</sup>	261/09 ± 5/21 <sup>ab</sup>	230/20 ± 15/14 <sup>b</sup>	درصد افزایش وزن بدن
2/13 ± 0/12 <sup>ab</sup>	2/32 ± 0/15 <sup>a</sup>	2/19 ± 0/21 <sup>ab</sup>	2/14 ± 0/02 <sup>ab</sup>	1/99 ± 0/07 <sup>b</sup>	نرخ رشد ویژه
3/48 ± 0/37 <sup>ab</sup>	3/00 ± 0/35 <sup>b</sup>	3/33 ± 0/55 <sup>ab</sup>	3/45 ± 0/07 <sup>ab</sup>	3/92 ± 0/25 <sup>a</sup>	ضریب تبدیل غذایی
41/6 ± 5/86 <sup>b</sup>	48/53 ± 1/36 <sup>a</sup>	38/37 ± 1/97 <sup>bc</sup>	34/3 ± 0/9 <sup>c</sup>	27/5 ± 1/87 <sup>d</sup>	میانگین افزایش طول بدن
1/20 ± 0/03 <sup>ab</sup>	1/25 ± 0/04 <sup>a</sup>	1/22 ± 0/05 <sup>ab</sup>	1/20 ± 0/007 <sup>ab</sup>	1/16 ± 0/02 <sup>b</sup>	میانگین رشد روزانه
96 ± 4 <sup>a</sup>	98/67 ± 2/31 <sup>a</sup>	97/33 ± 3/05 <sup>a</sup>	96/67 ± 5/77 <sup>a</sup>	93/33 ± 7/02 <sup>a</sup>	درصد بازماندگی

حروف غیر همسان در هر سطر نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارها در سطح ۵ درصد می‌باشد ( $P < 0.05$ ). کوئرستین عادی (Qu)، کوئرستین درون پوشانی شده در نانو ذرات کیتوزان با دوز ۲۵/۰ گرم بر کیلوگرم غذا (Qu-Chi 0.25)، کوئرستین درون پوشانی شده در نانو ذرات کیتوزان با دوز ۵/۰ گرم بر کیلوگرم غذا (Qu-Chi 0.5)، نانو ذرات کیتوزان (Chi NPs)

## بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه علاوه بر سنتز کوئرستین - کیتوزان به بررسی تاثیر کوئرستین عادی و کوئرستین درون پوشانی شده در نانو ذرات کیتوزان پس از ۶۰ روز تغذیه میگوی سفید غربی روی پارامترهای رشد و بازماندگی پرداخته شد.

### مشخصات نانو ذرات کیتوزان و کوئرستین درون پوشانی شده در نانو ذرات کیتوزان

به منظور سنتز نانو ذرات کیتوزان و کوئرستین درون پوشانی شده در نانو ذرات کیتوزان از روش ژل سازی یونی استفاده گردید. یافته‌های این بخش از مطالعه با نتایج مطالعات پیشین مطابقت داشت [۱۹ و ۲۰ و ۲۷ و ۲۸ و ۳۲]. Nan و همکاران در سال ۲۰۱۸ نیز کوئرستین را با استفاده از کیتوزان کپسوله کردند و علاوه بر بررسی کارایی انکپسولاسیون (۱/۶۶ ± ۹۰/۹۸ درصد) و محتوای بارگذاری (۱۳/۱۵ ± ۰/۷۷ درصد)، سایز هیدرودینامیکی نانوذرات کیتوزان ۸۹/۴۸ ± ۲/۰۳ و کوئرستین-کیتوزان ۱۸۳/۶۳ ± ۱/۵۲ نانومتر و پتانسیل زتا ۳۷ mV را گزارش کردند [۲۸]. Behzadi Tayemeh

و همکاران در سال ۲۰۲۰ در مطالعه ای با هدف افزایش زیست فراهمی، کوئرستین را توسط کیتوزان با روش انعقاد یونی کپسوله کردند. در این مطالعه از آنالیز DLS برای بررسی کوئرستین نانوکپسوله شده در کیتوزان استفاده شد. بعد از اینکه نمونه‌های سنتز شده سونیکت شد اندازه هیدرودینامیکی ۱۸۶/۶ نانومتر، پتانسیل زتا ۱۷/۵ میلی ولت و PDI ۰/۲۴۵ بود. از طرفی با استفاده از منحنی کالیبراسیون میزان کارایی انکپسولاسیون، ۰/۰۸ ± ۹۵/۳۸ درصد و همچنین محتوای بارگذاری برابر با ۱/۴۶ ± ۱۴/۰۷ درصد بود. همچنین مطالعه ای توسط Zhang و همکاران در سال ۲۰۰۸ بر روی امکان نانو کپسوله کردن کوئرستین به منظور افزایش حلالیت و پایداری در برابر عوامل محیطی توسط کیتوزان انجام شد. جهت نانوکپسوله کردن از روش انعقاد یونی توسط تری پلی فسفات استفاده گردید. نتایج نشان داد که کوئرستین از توان بالایی جهت کپسوله شدن با کیتوزان برخوردار است [۳۲]. در مطالعه Baksi و همکاران در سال ۲۰۱۸ به منظور فراهمی زیستی و پایداری کوئرستین از سامانه نانو درون پوشانی توسط کیتوزان استفاده شد. بدین منظور کوئرستین با روش انعقاد یونی در کیتوزان درون پوشانی گردید. کارایی درون پوشانی، اندازه نانوکپسول‌ها، شاخص PDI و پتانسیل زتای نانوکپسول‌های ساخته شده به ترتیب برابر ۸۰ درصد، ۲۰۰ نانومتر، ۰/۵ و پتانسیل زتا ۱۸ گزارش شد [۱۹]. نتایج نشان داد که کوئرستین از توان بالایی جهت درون پوشانی شدن با کیتوزان برخوردار است. مطابقت نتایج این پژوهش با مطالعات پیشین، پایداری و بهینه بودن کوئرستین - کیتوزان ساخته شده را نشان داد.

### بررسی رهایش دارو در محیط شبیه سازی شده

در این مطالعه به منظور بررسی چگونگی رهایش دارو از حامل کیتوزان، محیط شبیه سازی شده با بدن میگو در نظر گرفته شد و به طور کلی نتایج نشان داد که رهایش کوئرستین به صورت انفجاری بوده، بطوری که ۸۵ درصد دارو در دو ساعت اول رهایش پیدا کرده و در ۲۴ ساعت اول بیش از ۹۰ درصد رهایش پیدا کرد. درصد رهایش دارو در مدت زمان ۱۴۴ ساعت به بیش از ۹۳ درصد رسید. یافته های این تحقیق با نتایج Behzadi Taymeh و همکاران در سال ۲۰۲۰ و Baksi و همکاران در سال ۲۰۱۸ مطابقت داشت [۱۹ و ۲۷].

### رشد و بازماندگی

هدف از آبی پروری به حداکثر رساندن کارایی و بازده تولید برای افزایش سوددهی است. با توجه به اینکه بخش عمده ای از هزینه‌های پرورش میگو مربوط به تهیه غذا می‌باشد بهبود وضعیت تغذیه ای میگو منجر به سودمندتر شدن پرورش آن می‌شود بنابراین افزایش رشد از طریق به کار گیری مکمل‌های غذایی تاثیر چشمگیری بر بهینه سازی سود خواهد داشت. تحقیقات بسیار اندکی بر روی اثر کوئرستین در میگو انجام گرفته است و بیشتر مطالعات، مربوط به اثر کوئرستین معمولی و کوئرستین درون پوشانی شده در نانوذرات کیتوزان بر روی ماهی بوده است. نتایج حاصل از بررسی پارامترهای رشد بین تیمارهای مختلف نشان داد که افزودن Qu-Chi 0.5 گرم بر کیلوگرم غذا تفاوت معنی داری را در پارامترهای رشد و تغذیه و بازماندگی در مقایسه با تیمار کنترل و سایر تیمارهای آزمایشی ایجاد کرد و بیشترین میزان وزن نهایی، طول نهایی، افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه، افزایش طول بدن و میانگین رشد روزانه در تیمار Qu-Chi 0.5 گرم بر کیلوگرم غذا مشاهده شد و اختلاف معنی داری با سایر تیمارها نشان داد که این نتایج با نتایج مطالعات پیشین مطابقت دارد [۲۷ و ۳۲ و ۳۴ و ۳۵ و ۳۶]. در مطالعه حاضر پس از یک دوره پرورش ۶۰ روزه، تمام جیره‌های آزمایش استفاده شده تاثیر مثبتی بر پارامترهای رشد داشتند ولی میگوهایی که با جیره حاوی کوئرستین درون پوشانی شده در نانو ذرات کیتوزان با دوز ۰/۵ گرم بر کیلوگرم غذا تغذیه شده بودند نسبت به تیمار کنترل شاخص‌های رشد بهتری را نشان دادند. FCR پایین تر مربوط به تیماری بود که از جیره Qu-Chi 0.5 تغذیه کرده است که این نتایج مشابه نتایج مطالعه Behzadi Taymeh و همکاران در سال ۲۰۲۰ می باشد که نشان دادند که Qu-Chi باعث بهبود عملکرد رشد در ماهی زبرا (*Danio rerio*) شده است [۳۷]. Chen و همکاران در سال ۲۰۲۳ اثر تغذیه ای کوئرستین معمولی را بر عملکرد رشد و مقاومت به بیماری در میگوی سفید غربی مورد مطالعه قرار دادند. میگوها به مدت ۵۶ روز با جیره‌های غذایی حاوی کوئرستین با دوز ۰، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ گرم بر کیلوگرم غذا تغذیه شدند. نتایج نشان داد که کوئرستین سبب بهبود عملکرد

رشد در میگوها گردید و نیز میزان مرگ و میر میگوها بعد از چالش با ویروس لکه سفید کاهش یافت [۳۳]. Jia و همکاران در سال ۲۰۱۹ اثر کوئرتستین معمولی به میزان ۰/۴ و ۰/۸ درصد بر کیلوگرم غذا را بر عملکرد رشد ماهی دریایی بدون پوزه (*Megalobrama amblycephala*) به مدت ۸ هفته بررسی نمودند. نتایج نشان داد که کوئرتستین با غلظت بالا (دوز ۰/۸ درصد) سبب افزایش عملکرد رشد گردید [۳۴]. Zhai و Liu در سال ۲۰۱۴ اثر تغذیه کوئرتستین را بر عملکرد رشد، آنزیم های گوارشی و فعالیت آنتی اکسیدانی در هیپاتوپانکراس ماهی تیلایپای نیل (*Oreochromis niloticus*) به مدت ۴۹ روز با دوزهای ۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم غذا مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که افزایش رشد، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی در گروه های رژیم غذایی کوئرتستین در مقایسه با تیمار کنترل به طور معنی داری بهبود یافت و همچنین میزان بقا در تیمارهای کوئرتستین بهتر از تیمار کنترل بود [۱۶]. Shin و همکاران در سال ۲۰۱۰ اثر کوئرتستین به میزان ۰، ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد در جیره غذایی ماهی کفشک<sup>۸</sup> (*Paralichthys olivaceus*) را بر رشد و سطح کلسترول پلاسما در شرایط استرس اکسیداتیو ناشی از هایپواسموتیک به مدت ۳۰ و ۶۰ روز بررسی نمودند. نتایج نشان دهنده عملکرد بهتر رشد در تیمار ۰/۵ درصد بود [۳۶] و شاخص های رشد بطور معنی داری در تیمارهای کوئرتستین درون پوشانی شده در نانو ذرات کیتوزان و تیمار نانو ذرات کیتوزان افزایش یافت اما کوئرتستین معمولی تاثیر معنی داری بر پارامترهای رشد نداشت، بنابراین می توان نتیجه گرفت که افزایش شاخص های رشد در میگوی سفید غربی احتمالا به دلیل نانو ذرات کیتوزان است. در این راستا، در مطالعه ای که توسط Zaki و همکاران در سال ۲۰۱۵ روی تاثیر کیتوزان بر پارامترهای رشد ماهی باس دریایی انجام گرفت، نتایج نشان داد که کیتوزان در غلظت ۱ و ۲ گرم در کیلو گرم غذا، باعث افزایش عملکرد رشد در ماهی باس دریایی شد که علت این نتایج افزایش هضم و جذب غذا توسط کیتوزان ذکر گردید [۳۷]. Niu و همکاران در سال ۲۰۱۱ اثر تغذیه ای کیتوزان بر رشد *Litopenaeus vannamei* مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که کیتوزان سبب افزایش عملکرد رشد در میگوها گردید. کیتوزان در در جیره میگوی وانامی می تواند از طریق افزایش فرآیند پوست اندازی و بهبود هضم و جذب مواد غذایی رشد را تا حد زیادی افزایش دهد [۳۸]. در مطالعه دیگری توسط Abdel-Tawwab و همکاران در سال ۲۰۱۹، تاثیر نانو ذرات کیتوزان بر عملکرد رشد، فعالیت های آنتی اکسیدانی و ایمنی ماهی تیلایپای نیل مورد مطالعه قرار گرفت. ماهی ها به مدت ۴۵ روز با جیره های غذایی غنی شده با ۰، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ گرم بر کیلوگرم غذا تغذیه شدند. نتایج نشان داد که عملکرد رشد ماهی با افزایش مقدار نانو ذرات کیتوزان به مقدار ۱ گرم بر کیلوگرم غذا نسبت به جیره شاهد به طور قابل توجهی بهبود یافت [۳۹]. Sun و همکاران در سال ۲۰۱۶ اثر حفاظتی نانو ذرات کیتوزان در خرچنگ (*Procambarus clarkia*) را در برابر ویروس سندرم لکه سفید مورد مطالعه قرار دادند. خرچنگ ها به مدت سه هفته با دوزهای ۱، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم نانو ذرات کیتوزان بر گرم غذا تغذیه شدند. نتایج نشان داد که نانو ذرات کیتوزان می توانند میزان بازماندگی خرچنگ در معرض سندرم لکه سفید را افزایش دهند. در خرچنگ های تغذیه شده با دوز ۱۰ میلی گرم نانو ذرات کیتوزان بر گرم غذا در مقایسه با گروه کنترل نرخ بازماندگی افزایش یافت [۴۰]. Abd El-Naby و همکاران در سال ۲۰۱۹ تاثیر نانو ذرات کیتوزان را بر شاخص های رشد ماهی *Oreochromis niloticus* بررسی کردند و نتایج نشان داد که نانو ذرات کیتوزان باعث بهبود شاخص های رشد در ماهی شد که احتمال داده می شود افزایش رشد توسط نانو ذرات کیتوزان می تواند به دلیل افزایش هضم و جذب غذا و افزایش فعالیت آنزیم های درگیر در هضم و جذب باشد [۴۱].

### نتیجه گیری نهایی

در مجموع نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از کوئرتستین درون پوشانی شده در نانو ذرات کیتوزان با دوز ۰/۵ گرم بر کیلوگرم غذا در مقایسه با کوئرتستین معمولی اثرات مثبتی بر عملکرد مربوط به رشد و بازماندگی دارد و می توان آن را به عنوان یک مکمل غذایی مناسب در رژیم غذایی میگوی سفید غربی پیشنهاد نمود.

<sup>8</sup> Olive flounder

## تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله، مراتب تشکر و قدردانی خود را از مدیریت محترم کارگاه تکثیر میگوی رثوفی جهت همکاری بی دریغ و هماهنگی‌های لازم در خصوص در اختیار قرار دادن مکان، وسایل و تجهیزات لازم و تهیه میگو مورد نیاز این پژوهش و همچنین از همکاری کارشناسان آزمایشگاه‌های دانشکده علوم و فنون دریایی دانشگاه هرمزگان و کارشناسان آزمایشگاه مرکزی دانشگاه هرمزگان ابراز می نمایند.

**تاییدیه اخلاقی:** موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

**تعارض منافع:** موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

## منابع

- [1] Sarhadi S, sourinezhad I, Gozari M. Evaluation of antimicrobial activity of a combination of bacteria from farmed Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* Boone, 1931, in vitro and in vivo phases. JFST 2024; 13 (3):97-111
- [2] Shahifar A, Ghasemi Z, Shahifar R. Extraction of chitosan from the *Penaeus vannamei* shrimp shell and investigation of its effects on quality preservation of the grape and strawberry fruits during storage. JFST 2024; 13 (1): 10
- [3] Liu, F., Li, S., Yu, Y., Sun, M., Xiang, J., Li, F., Effects of ammonia stress on the hemocytes of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Chemosphere. (2020) 239, pp. 1-12.
- [4] Muralisankar, T., Kalaivani, P., Thangal, S. H., Santhanam, P, Growth, biochemical, antioxidants, metabolic enzymes and hemocytes population of the shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to acidified seawater. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology. (2021) 239, 108843.
- [5] FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture - Meeting the sustainable development Goals. (2018) PP. 23 (Rome).
- [6] Amoah, K., Huang, Q. C., Dong, X. H., Tan, B. P., Zhang, S., Chi, S. Y., Yang, Y. Z., *Paenibacillus polymyxa* improves the growth, immune and antioxidant activity, intestinal health, and disease resistance in *Litopenaeus vannamei* challenged with *Vibrio parahaemolyticus*. Aquaculture. (2020) 518, 734563.
- [7] FAO/FishStatJ. Fishery and Aquaculture Statistics. Global aquaculture production 1950-2020 (FishStatJ). FAO Fisheries and Aquaculture Division. (2023).
- [8] Verdegem, M., Buschmann, A. H., Latt, U. W., Dalsgaard, A. J., Lovatelli, A., The contribution of aquaculture systems to global aquaculture production. Journal of the World Aquaculture Society. (2023) 54(2), 206-250.
- [9] He, W., Rahimnejad, S., Wang, L., Song, K., Lu, K., Zhang, C, Effects of organic acids and essential oils blend on growth, gut microbiota, immune response and disease resistance of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) against *Vibrio parahaemolyticus*. Fish & shellfish immunology. (2017) 70, 164-173.
- [10] Li, E., Wang, X., Chen, K., Xu, C., Qin, J. G., Chen, L, Physiological change and nutritional requirement of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* at low salinity. Reviews in Aquaculture. (2017) 9(1), 57-75.

- [11] Zheng, X., Duan, Y., Dong, H., Zhang, J, Effects of dietary *Lactobacillus plantarum* in different treatments on growth performance and immune gene expression of white shrimp *Litopenaeus vannamei* under normal condition and stress of acute low salinity. *Fish & shellfish immunology*. (2017) 62, pp.195-201.
- [12] Khan, M. S., Maqsd, M. S., Akmal, H., Umar, A., Toxicity of silver nanoparticles in the aquatic system. In *Green Synthesis of Silver Nanomaterials*. (2022) pp. 627-647.
- [13] Bhoopathy, S., Inbakandan, D., Rajendran, T., Chandrasekaran, K., Reddy, B. A., Kasilingam, R., Dharani, G, Dietary supplementation of curcumin-loaded chitosan nanoparticles stimulates immune response in the white leg shrimp *Litopenaeus vannamei* challenged with *Vibrio harveyi*. *Fish & Shellfish Immunology*. (2021) 117, 188-191.
- [14] Wang, J., Zhang, C., Zhang, J., Xie, J., Yang, L., Xing, Y., Li, Z., The effects of quercetin on immunity, antioxidant indices, and disease resistance in zebrafish (*Danio rerio*). *Fish physiology and biochemistry*. (2020) 46(2), pp.759-770.
- [15] Zhang, J. L., Souders II, C. L., Denslow, N. D., Martyniuk, C. J., Quercetin, a natural product supplement, impairs mitochondrial bioenergetics and locomotor behavior in larval zebrafish (*Danio rerio*). *Toxicology and applied pharmacology*. (2017) 327, pp. 30-38.
- [16] Liu, S. L., Zhai, S. W., Effects of dietary quercetin on the growth performance, digestive enzymes and antioxidant potential in the hepatopancreas of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, (2014) 66, pp.1-7.
- [17] Madiha, S., Batool, Z., Tabassum, S., Liaquat, L., Sadir, S., Shahzad, S., Haider, S, Quercetin exhibits potent antioxidant activity, restores motor and non-motor deficits induced by rotenone toxicity. *Plos one*. (2021) 16(11), e0258928.
- [18] Rostami, M., Yousefi, M., Khezerlou, A., Mohammadi, M. A., Jafari, S. M., Application of different biopolymers for nanoencapsulation of antioxidants via electrohydrodynamic processes. *Food Hydrocolloids*. (2019) 97, pp. 1-14.
- [19] Baksi, R., Singh, D. P., Borse, S. P., Rana, R., Sharma, V., Nivsarkar, M., In vitro and in vivo anticancer efficacy potential of Quercetin loaded polymeric nanoparticles. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. (2018) 106, pp. 1513-1526.
- [20] Nalini, T., Basha, S. K., Sadiq, A. M. M., Kumari, V. S., Kaviyarasu, K., Development and characterization of alginate/chitosan nanoparticulate system for hydrophobic drug encapsulation. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, (2019) 52, pp. 65-72.
- [21] Jin, A., Wang, Y., Lin, K., Jiang, L., Nanoparticles modified by polydopamine: Working as “drug” carriers. *Bioactive materials*, (2020) 5(3), pp. 522-541.
- [22] Nayak, A. K., Ahmad, S. A., Hasnain, M. S, Chitosan-based nanoparticles in drug delivery. In *Chitosan in Drug Delivery*, (2022) pp. 55-82.
- [23] Pisoschi, A. M., Pop, A., Cimpeanu, C., Turcuş, V., Predoi, G., Iordache, F., Nanoencapsulation techniques for compounds and products with antioxidant and antimicrobial activity-A critical view. *European journal of medicinal chemistry*. (2018) 157, pp.1326-1345.
- [24] Wang, H., Yang, Z., He, Z., Zhou, C., Wang, C., Chen, Y. Li, P., Self-assembled amphiphilic chitosan nanomicelles to enhance the solubility of quercetin for efficient delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. (2019) 179, pp. 519-526.
- [25] Akbari-Alavijeh, S., Shaddel, R., Jafari, S. M, Encapsulation of food bioactives and nutraceuticals by various chitosan-based nanocarriers. *Food Hydrocolloids*. (2020) 105, 105774.

- [26] Wu, Y., Rashidpour, A., Almajano, M. P., Metón, I, Chitosan-based drug delivery system: Applications in fish biotechnology. *Polymers*. (2020) 12(5), 1177.
- [27] Tayemeh, M. B., Kalbassi, M. R., Paknejad, H., Joo, H. S., Dietary nanoencapsulated quercetin homeostated transcription of redox-status orchestrating genes in zebrafish (*Danio rerio*) exposed to silver nanoparticles. *Environmental research*. (2020) 185, pp. 1-9.
- [28] Nan, W., Ding, L., Chen, H., Khan, F. U., Yu, L., Sui, X., Shi, X., Topical use of quercetin-loaded chitosan nanoparticles against Ultraviolet B radiation. *Frontiers in pharmacology*, (2018) 9, pp. 1-11.
- [29] Hosseini, S. F., Zandi, M., Rezaei, M., Farahmandghavi, F, Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: preparation, characterization and in vitro release study. *Carbohydrate polymers*. (2013) 95(1), 50-56.
- [30] Ghafarifarsani, H., Hoseinifar, S. H., Javahery, S., Van Doan, H., Effects of dietary vitamin C, thyme essential oil, and quercetin on the immunological and antioxidant status of common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*. (2022) 553, 738053.
- [31] Veisi, S., Johari, S. A., Tyler, C. R., Mansouri, B., Esmailbeigi, M., Antioxidant properties of dietary supplements of free and nanoencapsulated silymarin and their ameliorative effects on silver nanoparticles induced oxidative stress in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Environmental Science and Pollution Research*. (2021) 28, 26055-26063.
- [32] Zhang, Y., Yang, Y., Tang, K., Hu, X., Zou, G., Physicochemical characterization and antioxidant activity of quercetin-loaded chitosan nanoparticles. *Journal of Applied Polymer Science*. (2008) 107(2), pp. 891-897.
- [33] Chen, Z., Fan, D., Pan, L., Su, C., Ding, Y., Lu, M, Study of effects of dietary quercetin (Que) on growth performance and disease resistance mechanism of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*. (2023) 563, 738887.
- [34] Jia, E., Yan, Y., Zhou, M., Li, X., Jiang, G., Liu, W., Zhang, D., Combined effects of dietary quercetin and resveratrol on growth performance, antioxidant capability and innate immunity of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*). *Animal Feed Science and Technology*. (2019) 256, pp. 1-11.
- [35] Xu, Z., Regenstein, J. M., Xie, D., Lu, W., Ren, X., Yuan, J., Mao, L., The oxidative stress and antioxidant responses of *Litopenaeus vannamei* to low temperature and air exposure. *Fish & Shellfish Immunology*. (2018) 72, pp. 564-571.
- [36] Shin, H. S., Yoo, J. H., Min, T. S., Lee, K. Y., Choi, C. Y., The effects of quercetin on physiological characteristics and oxidative stress resistance in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. (2010) 23(5), pp. 588-597.
- [37] Zaki, M. A., Salem, M. E. S., Gaber, M. M., Nour, A. M., Effect of chitosan supplemented diet on survival, growth, feed utilization, body composition & histology of sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *World Journal of Engineering and technology*. (2015) 3(4), PP. 38-47.
- [38] Niu, J., Liu, Y. J., Lin, H. Z., Mai, K. S., Yang, H. J., Liang, G. Y., TIAN, L. X., Effects of dietary chitosan on growth, survival and stress tolerance of postlarval shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition*. (2011) 17(2), PP. 406-412.
- [39] Abdel-Tawwab, M., Razek, N. A., Abdel-Rahman, A. M, Immunostimulatory effect of dietary chitosan nanoparticles on the performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Fish & shellfish immunology*. (2019) 88, 254-258.

- [40] Sun, B., Quan, H., Zhu, F, Dietary chitosan nanoparticles protect crayfish *Procambarus clarkii* against white spot syndrome virus (WSSV) infection. *Fish & Shellfish Immunology*. (2016) 54, 241-246.
- [41] Abd El-Naby, F. S., Naiel, M. A., Al-Sagheer, A. A., Negm, S. S, Dietary chitosan nanoparticles enhance the growth, production performance, and immunity in *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*. (2019) 501, 82-89.

## The Effect of a Diet Supplemented with Nanoencapsulated Quercetin Using Chitosan Nanoparticles on Growth Performance and Survival in Pacific White Shrimp (*Penaeus vannamei*)

Vahideh Abdi<sup>1</sup>, Iman Sourinejad<sup>1</sup>, Zahra Ghasemi<sup>1\*</sup>, Seyed Ali Johari<sup>2</sup>

1- Department of Fisheries, Faculty of Marine, Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran

2- Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

### ABSTRACT

Quercetin is a flavonoid found abundantly in plants, attracting interest for its antioxidant properties. This study aimed to assess and compare the effects of both free and nano-encapsulated quercetin on growth indices and survival in *Penaeus vannamei*. Quercetin-loaded nanoparticles (Qu-ChiNPs) were prepared using the ionic gelation method, with their characteristics determined by dynamic light scattering (DLS). Results indicated that the hydrodynamic size and zeta potential of Qu-ChiNPs were 160.1 nm and 33.8 mV, respectively, and the in vitro drug release from Qu-ChiNPs showed a burst release during the initial period. For the feeding trial, shrimp weighing an average of  $2.27 \pm 0.18$  g were divided into five groups, each receiving one of five diets: a basic diet without quercetin, a control diet with Qu-Chi and chitosan nanoparticles, and diets supplemented with 0.5 g quercetin, 0.25 g Qu-Chi, 0.5 g Qu-Chi, and 0.5 g chitosan nanoparticles per kg of diet. Each group consisted of three replicates, with 50 shrimp per replicate. After a 2-month feeding period, results showed that shrimp fed with 0.5 g Qu-Chi exhibited higher final weight (Wf), weight gain (WG), and mean daily weight gain (ADG) compared to other treatments ( $P < 0.05$ ). However, there were no significant differences in survival rate (SR) among the treatments. These findings suggest that incorporating 0.5 g of Qu-Chi into the diet may positively affect the growth performance and survival of *Penaeus vannamei*.

**KEYWORDS:** Quercetin, Nano-encapsulation, Chitosan, Growth, *Penaeus vannamei*

### ARTICLE TYPE

Original Research

### ARTICLE HISTORY

Received: 05 August 2024

Accepted: 11 October 2024

ePublished: 05 November 2024

\* Corresponding Author:

Email address: z.ghasemi@hormozgan.ac.ir

Tel: 07633711000

© Published by Tarbiat Modares University

ISSN: 2322-5513