

مقایسه ترکیبات شیمیایی، پروفیل اسیدهای چرب، ویتامین‌های E و D در کبد فیل ماهی پرورشی و دریای خزر

زینب رضی کاظمی^{۱*}، محمد پور کاظمی^۲، ابوالحسن علوی^۱، محمود محسنی^۳

۱- گروه مهندسی شیمی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۴۵۱۵/۷۷۵

۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، تهران، ایران، صندوق پستی: ۶۱۱۶-۱۴۱۵۵

۳- موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، رشت، ایران، صندوق پستی: ۴۱۶۳۵-۳۴۶۴

تاریخ دریافت: ۵ مرداد ۱۳۹۳

تاریخ پذیرش: ۱۱ آذر ۱۳۹۳

چکیده

در این تحقیق ترکیبات شیمیایی، پروفیل اسید چرب و همچنین مقادیر ویتامین‌های محلول در چربی شامل ویتامین E (آلفاتوکوفرول، بتا و گاما توکوفرول، دلتاتوکوفرول) و ویتامین D در کبد فیل ماهی (*Huso huso*) دریای خزر و فیلماهی پرورشی مورد بررسی قرار گرفت. در این راستا ۴ نمونه کبد فیل ماهی بالغ پرورشی (شرکت قرق طالش-استان گیلان) و ۴ نمونه کبد از فیل ماهی بالغ دریای خزر جمع‌آوری گردید. ترکیبات شیمیایی، کلسیم، فسفر، پروفیل اسیدهای چرب، ویتامین E و ویتامین D با استفاده از روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شد. میزان متوسط درصد رطوبت، خاکستر، پروتئین، چربی کل، فسفر و کلسیم در کبد فیل ماهیان پرورشی به ترتیب 72.1 ± 0.68 ، 1.36 ± 0.08 ، 1.79 ± 0.09 ، 1.81 ± 0.07 ، 0.72 ± 0.07 ، 0.76 ± 0.02 اندازه‌گیری و ثبت گردید. در حالی که این میزان در نمونه‌های دریایی به ترتیب 62.36 ± 0.56 ، 1.13 ± 0.13 ، 1.26 ± 0.13 ، 1.06 ± 0.04 ، 1.58 ± 0.09 ، 0.57 ± 0.19 بود. از ۲۰ متیل استر اسیدهای چرب (C_{12} الی C_{22}) میانگین هفت اسید چرب بین نمونه‌های پرورشی و دریایی دارای اختلاف معنی‌دار ($P \leq 0.05$) بود. اسید چرب اشباع $C_{16:0}$ و مونو اسید چرب غیر اشباع $C_{18:1}$ با مقدار قابل توجهی در هر دو نمونه دریایی و پرورشی یافت شدند. در نمونه‌های پرورشی و دریایی مقدار امگا-۳ ($n-3$) به ترتیب 6.70 ± 0.97 و 6.97 ± 0.97 مقدار امگا-۶ ($n-6$) به ترتیب 15.71 ± 3.64 و 3.64 ± 3.64 بود. میزان آلفاتوکوفرول، در نمونه پرورشی و دریایی به ترتیب (1.05 ± 0.21) ، (1.04 ± 0.21) (میلی گرم بر کیلو گرم)، بتا و گاما توکوفرول (0.15 ± 0.21) ، (0.058 ± 0.041) (میلی گرم بر کیلو گرم) و دلتاتوکوفرول (0.058 ± 0.040) ، (0.058 ± 0.040) (میلی گرم بر کیلو گرم) و میزان ویتامین D در هر دو نمونه ناچیز بود. با توجه به مقادیر مناسب ویتامین E و امگا-۳ می‌توان نتیجه‌گیری نمود که کبد فیل ماهی حتی در نمونه‌های پرورشی دارای ارزش غذایی و دارویی بوده و می‌توان با استخراج صنعتی آن ضمن تولید فرآورده‌های دارویی، موجب ارتقا ارزش افزوده محصولات شیلاتی و کمک موثر در کاهش آلودگی‌های زیست محیطی شد.

کلمات کلیدی: فیل ماهی، کبد، پروفیل اسید چرب، ویتامین E.

مقدمه

چربی‌ها ترکیبات مهمی در بدن ماهی‌ها هستند که منبع تولید انرژی و اسیدهای چرب ضروری برای بدن به‌شمار می‌روند. چربی ماهی‌ها به‌عنوان منبع غنی از زنجیره بلند اسید چرب امگا ۳ (n-3) شناخته شده است (GülHarlioğlu, 2012).

اسیدهای چرب امگا ۳ خانواده‌ای از اسیدهای چرب اشباع نشده هستند که اولین پیوند دوگانه آن‌ها بین سومین و چهارمین کربن در زنجیره کربنی قرار گرفته و موادی ضروری برای تنظیم فعالیت بدن انسان هستند. بدن انسان توانایی ساخت و سنتز اسیدهای چرب n-۳ را از مولکول‌های دیگر ندارد. مطالعات نشان می‌دهد افرادی که از ماهی به‌عنوان منبع امگا ۳ استفاده می‌کنند کمتر دچار بیماری‌های قلبی می‌شوند (Shahidi and Miraliakbari, 2004; Innis, 2004; Khoddami et al., 2012).

روغن ماهی شامل دو اسید چرب مهم ایکوزا پنتانوئیک اسید (C20:5 n-3, EPA) و دوکوزا هگزانوئیک اسید (C22:6 n-3, DHA) است که آن را از روغن موجود در بافت‌های سایر حیوانات و همچنین روغن‌های گیاهی متمایز می‌کند (Jittrepotch et al., 2006). ماهی یکی از مهم‌ترین منابع ویتامین‌هاست (Cahu et al., 2004). ویتامین E یکی از ویتامین‌های محلول در چربی است که نقش آن حفاظت از موجودات زنده در برابر اکسیداسیون چربی است. این ویتامین مانند ویتامین C نقش آنتی‌اکسیدانی دارد و مانع تجمع پلاکت‌ها در بدن نیز می‌شود (Wang et al., 2000; Zimmer et al., 1993).

ویتامین E شامل هشت فرم است و در طبیعت به چهار توکوفرول و چهار توکوترینول تقسیم می‌شود که

فعالیت آلفاتوکوفرول ویتامین E در حیوانات بسیار بیشتر از سایر فرم‌هاست (Hamreh, 2011).

بنابراین ماهی منبع مناسبی از اسیدهای چرب ضروری و ویتامین‌ها است ولی مقادیر بسیار پایین از اسیدهای چرب اشباع و کلسترول را هم دارد (Stancheva et al., 2010).

کبد مهم‌ترین ارگان ذخیره‌سازی چربی در ماهی است (Kozlova, 1998). در میان انواع ماهی‌های موجود در دنیا ماهیان خاویاری به دلایلی نظیر جثه بزرگ، سهولت در صید، گوشت بسیار لذیذ و خاویار مطبوع و بی‌نظیر و غنی از پروتئین و اسیدهای چرب اشباع نشده، خصوصاً اسیدهای چرب گروه امگا ۳ همواره به‌عنوان گونه‌های با ارزش تجاری، اقتصادی و شیلاتی مورد توجه بوده‌اند (Peter, 2000).

فیل ماهی یکی از باارزش‌ترین ماهیان خاویاری در ایران است (Ovissipour and Rasco, 2011). تاکنون بیشترین مطالعه و بهره‌برداری از فیل ماهی جهت تولید و استفاده از گوشت و خاویار بوده و در مورد سایر اجزای بدن آن از قبیل روده، سر، کبد و... که ممکن است منبع غنی از امگا ۳ و ویتامین‌ها باشند گزارشات اندکی منتشر شده است. این تحقیق به‌منظور تعیین ارزش غذایی و دارویی کبد با تاکید بر اسیدهای چرب و ویتامین‌های محلول در چربی (A و D) انجام شده و با توجه به کاهش شدید ذخایر فیلماهی در دریای خزر و روند نزولی صید آن، کبد فیل ماهی دریایی با کبد فیلماهی بالغ پرورشی مورد مقایسه قرار گرفته است. بدون شک با بهره‌برداری بهینه از انواع بافت و اندام‌های مختلف تاسماهیان، ضمن تولید فرآورده‌های دارویی، غذایی و همچنین افزایش درآمد صیادان و پرورش‌دهندگان ماهی و ارتقاء بهره-

وری، سبب کاهش آلودگی‌های زیست محیطی، از ورود پسماندها و ضایعات شیلاتی به اکوسیستم‌های طبیعی جلوگیری می‌گردد.

مواد و روش‌ها

۴ نمونه کبد مولد فیل ماهی دریایی صید شده در دریای خزر (ناحیه ۴- استان گلستان) و ۴ نمونه کبد فیل ماهی بالغ پرورشی (از مرکز پرورش ماهی خاویاری قرق تالش استان گیلان) جمع‌آوری شدند. میانگین طول کل (سانتی‌متر)، وزن شکم پر (کیلوگرم)، وزن شکم خالی (کیلوگرم) و وزن کبد (گرم) فیل ماهیان پرورشی به ترتیب (۱۷۶، ۳۲/۷۵، ۲۶، ۲۲۶/۷) و فیل ماهیان دریایی به ترتیب (۲۸۷/۵، ۲۰۱/۲۵، ۱۶۴/۲۵، ۲۰۱۵) بود و نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش در فریزر نگهداری شدند. مقادیر متوسط رطوبت، خاکستر، پروتئین، چربی کل و فسفر به ترتیب با دستگاه‌های آون (Heareus)، کوره الکتریکی (Lenton) با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد، کج‌لدا، سوکسله و اسپکتوفتومتر، بر مبنای روش‌های استاندارد (AOAC, 1995) و (ISO, 1970) تعیین گردید.

برای اندازه‌گیری میزان کلسیم نیز از روش استاندارد (AOAC, 1995) استفاده شد. جهت استخراج روغن از کبد ماهی، ابتدا نمونه‌های کبد را از فریزر خارج نموده تا کاملاً از حالت انجماد خارج شوند. ۵ گرم نمونه بافت کبد را با دقت وزن نموده و ۲۰ سی‌سی متانول به آن اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه هم‌زده شد. سپس ۲۰ سی‌سی هگزان به آن اضافه کرده و با دور ۲۵۰۰ به مدت ۲-۳ دقیقه سائتریفیوژ شدند. محلول بالایی (روغن کبد) که رنگ آن روشن‌تر است با دقت جدا نموده سپس به ۱ قطره از روغن کبد استخراج

شده ۲ سی‌سی پتاس متانولی ۲ مولار و ۲ سی‌سی نرمال هگزان (مرحله متیلاسیون) اضافه نموده و به مدت ۱۰-۵ دقیقه با مخلوط کن یا ورتکس هم‌زده شد. از فاز بالایی به میزان یک میکرولیتر برای تزریق در دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC) شرکت YOUNGLIN استفاده شد. در قسمت دتکتور فشار گاز هیدروژن ۴۰ میلی‌لیتر بر دقیقه، فشار هوا ۴۵۰ میلی‌لیتر بر دقیقه و دما ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد (AOCS, 1998).

برای اندازه‌گیری ویتامین E از دستگاه HPLC ساخت شرکت YOUNGLIN و دتکتور UV Visible استفاده گردید. اندازه‌گیری ویتامین D با استفاده از دستگاه HPLC ساخت شرکت Waper انجام گرفت. برای آنالیز آماری از T test با نرم افزار SPSS و Excell با احتمال ($P \leq 0.05$) استفاده شد.

نتایج

میزان متوسط درصدهای رطوبت، خاکستر، پروتئین، چربی کل، فسفر و کلسیم در کبد فیل ماهیان پرورشی به ترتیب 72.1 ± 0.68 ، 1.36 ± 0.08 ، 0.72 ± 0.07 ، 8.75 ± 1.18 ، 7.79 ± 2.93 و 0.76 ± 0.02 ، اندازه‌گیری و ثبت گردید. در حالی که این میزان در نمونه‌های دریایی به ترتیب 62.36 ± 6.56 ، 1.26 ± 0.13 ، 0.57 ± 0.15 ، 15.85 ± 4.09 ، 11.06 ± 3.84 و 0.79 ± 0.19 بود و اختلاف معنی‌داری ($P \geq 0.05$) بین نمونه‌های پرورشی و ماهیان صید شده در دریای خزر وجود نداشت. از ۲۰ متیل استر اسیدهای چرب (C_{12} الی C_{22}) میانگین هفت اسید چرب $C_{16}:1$ ، $C_{15}:0$ ، $C_{12}:0$ ، $C_{17}:0$ ، $C_{17}:1$ ، $C_{20}:0$ و $C_{22}:5n:3$ بین نمونه‌های پرورشی و دریایی دارای اختلاف معنی‌دار ($P \leq 0.05$) بود.

جدول ۱: مقایسه پروفیل اسید چرب روغن استخراج شده از کبد

فیل ماهی پرورشی و دریایی (میانگین $\pm$ SD)

پارامتر	فیل ماهی دریایی (N=۴)	فیل ماهی پرورشی (N=۴)
C ₁₂ :0	۰/۱۹ $\pm$ ۰/۰۸ ^b	۱/۲۶ $\pm$ ۰/۰۹ ^a
C ₁₃ :0	۰/۲۹ $\pm$ ۰/۱۲ ^a	۰/۰۷۹ $\pm$ ۰/۰۶۲ ^a
C ₁₄ :0	۰/۰۲۴ $\pm$ ۰/۰۲۸ ^a	۰/۱۲۶ $\pm$ ۰/۰۰۹ ^a
C ₁₅ :AnteIso	۰/۴۱ $\pm$ ۰/۰۸ ^b	۱/۳۸ $\pm$ ۰/۵۲ ^a
C ₁₆ :0	۱۷/۰۵ $\pm$ ۲/۲۳ ^a	۱۷/۵۹ $\pm$ ۲/۰۶ ^a
C ₁₆ :1-C ₁₇ :0	۰/۷۵ $\pm$ ۰/۲۳ ^a	۱/۲۶ $\pm$ ۰/۴۶ ^a
C ₁₆ :1	۱/۴۱ $\pm$ ۰/۲۳ ^b	۶/۵۸ $\pm$ ۱/۴۲ ^a
C ₁₇ :0	۰/۴۶ $\pm$ ۰/۲۵ ^b	۱/۱۷ $\pm$ ۰/۲۱ ^a
C ₁₇ :1	۰/۲۹ $\pm$ ۰/۰۷ ^b	۲/۲۵ $\pm$ ۰/۵۶ ^a
C ₁₈ :0	۵/۳ $\pm$ ۱/۷ ^a	۲/۹۴ $\pm$ ۰/۵۳ ^a
C ₁₈ :1n:9	۳۵/۹۶ $\pm$ ۵/۴۹ ^a	۳۱/۴۲ $\pm$ ۰/۱۸ ^a
C ₁₈ :2n:6	۱۳/۵۴ $\pm$ ۲/۲۵ ^a	۱/۳۰ $\pm$ ۰/۲۸ ^a
C ₂₀ :0	۰/۴۶ $\pm$ ۰/۷۳ ^a	۰/۰۶۴ $\pm$ ۰/۰۵۴ ^b
C ₁₈ :3n:3	۱/۵۸ $\pm$ ۰/۵۱ ^a	۰/۴۴ $\pm$ ۰/۳۱ ^a
C ₂₀ :1	۰/۸۸ $\pm$ ۰/۰۶۱ ^a	۰/۷۵ $\pm$ ۰/۰۶۹ ^a
C ₂₀ :4 n:6(AA)	۲/۱۸ $\pm$ ۱/۱ ^a	۲/۳۴ $\pm$ ۰/۸۸ ^a
C ₂₀ :5 n:3(EPA)	۱/۰۲ $\pm$ ۰/۰۶۳ ^a	۱/۹ $\pm$ ۰/۷۶ ^a
C ₂₂ :4	۰/۱۹ $\pm$ ۰/۱۴ ^a	۰/۵۸ $\pm$ ۰/۴۰ ^a
C ₂₂ :5n:3(DPA)	۰/۲۹ $\pm$ ۰/۲۲ ^b	۱/۷ $\pm$ ۰/۰۶۷ ^a
C ₂₂ :6n:3(DHA)	۳/۸ $\pm$ ۲/۴۸ ^a	۲/۸۸ $\pm$ ۰/۵۸ ^a
Total n-6	۱۵/۷۱	۳/۶۴
Total n-3	۶/۶۹	۶/۹۱
n-3/n-6	۰/۴۲	۱/۹۰
SAFA	۲۴/۹	۲۵/۸۶
PUFA	۲۲/۶	۱۱/۱۴
MUFA	۳۸/۵۴	۳۴/۴۲
HUFA	۷/۲۹	۸/۸۲

*اعدادی که در هر ردیف دارای حروف مشابه هستند فاقد اختلاف آماری معنی دار می باشند.

میزان آلفا توکوفرول، در نمونه پرورشی و دریایی به ترتیب (۱/۰۵ $\pm$ ۰/۰۴، ۱/۰۴ $\pm$ ۰/۰۲۱) (میلی گرم بر کیلو گرم)، بتا و گاماتوکوفرول (۰/۰۵۸ $\pm$ ۰/۰۴۱ و ۰/۱۵ $\pm$ ۰/۰۲۱)

(میلی گرم بر کیلو گرم) و دلتا توکوفرول (۰/۰۵۸ $\pm$ ۰/۰۴۰، ۰/۰۵۸ $\pm$ ۰/۰۵۶) (میلی گرم بر کیلو گرم) و ویتامین D در هر دو نمونه ناچیز بود.

بحث

کبد در تمام مهره داران یافت می شود. شکل آن، به طور قابل توجهی در گونه های مختلف متفاوت است و تا حد زیادی با شکل و ترتیب اندام های اطراف تعیین و در اکثر گونه ها به لوب راست و چپ تقسیم می شود. ساختار داخلی کبد در تمام مهره داران مشابه است. این اندام نقش های متعددی در بدن دارد. کبد در بدن ماهی مانند دیگر مهره داران بزرگ ترین ارگان بدن بوده و به صورت یک کارخانه و محل ذخیره سازی عمل می کند. برای مثال، مواد قندی پس از هیدرولیز در روده و انتقال به کبد، مجدداً به شکل ذخیره ای خود یعنی گلیکوژن در آمده و در آن ذخیره می گردند. در بعضی از ماهیان مانند ماهی کاد (Cod) یا هالیبوت (Halibut)، کبد محل ذخیره چربی بوده، مقدار قابل توجهی چربی در آن جمع و ذخیره می شود (رضوی شیرازی، ۱۳۸۰). ترکیبات شیمیایی کبد فیل ماهی دریایی و پرورشی با سایر مطالعات انجام شده روی کبد ماهی هالیبوت، تن (Euthynnu saffinis) و ساردین (Sardinella lemuru) مطابقت داشت (Pugsley, 1939; Khoddami et al., 2012; Khoddami et al., 2009).

میزان کلسیم در کبد فیل ماهی پرورشی و دریایی به ترتیب (۰/۷۶ $\pm$ ۰/۰۲) و (۰/۷۹ $\pm$ ۰/۰۱۹) درصد بود و با نتایج مطالعات قبلی برای گوشت گربه ماهی (Cat fish)، کاد، سالمون (Salmon)، هرینگ (Herring) و هالیبوت مطابقت داشت. درصد فسفر در کبد فیل ماهی مطابق با میزان فسفر موجود در گوشت گونه های Lates

Oreochromis niloticus و *Bagrus bayad niloticus* بود (Elagba et al., 2010).

C_{16:0} بالاترین مقدار را در بین اسیدهای چرب اشباع شده در هر دو نمونه دریایی و پرورشی دارا بود. مقدار بالای پالمیتیک اسید (C_{16:0}) در کبد ماهی‌های تن و ساردین، گوشت فیل ماهی پرورشی و خاویار فیل ماهی پرورشی و دریایی مشاهده شد (Khoddami et al., 2012; Khoddami et al., 2009; Ghomi et al., 2013; Ovissipour and Rasco, 2012).

میزان اولئیک اسید (C_{18:1 n-9}) در کبد قابل توجه بود. بر اساس مطالعات قبلی نیز C_{18:1 n-9} رایج‌ترین مونو اسید چرب موجود در بافت‌های مختلف در ماهیان خاویاری و سایر ماهیان است (Czesny et al., 2000; Mol and Turan, 2008; Ashton et al., 1993; Gallagher et al., 1998).

نتایج این مطالعه نشان داد مقدار مونواسیدهای چرب در نمونه‌های دریایی بیشتر از نمونه‌های پرورشی بود. مقدار لینولئیک اسید (C_{18:2 n-6}) در نمونه‌های پرورشی بیشتر از نمونه‌های دریایی بود. این نتیجه همچنین در پروفیل چربی خاویار فیل ماهی مشاهده شد که به چربی موجود در جیره غذایی مصرفی ماهی بستگی دارد (Ovissipour and Rasco, 2011).

حسینی و همکاران (۲۰۱۰) تاثیر سه جیره غذایی شامل روغن ماهی، روغن سویا و روغن کانولا روی پروفیل اسید چرب بافت ماهیچه فیل ماهی را مورد مقایسه قرار دادند و بیان فرمودند پروفیل اسید چرب ماهیچه ماهیانی که در جیره غذایی از روغن ماهی برای آن‌ها استفاده شد، مونواسید چرب بیشتری نسبت به روغن سویا دارد. انتخاب منبع چربی جیره مهم است و استفاده از روغن آفتاب‌گردان به جای روغن ماهی در جیره، باعث زیاد شدن مقدار لینولئیک اسید در بافت ماهیچه بلوگا

می‌گردد (Hosseini et al., 2010). در مطالعه حاضر مقدار پلی اسیدهای چرب غیر اشباع، لینولئیک اسید و لینولئیک اسید (C_{18:3 n-3}) و DHA در کبد فیل ماهی پرورشی بیشتر از دریایی بود اما مقدار EPA کمتر بود. مقدار امگا ۳ و نسبت امگا ۳ به امگا ۶ در نمونه‌های دریایی بالاتر بود. نتایج حاصل از اندازه‌گیری ویتامین‌های E و D با گزارش Nunez (۲۰۰۷) برای کبد کوسه مطابقت داشت.

با توجه به وجود مقدار مناسبی از چربی، خصوصیات یوشیمیایی، امگا ۳، نسبت امگا ۳ به امگا ۶ و ویتامین E، کبد فیل ماهی می‌تواند منبع خوبی برای استخراج چربی باشد. مهم‌ترین فایده استخراج چربی از کبد فیل ماهی ارزان‌تر بودن آن نسبت به گوشت ماهی است. علاوه بر آن از آن می‌توان به عنوان یک بافت مناسب برای تولید امگا ۳ و ویتامین E در حد پالوت و سپس در حد صنعتی به منظور بهره‌برداری در صنعت داروسازی و مکمل‌های غذایی استفاده نمود که این کار ضمن کاهش آلودگی‌های زیست محیطی، امکان تولید محصولات دارویی به‌ویژه کپسول‌های مکمل غذایی را نیز فراهم می‌آورد.

سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت مالی و پشتیبانی پارک علم و فناوری استان گیلان به انجام رسید و از حمایت‌های جناب آقای دکتر متقی طلب و سرکار خانم مهندس بلالایی تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۱. رضوی شیرازی، ح.، ۱۳۸۰. تکنولوژی فرآورده‌های دریایی، اصول نگهداری و عمل‌آوری. انتشارات نقش مهر، ۳۳۸ صفحه.

14. Hamreh, K., 2011. Metabolism, Interactions, Requirements and Functions of Vitamin E in Fish. National Institute of Nutrition and Seafood Research (NIFES), PO Box 2029, Bergen Norway, 1-18.
15. Hosseini, S., Abedian-Kenari, A., Regenstein, J., Rezaei, M., Nazari, R., *et al.*, 2010. Effects of alternative dietary lipid sources on growth performance and fatty acid composition of beluga sturgeon (*Husohuso*), Juveniles. Journal of the World Aquaculture Society, 41, 471-489.
16. Innis, S.M., 2004. Polyunsaturated fatty acids in human milk: an essential role in infant development. Advances in Experimental Medicine and Biology, 554, 27-43.
17. ISO Recommendation, R1443., 1970. Meat and Meat Products, Determination of moisture content.
18. ISO Recommendation, R1443, 1970. Meat and Meat Products, Determination of total Fat.
19. ISO Recommendation, R1443., 2004. Animal and Vegetable Fats and Oils- Determination of tocopherol and tocotrienol Content by high-performance liquid chromatography.
20. Jittrepotch, N., Ushio, H., Ohshima, T., 2006. Oxidative stabilities of triacylglycerol and phospholipids fractions of cooked Japanese sardine meat during low temperature storage. Journal of Food Science., 99, 360-367.
21. Khoddami, A., Ariffin, A.A., Bakar, J., Ghazali, H.M., 2009. Fatty Acid Profile of the Oil Extracted from Fish Waste (Head, Intestine and Liver) (*Sardinellalemuru*). World Applied Sciences Journal, 7(1), 127-131.
22. Khoddami, A., Ariffin, A.A., Bakar, J., Ghazali, H.M., 2012. Fatty Acid Profile of the Oil Extracted from Fish Waste (Head, Intestine and Liver) (*Euthynnusaffinis*). African Journal of Biotechnology. 11(7), 1683-1689.
23. Kozlova, T.A., 1998. Lipid Class Composition of Benthic Pelagic Fishes (Cottocomephorus, Cottoidei) from Lake Baikal. Fish Physiology and Biochemistry., 19, 211-216.
24. Mol, S., Turan, S., 2008. Comparison of proximate, fatty acid and amino acid compositions of various types of fish roes. International Journal of Food Properties, 11, 669-677.
25. Nunez, G., 2007. Quality and Stability of Cuban *Shark* liveroil: Comparison with Icelandic Cod Liver Oil. UNU (The United Nations university) - Fisheries Training Programme, Final Project. 1-38, USA.
26. Ovissipour, M., Rasco, B., 2011. Fatty Acid and Amino Acid Profiles of Domestic and Wild Beluga (*Huso huso*) Roe and Impact on
2. AOAC Official Methodes of Analysis, 1995. Ash of Animal Feed. In: D Firestone Editor. Assoc off Anal Chem Inc, VA, USA.
3. AOAC Official Methodes of Analysis, 1995. Calcium of Animal Feed. In: D Firestone Editor. Assoc off Anal Chem Inc, VA, USA.
4. AOAC Official Methodes of Analysis, 1995. Determination of Vitamin D in Selected Foods by Liquid Chromatography. In: D Firestone Editor. Assoc off Anal Chem Inc, VA, USA.
5. AOAC Official Methodes of Analysis., 1990. Protein (crude) in Animal Feed Automated Kjeldahl Method. In: D Firestone Editor. Assoc off Anal Chem Inc, VA, USA.
6. AOAC Official Methodes of Analysis., 1968. Total phosphorus, phosphorus in Animal Feed, Alkall metric Ammonlum Molybdo phosphate Method. In: D Firestone Editor. Assoc Off Anal Chem Inc, VA, USA.sludge.
7. AOCS., 1997. Fatty acid composition of Marine oils by GLC (Ce 1b-89). Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society (5th Ed.). AOCS Press, Champaign USA.
8. Ashton,HJ., Farkvan, DO., March, BE., 1993. Fatty acid composition of lipids in the eggs and alevins from wild and cultured chinook salmon. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 50, 648-655.
9. Cahu, C., Sallen, P., Lorgetil, M., 2004. Farmed and wild fish in the prevention of cardiovascular diseases: Assessing possible differences in lipid nutritional values. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases., 14, 34-41.
10. Czesny, S., Dabrowski, K., Christensen, J., Van Eenennaam, J., Doroshov, S.I., 2000. Discrimination of wild and domestic origin of sturgeon ova based on lipids and fatty acid analysis. Aquaculture, 189, 145-153.
11. Elagba Mohamed, H.A., Al-Maqbaly, R., Mohamed Mansour, H., 2010. Proximate composition, amino acid and mineral contents of five commercial Nile fishes in Sudan. African Journal of Food Science, 4, 10, 650-654.
12. Gallagher, M., Paramore, L., Alves, D., Rulifson, R., 1998. Comparison of phospholipid and fatty acid composition of wild and cultured striped bass eggs. Journal of Fish Biology, 52, 1218-1228.
13. GülHarlioğlu, A., 2012. Fatty Acid Composition, Fat Soluble Vitamins and Cholesterol Content of Farmed Rainbow Trout. Pakistan Journal of Zoology., 44(4), 1013-1019.

- cardiovascular disease and cancer. *Journal of Medicinal Food*, 7(4), 387- 401.
31. Stancheva, M., Dobрева, D., Merdzhanov, A., Galunska, B., 2010. Vitamin Content and Fatty Acids Composition of Rainbow trout. *Plodiv. University, Paisii Hilendarski, Bulgaria Scientific Papers, Book. 5*(37), 117-123.
 32. Wang, X.Y., Quinn, P.J., 2000. The Location and Function of Vitamin E in Membranes (review). *Molecular Membrane Biology*, 17, 143-156.
 33. Zimmer, G., Thürich, T., Scheer, B., 1993. Membrane Fluidity and Vitamin E. In: *Vitamin E in Health and Disease* (Packer, L Fuchs, J. eds), Marcel Dekker Inc., New York, Basel, Hong Kong, 207-222.
 - Fertilization Ratio. *Journal Aquaculture Research and Development*, 2(3).
 27. Peter, S. M., 2000. *Freshwater fish of Britain and Europe* octopus Publishing. *Journal of Fish Biology*, 8, 423-441.
 28. Pourkazemi, M., 2006. Caspian Sea sturgeon conservation and fisheries: Past present and future. *Journal of Applied Ichthyology* 22 (s1), 12-16.
 29. Pugsley, L., 1939. Vitamin A and D Potencies of Liver and Intestinal Oils of Halibut). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 4b(5), 396-404.
 30. Shahidi, F., Miraliakbari, H., 2004. Omega-3 (n=3) fatty acid in health and disease: part1-