



Effects of different levels of thymol on growth performance, muscle antioxidant status and oxidative spoilage of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during refrigerated storage

Yaser Rahnama Kamamardkhi¹, Behrooz Mohammadzadeh^{2✉}, Mohammad Harsij⁴, Hossein Adineh⁵

1. Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran. yaserrahnama162@gmail.com

2. Corresponding author, Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran. Email: b.mohammadzadeh@gonbad.ac.ir

3. Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran. Email: m_harsij80@yahoo.com

4. Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran. Email: adineh.h@gmail.com

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received 11 July 2026
Revised 3 September 2026
Accepted 9 September 2026

Keywords:
Antioxidant,
Feeding,
Muscle,
Storage.

ABSTRACT

Natural antioxidant supplements are important in aquaculture. This research evaluated the effect of thymol in the diet of rainbow trout on growth performance, muscle antioxidant status, and muscle quality during refrigerated storage. Rainbow trout with an initial weight of 15 ± 0.1 g were fed four experimental diets containing 0, 0.1, 0.2, and 0.3% thymol for 60 days. At the end of the rearing period, growth indices and antioxidant status in fish muscle were measured. Subsequently, fish fillets were stored at 4°C for 12 days, and oxidative spoilage indices were determined at 3-day intervals. Fish fed the diet containing 0.2% thymol exhibited the best growth performance. The activities of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase, and the glutathione index in the muscle of fish fed different levels of thymol were significantly ($P \leq 0.05$) higher than those in the other groups. Muscle malondialdehyde content in fish fed 0.2% and 0.3% thymol was significantly ($P \leq 0.05$) lower than in the other two treatments. Peroxide value (5.33 to 13.33 meq O₂/kg extracted oil), thiobarbituric acid reactive substances (1.12 to 1.40 mg MDA/kg), and total volatile nitrogen content (20.91 to 28.47 mg N/100 g) were measured at the end of refrigerated storage. Overall, feeding rainbow trout a diet containing 0.2% thymol is recommended to improve growth performance, and feeding thymol at 0.2% and 0.3% is recommended to enhance muscle antioxidant capacity and delay oxidative spoilage until the ninth day (9 days) of refrigerated storage.

Cite this article: Rahnama Kamamardkhi, Y., Mohammadzadeh, B., Harsij, M., Abbasi, S., & Adineh, H. (2026). Effects of different levels of Thymol on growth performance, muscle antioxidant status and oxidative spoilage of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during refrigerated storage. *Journal of Aquaculture Sciences*, 14(1), 97-114.



© Author(s) retain the copyright.

Publisher: Iranian Aquaculture Society.

EXTENDED ABSTRACT

Introduction

Appropriate nutritional formulations are essential to sustain fish health, improve feed efficiency, and support production in aquaculture. Modern feed formulations increasingly incorporate natural phytogetic additives due to their antioxidant, antimicrobial, antiparasitic, and digestive-stimulating properties. Synthetic antioxidants and preservatives, while historically utilized, present risks of toxicity, liver damage, and potential carcinogenicity. Consequently, research has shifted toward natural phytogetic compounds as safe alternatives to boost endogenous antioxidant defenses and delay post-mortem spoilage. Fish muscle tissue is highly vulnerable to rapid post-mortem deterioration because of its high moisture content, nutrient availability, neutral pH, and elevated levels of polyunsaturated fatty acids. Dietary antioxidants can fortify muscle antioxidant capacity during the culture period, thereby extending flesh shelf life and maintaining quality during subsequent cold storage. Thymol (*Thymus vulgaris*) is a prominent natural phenolic compound possessing recognized free radical-scavenging capabilities. Although dietary thymol has been reported to improve growth metrics in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), comprehensive evaluations regarding its simultaneous impacts on growth performance, endogenous muscle antioxidant enzymes, and subsequent fillet oxidative stability during refrigerated storage remain limited. Rainbow trout represents a primary commercially farmed salmonid that is routinely distributed and preserved under chilled conditions. This study evaluated the hypothesis that dietary thymol supplementation (0.1% to 0.3%) optimizes growth parameters, enhances muscle antioxidant enzyme activity, and suppresses oxidative spoilage in rainbow trout fillets during 12 days of refrigerated storage at 4 °C.

Material and Methods

Juvenile rainbow trout (15 ± 0.1 g) were acclimated for 10 days and distributed into four triplicated experimental groups (15 fish/tank). Over a 60-day trial, fish were fed a commercial diet supplemented with crystalline thymol at 0% (control), 0.1%, 0.2%, or 0.3% (w/w). Feed was prepared by spraying ethanol-dissolved thymol onto pellets, followed by air-drying. Water parameters were controlled daily, and feeding was conducted three times daily at 3% biomass. At day 60, growth indices (FBW, WG, SGR, FCR, CF, HSI, VSI) were evaluated. Dorsal muscle samples were collected to assay superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), reduced glutathione (GSH), and malondialdehyde (MDA). Fillets were stored at 4 ± 1 °C for 12 days, and quality parameters (pH, PV, TBARS, TVB-N) were assessed every 3 days. Data were analyzed using one-way and two-way ANOVA ($P < 0.05$).

Results

Dietary supplementation with 0.2% thymol significantly improved growth performance compared to the control group, yielding the highest final body weight (103.00 ± 3.00 g), weight gain (87.75 ± 2.64 g), and specific growth rate ($3.18 \pm 0.01\%$), along with the lowest feed conversion ratio (0.71 ± 0.02) ($P \leq 0.05$). Growth performance indices (CF, VSI, HSI) were not significantly altered. Muscle antioxidant defenses were elevated in thymol-treated groups. SOD activity increased significantly in the 0.2% and 0.3% groups; CAT activity was significantly higher in all thymol groups than in the control, and GPx activity peaked at 0.3% thymol. Muscle MDA levels were significantly reduced in the 0.2% and 0.3% thymol treatments compared with the control and 0.1% groups ($P \leq 0.05$). During 12 days of storage at 4 °C, fillet pH and TVB-N increased across all groups. By day 12, control TVB-N reached 28.47 ± 3.52 mg N/100g (exceeding the high-quality threshold of 25 mg N/100g), whereas the 0.2% thymol group retained the lowest value (20.90 ± 2.72 mg N/100g). The value of PV in the control and

0.2% thymol groups exceeded the permissible limit (10 meq O₂/kg extracted oil) and reached 13.33 and 10 meq O₂/kg extracted oil, respectively, and the content of TBARS in all groups at the end of the storage period exceeded the permissible limit (1mg MDA/ kg) and ranged from 1.12 to 1.40 mg MDA/ kg.

Discussion

The enhanced growth performance at 0.2% thymol aligns with phytochemical compounds' ability to stimulate digestive enzyme secretion, improve nutrient absorption, and support intestinal health. The non-linear response at 0.3% thymol, where growth metrics did not increase further, may reflect phytochemical dose-response dynamics in which excessive levels slightly alter palatability or gut microbiota balance. The elevation of SOD, CAT, and GPx activity in muscle tissue confirms that dietary thymol strengthens the endogenous radical-scavenging network. Phenolic compounds like thymol directly reduce systemic reactive oxygen species (ROS) accumulation and downregulate lipid peroxidation, as evidenced by lower tissue MDA levels before slaughter. Throughout refrigerated storage, post-mortem enzymatic activity and bacterial decomposition typically degrade proteins and lipids, generating volatile bases and secondary oxidation products. The lower TVB-N accumulation and suppressed PV in fillets from thymol-fed fish show that depositing dietary phenolic antioxidants into muscle tissue effectively delays primary lipid oxidation. Muscle antioxidant deposition sustained muscle integrity during storage, maintaining overall product freshness within established quality standards.

Conclusion

Feeding rainbow trout a diet supplemented with 0.2% thymol optimizes growth performance and feed conversion efficiency. Both 0.2% and 0.3% thymol enhance endogenous muscle antioxidant enzyme activities and effectively preserve fillet quality by suppressing oxidative spoilage and volatile nitrogen accumulation until the ninth day (9 days) of refrigerated storage.

اثرات سطوح مختلف تیمول بر عملکرد رشد، وضعیت آنتی اکسیدانی و فساد اکسیداسیونی فیله ماهی قزل آلاي رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی نگهداری در یخچال

یاسر رهنما کامردخی^۱، بهروز محمدزاده^۲، محمد هرسیج^۳، حسین آدینه^۴

۱. گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران. رایانامه: yaserrahnama162@gmail.com

۲. نویسنده مسئول، گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران. رایانامه: b.mohammadzadeh@gonbad.ac.ir

۳. گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران. رایانامه: m_harsij80@yahoo.com

۴. گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران. رایانامه: adineh.h@gmail.com

چکیده

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:

مقاله پژوهشی،

تاریخچه مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۴/۲۰

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۵/۵/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۵/۱۸

کلیدواژه‌ها:

آنتی اکسیدان،

تغذیه،

عضله،

نگهداری.

استفاده از مکمل‌های آنتی اکسیدانی طبیعی در آبی پروری اهمیت زیادی دارد. در این تحقیق، اثر افزودن تیمول به خوراک ماهی قزل آلاي رنگین کمان بر عملکرد رشد، وضعیت آنتی اکسیدانی و کیفیت عضله طی نگهداری در یخچال مورد ارزیابی قرار گرفت. ماهی قزل آلاي رنگین کمان با وزن اولیه 155 ± 0.1 گرم به مدت ۶۰ روز با چهار جیره آزمایشی حاوی ۰، ۰/۱، ۰/۲، و ۰/۳ درصد تیمول تغذیه شدند. در پایان دوره پرورش شاخص‌های رشد و وضعیت آنتی اکسیدانی در عضله اندازه‌گیری شدند. سپس فیله‌های ماهی به مدت ۱۲ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری و شاخص‌های فساد اکسیداسیونی در فواصل زمانی ۳ روزه تعیین شدند. ماهیانی تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۲ درصد تیمول، بهترین عملکرد رشد را داشتند. فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و کاتالاز و شاخص گلوکاتایون در عضله ماهیانی که سطوح مختلف تیمول را دریافت کرده بودند، به طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) بیشتر از گروه شاهد بود. مقدار مالونوآلدئید عضله در ماهیان تغذیه شده با ۰/۲ و ۰/۳ درصد تیمول به طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) کمتر از دو تیمار دیگر بود. در طی دوره نگهداری در یخچال، مقادیر پراکساید ($13.5-33.33$) اکی‌والان اکسیژن در کیلوگرم روغن)، مواد واکنش‌دهنده با ۲-اسید تیوباربیتوریک اسید ($1.12-1.40$) میلی گرم مالونوآلدئید در کیلوگرم)، و مجموع بازهای نیتروژنی فرار ($20.91-28.47$) میلی گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم) بودند. در مجموع، تغذیه قزل آلاي رنگین کمان با جیره حاوی ۰/۲ درصد تیمول جهت بهبود عملکرد رشد و ۰/۲ و ۰/۳ درصد تیمول جهت ارتقای ظرفیت آنتی اکسیدانی عضله و متعاقباً به تأخیر انداختن فساد اکسیداتیو تا ۹ روز نگهداری در یخچال توصیه می‌شود.

استاد: رهنما، یاسر؛ محمدزاده، بهروز؛ هرسیج، محمد؛ آدینه، حسین (۱۴۰۵). اثرات سطوح مختلف تیمول بر عملکرد رشد، وضعیت آنتی اکسیدانی و فساد اکسیداسیونی

فیله ماهی قزل آلاي رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی نگهداری در یخچال. *علوم آبی پروری*، ۱۴(۱)، ۹۷-۱۱۴.



© نویسندگان.

ناشر: انجمن آبی پروری ایران.

مقدمه

یکی از مسائل مهم در آبی پروری، تأمین خوراک مناسب برای گونه‌های پرورشی به منظور برآوردن نیازهای تغذیه‌ای آنها است. در همین راستا، مکمل‌های غذایی در هنگام تهیه خوراک به آن افزوده می‌شوند تا کیفیت و کارایی خوراک را افزایش داده و سلامت ماهی را بهبود بخشند (Bharathi et al., 2019). ترکیبات فیتوژنیک به عنوان ترکیبات با پایه گیاهی شناخته می‌شوند که خواص زیستی متنوعی از جمله آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی، ضد سرطانی، ضد انگلی، تحریک کننده ایمنی و اشتها داشته و به همین دلیل اثرات مثبتی بر سلامتی ماهیان دارند (Asimi and Sahu, 2013; Peterson et al., 2014). این مواد طبیعی علاوه بر اثرات مذکور، می‌توانند کیفیت ماهی را پس از کشتار و طی دوره نگهداری نیز بهبود بخشند (Li et al., 2023). عضله ماهی مهم‌ترین محصول حاصل از پرورش ماهی است (Zahedi et al., 2019). کیفیت عضله ماهی با ظرفیت آنتی اکسیدانی آن ارتباط دارد و افزودن آنتی اکسیدان‌ها به جیره غذایی یک راهبرد جهت بهبود ظرفیت آنتی اکسیدانی عضله ماهیان شامل افزایش فعالیت آنزیم‌های دفاعی همچون سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و سیستم گلوکاتیون و کاهش مالون دی آلدید است که متعاقباً پتانسیل افزایش عمر ماندگاری ماهی را پس از مرگ و طی نگهداری به همراه دارد (Li et al., 2023; Araujo et al., 2025). این ویژگی در مکمل‌های گیاهی دارای خواص آنتی اکسیدانی نیز نشان داده شده است و اغلب در طول نگهداری ماهی سودمند است (Güroy et al., 2019). از سوی دیگر، میزان بالای رطوبت، مواد مغذی و pH ماهی موجب می‌شود که این ماده غذایی پس از مرگ به سرعت مستعد فساد شود (Li et al., 2011). با وجود کاربرد گسترده مهارکننده‌های رادیکال در فرمولاسیون خوراک آبزیان، مشخص شده است که استفاده از محافظ‌های اکسیداتیو سنتزی در جیره ماهی می‌تواند به بروز آثار نامطلوب ایمنی، از جمله آسیب کبدی و سرطان‌زایی، منجر شود (Williams et al., 1999). از این رو، مطالعات اخیر بر استفاده از آنتی اکسیدان‌های ایمن و طبیعی به عنوان جایگزینی برای ترکیبات مورد استفاده در خوراک ماهی، باهدف افزایش سطح دفاع آنتی اکسیدانی، تمرکز کرده‌اند. استفاده از جیره حاوی ۳ درصد (وزنی/وزنی) عصاره گل راعی (*Hypericum perforatum*) و کاسنی (*Cichorium intybus*) موجب بهبود شاخص‌های ایمنی و افزایش سطح آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در قزل آلائی رنگین کمان شد (Farzallahi et al., 2017). همچنین، مشخص شده است که استفاده از نگهدارنده‌های سنتزی برای جلوگیری از فساد اکسیداتیو در محصولات غذایی دریایی، به دلیل اثرات سمی این ترکیبات، پیامدهای منفی دارد. در نتیجه، یافتن منابع طبیعی نگهدارنده‌ها برای کنترل سازوکارهای مسئول فساد شیمیایی و میکروبی در ماهی اهمیت زیادی یافته است (Viji et al., 2017). چنانچه، مطالعات پیشین این اثر مثبت را نشان داده‌اند. جیره حاوی ۱/۰ درصد (وزنی/وزنی) روغن زیره سیاه (*Nigella sativa*)، به دلیل پایین بودن مقدار پراکسید اکسیداسیون چربی‌ها را در قزل آلائی رنگین کمان طی نگهداری در شرایط سرد 2 ± 1 درجه سانتی گراد به تأخیر انداخت (Öz et al., 2017). همچنین گزارش شده است که افزودن ۴ درصد اسپیرولینا به جیره، با کاهش سطح اسید تیوباربیتوریک و pH طی ۲۰ روز نگهداری ماهی، ماندگاری ماهی قزل آلائی رنگین کمان را افزایش می‌دهد (Güroy et al., 2019). اگرچه مطالعات متعددی افزودن آنتی اکسیدان‌های گیاهی به جیره ماهی را باهدف بهبود رشد و سلامت فیزیولوژیک بررسی کرده‌اند، ظرفیت این ترکیبات برای افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی عضله و افزایش ماندگاری از طریق به تأخیر انداختن فساد اکسیداتیو کمتر مورد بررسی قرار گرفته است. افزون بر این، تأیید شده است که کاهش استرس در ماهیان پرورشی برای جلوگیری از افت کیفیت عضله ماهی اهمیت دارد (Yang et al., 2023). بنابراین، بررسی کارایی آنتی اکسیدان‌های طبیعی مورد استفاده در جیره ماهی برای بهبود وضعیت آنتی اکسیدانی عضله ماهی ضروری و مکمل شکاف‌های پژوهشی موجود در این زمینه است، زیرا این فرآیند به حفظ کیفیت عضله ماهی‌های پرورشی طی نگهداری در شرایط سرد کمک می‌کند.

تیمول یک ترکیب فنبولی طبیعی است که به مقدار فراوان در گیاه آویشن (*Thymus vulgaris*) یافت می‌شود. این ترکیب دارای خواص آنتی اکسیدانی و مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد است (Alagawany et al., 2021). مطالعات پیشین نشان داده‌اند که تیمول می‌تواند نرخ رشد قزل آلائی رنگین کمان را بهبود بخشد (Ahmadifar et al., 2011; Giannenas et al., 2012; Sönmez et al., 2015). با این حال، در خصوص اثرات جامع مکمل سازی جیره با تیمول بر عملکرد رشد، دفاع آنتی اکسیدانی و

پایداری اکسیداتیو فیله ماهی در شرایط نگهداری سرد، همچنان شکاف دانشی وجود دارد. قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مهم‌ترین گونه پرورشی از خانواده آزادماهیان در ایران است و عمدتاً در شرایط سرد نگهداری و حمل‌ونقل می‌شود (Rezaei and Hosseini, 2008). حفظ کیفیت بافت ماهی در سراسر زنجیره تأمین از اهمیت اساسی برخوردار است. با توجه به مطالعات پیشین درباره خواص آنتی‌اکسیدانی تیمول (Giannenas et al., 2012; Sönmez et al., 2015)، در این تحقیق این فرضیه مطرح شد که استفاده از تیمول غذایی در محدوده ۰/۱ تا ۰/۳ درصد می‌تواند با تقویت سامانه‌های دفاع‌های درون‌زاد ماهی، عملکرد رشد را بهینه کرده و وضعیت آنتی‌اکسیدانی عضله را بهبود بخشد و متعاقباً فساد اکسیداتیو را طی نگهداری در شرایط سرد به تأخیر اندازد. براین اساس، هدف از این پژوهش، بهره‌برداری حداکثری از تیمول به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی برای افزایش عملکرد رشد، بهبود دفاع آنتی‌اکسیدانی عضله و در نهایت افزایش ماندگاری قزل‌آلای رنگین‌کمان طی نگهداری در شرایط سرد بود.

مواد و روش‌ها

شرایط پرورش: برای طراحی آزمایش، ۱۸۰ قطعه بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با میانگین وزن 15 ± 0.1 گرم از یک مرکز تکثیر و پرورش تجاری ماهی در استان گلستان، ایران، تهیه شد. بچه‌ماهیان در کیسه‌های پلاستیکی مخصوص حمل ماهی که دوسوم آنها با اکسیژن پر شده بود در شرایط سرد (4 ± 2 درجه سانتی‌گراد، در کنار یخ) و در طی یک ساعت از مرکز تکثیر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در شهرستان آزاد شهر به آزمایشگاه دانشگاه گنبد کاووس منتقل شدند. سپس به منظور سازگاری با شرایط آزمایشگاهی، به مدت ۱۰ روز در یک مخزن نگهداری ۴۰۰ لیتری نگهداری شدند. سپس، ماهی‌ها به صورت تصادفی در چهار گروه آزمایشی، هر گروه با سه تکرار، توزیع شدند. در هر مخزن ۶۰ لیتری، تعداد ۱۵ قطعه بچه‌ماهی قرار گرفت. پارامترهای کیفیت آب، شامل pH، دما و اکسیژن محلول، در طول آزمایش به صورت روزانه اندازه‌گیری شدند. آب مخازن روزانه دو بار تعویض شد و هوادهی به صورت پیوسته انجام گرفت. تغذیه ماهی‌ها روزانه سه بار و با نرخ ۳٪ زیست‌توده، با استفاده از خوراک تجاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به عنوان خوراک پایه (شرکت فردانه، ایران) و براساس اندازه‌گیری‌های زیست‌سنجی در فواصل ۱۴ روزه انجام شد. بچه‌ماهیان به مدت ۶۰ روز، به صورت دستی با چهار جیره آزمایشی تغذیه شدند. ترکیب شیمیایی تقریبی خوراک تجاری در جدول ۱ نشان داده شده است. عملکرد رشد در پایان دوره پرورش، با انتخاب تصادفی پنج قطعه‌ماهی از هر مخزن و انجام اندازه‌گیری‌های زیست‌سنجی، شامل وزن بدن، طول، وزن کبد و وزن احشا، ارزیابی شد. در این تحقیق، هر مخزن به عنوان واحد آزمایشی برای تجزیه و تحلیل‌های رشد و بیوشیمیایی در نظر گرفته شد.

جدول ۱- ترکیب شیمیایی خوراک تجاری (برحسب درصد ماده خشک).

جزء	مقدار
پروتئین خام	۴۰
چربی خام	۱۵
فیبر خام	۳
خاکستر	۹
رطوبت	۸
فسفر	۱/۲۵

تهیه جیره‌های آزمایشی: جیره‌های آزمایشی مطابق با روش شرح داده شده توسط Aanyu و همکاران (۲۰۱۸)، تهیه شدند. بدین منظور، ابتدا خوراک تجاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان روی یک سینی تمیز پخش شد. سپس، پودر کریستالی تیمول (محصول شرکت سیگما با کد T0501) در اتانول با ۹۸ درصد خلوص به میزان معادل ۱۰ درصد وزن خوراک حل شد و محلول حاصل به طور یکنواخت بر سطح گرانول‌های خوراک، در سطوح ۱، ۲ و ۳ گرم تیمول به ازای هر کیلوگرم خوراک، اسپری شد.

سپس، برای ایجاد شرایط مشابه با جیره‌های حاوی تیمول، همان حجم اتانول به جیره شاهد افزوده شد. در نهایت، جیره‌ها به مدت ۲۴ ساعت در معرض هوا خشک شدند، در کیسه‌های پلاستیکی قرار گرفتند و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در این پژوهش تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: تیمار ۱ (شاهد) جیره خوراکی بدون افزودن تیمول، تیمار ۲ جیره خوراکی حاوی ۰/۱ درصد تیمول (۱ گرم تیمول در هر کیلوگرم غذا)، تیمار ۳ جیره خوراکی حاوی ۰/۲ درصد تیمول (۲ گرم تیمول در هر کیلوگرم غذا) و تیمار ۴ حاوی ۰/۳ درصد تیمول (۳ گرم تیمول در هر کیلوگرم غذا) (Ahmadifar et al., 2011).

تعیین عملکرد رشد: پس از ۶۰ روز تغذیه، جهت بررسی عملکرد رشد و تغذیه تیمارهای آزمایشی نیز وزن بچه ماهیان با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم و طول آنها با خطکش زیست‌سنجی با دقت ۰/۰۱ متر اندازه‌گیری شد. علاوه بر این کبد و امعاء و احشای ماهی نیز جدا شده و توزین گردید. فاکتورهای مورد بررسی شامل وزن نهایی، درصد افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، درصد بازماندگی، فاکتور وضعیت، شاخص هپاتوسوماتیک (کبدی) و شاخص احشایی بودند که براساس رابطه‌های ۱ تا ۷ زیر محاسبه شدند (Bakhshi et al., 2016).

رابطه (۱) افزایش وزن (WG, g) = میانگین وزن نهایی (گرم) - میانگین وزن اولیه (گرم)

رابطه (۲) ضریب تبدیل غذایی (FCR) = مقدار غذای مصرف‌شده (گرم) \ وزن نهایی (گرم) - وزن اولیه (گرم)

رابطه (۳) نرخ رشد ویژه (SGR, %/day) = $\ln[\text{وزن نهایی (گرم)}] - \ln[\text{وزن اولیه (گرم)}]$ \ مدت‌زمان پرورش (روز) $\times 100$

رابطه (۴) درصد افزایش وزن (%WG) = $[(\text{وزن نهایی (گرم)} - \text{وزن اولیه (گرم)}) \text{ \ وزن اولیه (گرم)}]$ $\times 100$

رابطه (۵) شاخص وضعیت (CF) = وزن نهایی (گرم) \ توان سوم طول کل ماهی (سانتی‌متر) $\times 100$

رابطه (۶) شاخص کبدی (HIS, %) = وزن کبد (گرم) \ وزن بدن (گرم) $\times 100$

رابطه (۷) شاخص احشایی (VSI, %) = وزن احشا (گرم) \ وزن بدن (گرم) $\times 100$

تعیین وضعیت آنتی اکسیدانی عضله: به منظور تعیین وضعیت آنتی اکسیدانی عضله ماهی پس از دو ماه پرورش و تغذیه با سطوح مختلف تیمول، در پایان دوره پرورش و پس از جمع‌آوری و صید ماهیان، بلافاصله از ناحیه پشتی ماهی، ناحیه حفاصل باله پشتی تا خط جانبی، نمونه‌برداری انجام شد. نمونه‌های تهیه‌شده تا زمان انجام آزمایش در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. میزان مالونوآلدهید و گلوتاتیون عضله به ترتیب براساس روش Zhang و همکاران (۲۰۰۸)، Esra و همکاران (۲۰۱۰) و Vardi و همکاران (۲۰۰۸) تعیین شد. فعالیت آنزیم کاتالاز به روش توصیف‌شده توسط Jiang و همکاران (۲۰۱۰)، فعالیت آنزیم گلوتاتیون-اس-ترانسفراز به روش Lushchak و همکاران (۲۰۰۱)، آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز به روش Shu و همکاران (۲۰۱۱)، فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز به روش Jiang و همکاران (۲۰۱۳) و گلوتاتیون پراکسیداز به روش Tan و همکاران (۲۰۱۰) تعیین گردیدند.

تعیین فساد اکسیداتیو فیله ماهی: به منظور بررسی اثر تغذیه ماهی با جیره‌های خوراکی حاوی سطوح مختلف تیمول بر فساد اکسیداسیونی فیله ماهی طی نگهداری در یخچال (4 ± 2 درجه سانتی‌گراد)، پس از پایان دوره پرورش دوماهه، ماهیان جمع‌آوری‌شده، سپس از آنها فیله تهیه‌شده، فیله‌های تیمارهای مختلف درون بسته‌های پلاستیکی زیپ‌دار قرار گرفتن و به مدت ۱۲ روز درون یخچال نگهداری می‌شوند و در فواصل زمانی روزهای صفر، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ از فیله‌های جهت نمونه‌برداری انجام شد و به منظور تعیین فساد اکسیداسیونی و شاخص‌های فیزیوشیمیایی فساد شامل pH، عددپراکساید، ماده واکنش‌دهنده با ۲-تیوباریتوریک اسید و مجموع بازهای نیتروژنی فرار تعیین گردیدند. برای اندازه‌گیری pH، مقدار ۵ گرم از فیله ماهی همگن‌شده با ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و روی شیکر با سرعت ۱۸۰ rpm قرار داده شد. سپس، pH نمونه‌ها با استفاده از pH متر (مدل Metrohm، کشور سوئیس) اندازه‌گیری شد (Suvanich et al., 2000). برای سنجش مقدار پراکسید (PV)، ابتدا روغن به روش حلالی و با استفاده کلروفرم و متانول استخراج شد (Bligh and Dyer, 1959)، سپس جهت تعیین عدد پراکسید از روش تیتراسیون یدومتری و تیوسولفات سدیم به عنوان ماده مصرفی در تیتراسیون استفاده شد و مقدار پراکسید براساس رابطه ۸ محاسبه و به صورت میلی اکسیژن در کیلوگرم روغن استخراجی گزارش شد (Egan et al., 1981).

رابطه (۸) $\text{Peroxide Value (meq O}_2/\text{kg extracted oil)} = ((Vs - Vb) \times N \times 100) / (W (g))$

در این رابطه، (Vs-Vb) اختلاف حجم مصرف‌شده تیوسولفات سدیم در تیتراسیون نمونه و شاهد برحسب میلی‌لیتر، N نرمالیت تیوسولفات سدیم، و W وزن نمونه روغن استخراج شده برحسب گرم است. جهت سنجش مواد واکنش‌دهنده با اسید ۲-تیوباریتوریک (TBARS)، از روش رنگ‌سنجی استفاده شد و مقادیر این شاخص بر حسب میلی‌گرم مالونوآلدئید در کیلوگرم روغن گزارش شد (Buege and Aust, 1978). برای اندازه‌گیری مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) از روش ریز انتشار Conway وبا به‌کارگیری سل کانوی استفاده شد و مقدار این شاخص با استفاده از رابطه ۹ محاسبه و برحسب میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم نمونه بیان شد (Rawdkuen et al 2010).

$$\text{رابطه ۹)} \quad \text{TVB} - \text{N} \left(\text{mg} \frac{N}{100} \text{g sample} \right) = \frac{14 \times N \times (A-B) \times V \times 100}{M}$$

در این رابطه، N نرمالیت اسید هیدروکلریک تیترا شده است و A و B به ترتیب حجم اسید هیدروکلریک تیترا شده در نمونه و شاهد بر حسب میلی‌لیتر هستند. V حجم کل نمونه آماده‌شده برحسب میلی‌لیتر و M جرم نمونه برحسب گرم است. تجزیه و تحلیل آماری: نتایج حاصل از این مطالعه با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS21 مورد تجزیه و تحلیل گرفت. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو ویلک (Shapiro-Wilk Test) بررسی گردید. به منظور تعیین وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در شاخص‌های رشد و شاخص‌های نشان‌دهنده وضعیت آنتی‌اکسیدانی عضله، در بین تیمارهای مختلف از آزمون تحلیل تجزیه واریانس یک‌طرفه استفاده شد. علاوه بر این جهت تعیین اثرگذاری افزودن تیمول بر فساد اکسیداسیونی عضله طی نگهداری در یخچال، از آزمون تحلیل واریانس دوطرفه استفاده شد. سطح معنی‌داری در تمامی موارد ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. کلیه نمودارها در نرم‌افزار اکسل رسم گردید.

نتایج

عملکرد رشد: نتایج مربوط به شاخص‌های عملکرد رشد و تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با سطوح مختلف تیمول طی ۶۰ روز در جدول ۲ ارائه شده است. در پایان دوره ۶۰ روزه پرورش، ماهیان تغذیه‌شده با ۰/۲ درصد تیمول بیشترین وزن (۱۰۳/۳±۰/۰۰ گرم) را داشتند و به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) بیشتر از ماهیان سایر تیمارها بودند. علاوه بر این بیشترین افزایش وزن (۸۷/۲±۷۵/۶۴ گرم) و نرخ رشد ویژه (۳/۱۸±۰/۰۱ درصد) و کمترین ضریب تبدیل غذایی (۰/۷۱±۰/۰۲) نیز برای ماهیان تغذیه‌شده با ۰/۲ درصد تیمول به دست آمد. ماهیان تغذیه‌شده با ۰/۲ و ۰/۳ درصد تیمول نسبت به دو تیمار دیگر به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) درصد افزایش وزن بیشتری داشتند. مقادیر شاخص‌های وضعیت، احشایی و کبدی اختلاف معنی‌داری را بین ماهیان تیمارهای مختلف نشان ندادند ($P \geq 0.05$).

جدول ۲- عملکرد رشد و تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با جیره حاوی سطوح مختلف تیمول

جیره‌های خوراکی				پارامترهای رشد
۰/۳ درصد تیمول	۰/۲ درصد تیمول	۰/۱ درصد تیمول	شاهد	
۸۰/۱۰±۰/۰۰ ^b	۱۰۳/۳±۰/۰۰ ^a	۸۶/۲±۰/۰۰ ^b	۸۴/۷±۳۰/۷۰ ^b	وزن نهایی (گرم)
۶۵/۹±۴۳/۹۹ ^b	۸۷/۷۵±۷۵/۶۴ ^a	۷۰/۱±۹۰/۹۶ ^b	۶۸/۴±۸۲/۵۷ ^b	افزایش وزن (گرم)
۴۸۲/۸۹±۴۰/۴۸ ^{ab}	۵۷۷/۷±۵۴/۵۰ ^a	۴۶۸/۱۰±۵۵/۵۱ ^b	۴۴۵/۴۶±۲۶/۴۴ ^b	درصد افزایش وزن
۲/۰±۸۳/۲۰ ^b	۳/۰±۱۸/۰۱ ^a	۲/۰±۹۰/۰۴ ^b	۲/۰±۸۲/۱۴ ^b	نرخ رشد ویژه (درصد)
۰/۰±۹۶/۰۸ ^a	۰/۰±۹۷/۰۳ ^a	۱/۰±۹۰/۱۸ ^a	۱/۰±۰۲/۰۵ ^a	شاخص وضعیت
۰/۰±۹۷/۱۴ ^a	۰/۰±۷۱/۰۲ ^b	۰/۰±۸۸/۰۲ ^{ab}	۰/۰±۹۲/۱۰ ^a	ضریب تبدیل غذایی
۸/۱±۶۱/۶۴ ^a	۸/۳±۳۵/۴۴ ^a	۷/۱±۷۴/۵۳ ^a	۱۰/۳±۰۴/۶۱ ^a	شاخص احشایی
۲/۰±۱۸/۴۶ ^a	۱/۰±۷۶/۴۸ ^b	۲/۰±۱۱/۳۹ ^{ab}	۲/۰±۰۹/۳۵ ^{ab}	شاخص کبدی

داده‌ها به‌صورت میانگین سه تکرار±انحراف معیار گزارش شده‌اند. حروف کوچک متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($P \leq 0.05$) بین تیمارهای مختلف (ماهیان تغذیه‌شده با جیره خوراکی حاوی سطوح مختلف تیمول) است.

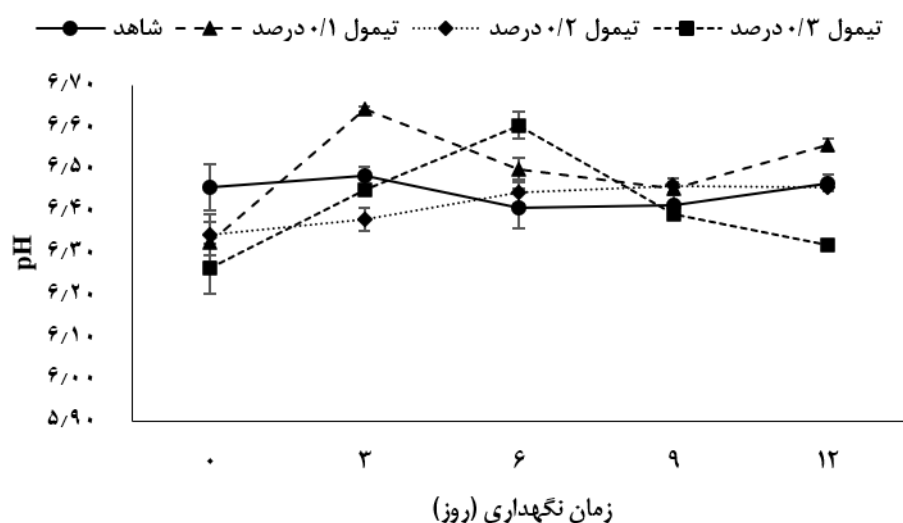
وضعیت آنتی اکسیدانی عضله: مقادیر شاخص‌های تعیین‌کننده توانایی و وضعیت آنتی اکسیدانی عضله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با سطوح مختلف تیمول در جدول ۳ ارائه شده است. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمارهای ۰/۲ و ۰/۳ درصد تیمول به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) بیشتر از دو تیمار شاهد و تیمول ۰/۱ درصد بود. میزان آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز در تیمار ۰/۳ درصد تیمول (13.60 ± 0.10) به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) بیشتر از سایر تیمارها بود. مقدار آنزیم کاتالاز در تیمار شاهد (1.67 ± 0.04) به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) کمتر از سایر تیمارها بود. مقدار شاخص مالونوآلدئید در تیمارهای ۰/۲ و ۰/۳ درصد تیمول به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) کمتر از دو تیمار شاهد و ۰/۱ درصد تیمول بود. اگرچه اختلاف معنی‌داری بین مقدار شاخص گلوکاتایون در بین تیمارها مشاهده نشد ($P \geq 0.05$)، لیکن بیشترین مقدار این شاخص در تیمار ۰/۳ درصد ($196/83 \pm 3/15$) تیمول ثبت گردید.

جدول ۳- شاخص‌های وضعیت آنتی اکسیدانی در عضله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با سطوح مختلف تیمول

جیره‌های خوراکی				شاخص‌های آنتی اکسیدانی
۰/۳ درصد تیمول	۰/۲ درصد تیمول	۰/۱ درصد تیمول	شاهد	
13.0 ± 0.10^a	12.0 ± 0.35^b	12.0 ± 0.1^b	12.0 ± 0.4^c	گلوکاتایون پراکسیداز
1.0 ± 0.01^a	1.0 ± 0.01^{ab}	1.0 ± 0.01^b	1.0 ± 0.05^c	سوپراکسید دیسموتاز
1.0 ± 0.03^a	1.0 ± 0.03^a	1.0 ± 0.01^a	1.0 ± 0.04^b	کاتالاز
$196/83 \pm 3/15^{ab}$	$209/8 \pm 2/30^a$	$203/0 \pm 0.43/85^a$	$186/10 \pm 9/90^a$	گلوکاتایون
5.0 ± 0.4^b	$6.0 \pm 0.9/16^b$	$7.0 \pm 0.11/21^a$	$6.0 \pm 0.84/14^a$	مالونوآلدئید

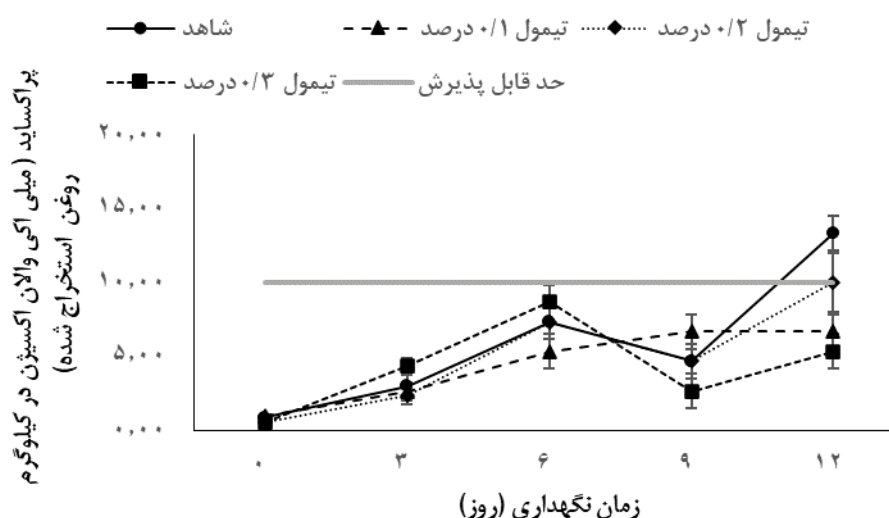
داده‌ها به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شده‌اند. حروف کوچک متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($P \leq 0.05$) بین تیمارهای مختلف (ماهیان تغذیه‌شده با جیره خوراکی حاوی سطوح مختلف تیمول) است. پروتئین (میلی گرم بر گرم بافت)، آنزیم‌های گلوکاتایون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز (واحد در میلی گرم پروتئین)، گلوکاتایون (نانو مول در میلی گرم پروتئین)، و مالونوآلدئید (نانو مول در میلی گرم پروتئین).

فساد اکسیداتیو فیله‌های ماهی: شکل‌های ۱ تا ۴ نمودارهای تغییرات شاخص‌های فساد اکسیداتیو فیله‌های ماهی را طی ۱۲ روز نگهداری در یخچال (4 ± 1 درجه سانتی‌گراد) نشان می‌دهند. مقدار pH (شکل ۱) در پایان دوره نگهداری در مقایسه با ابتدای نگهداری، در تمامی نمونه‌ها به‌جز گروه شاهد، به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P \leq 0.05$). علاوه بر این، در پایان دوره نگهداری، کمترین میزان pH (6.32 ± 0.01) و بالاترین میزان pH (6.56 ± 0.01) به‌ترتیب در فیله‌های ماهی تغذیه‌شده با ۰/۳ و ۰/۱ درصد تیمول به‌دست آمد.



شکل ۱- نمودار تغییرات pH در فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با جیره حاوی سطوح مختلف تیمول طی نگهداری در یخچال. داده‌های به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شده‌اند.

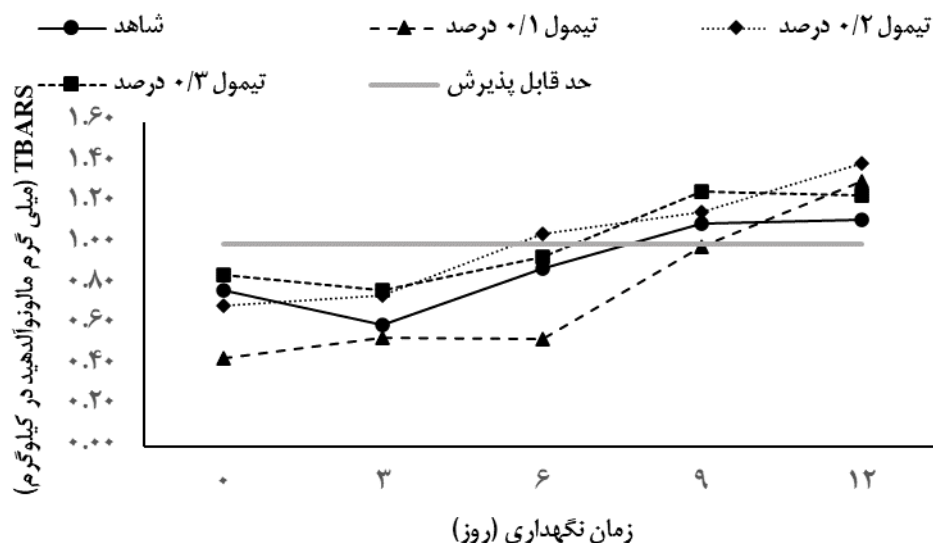
میزان پراکساید (شکل ۲) در فیله‌های ماهی مربوط به جیره‌های شاهد، ۰/۲ درصد تیمول و ۰/۳ درصد تیمول تا روز ۶ افزایش یافت؛ در روز ۹ کاهش یافت؛ و مجدداً در روز پایانی نگهداری روند افزایشی داشت. با این حال، در جیره حاوی ۰/۱ درصد تیمول، این افزایش در طول زمان ادامه یافت و اختلاف معنی‌داری بین روزهای ۹ و ۱۲ مشاهده نشد ($P \geq 0.05$). در پایان دوره، کمترین (1.5 ± 0.33 میلی اکسیژن در کیلوگرم روغن) و بیشترین (13.1 ± 1.15 میلی اکسیژن در کیلوگرم روغن) مقدار پراکساید به ترتیب در فیله‌های ماهیان تغذیه شده با ۰/۳ درصد تیمول و نمونه‌های شاهد ثبت شد. براساس خط حد قابل پذیرش رسم شده در نمودار ۲، مقدار پراکساید در تمامی نمونه‌ها تا روز ۹ نگهداری پائین تر از حد مجاز بود، در حالی که در پایان دوره نگهداری (روز ۱۲)، تنها نمونه ای تیمار ۰/۱ و ۰/۳ درصد تیمول پائین تر از حد مجاز بوده و دو تیمار دیگر از حد مجاز فراتر رفتند.



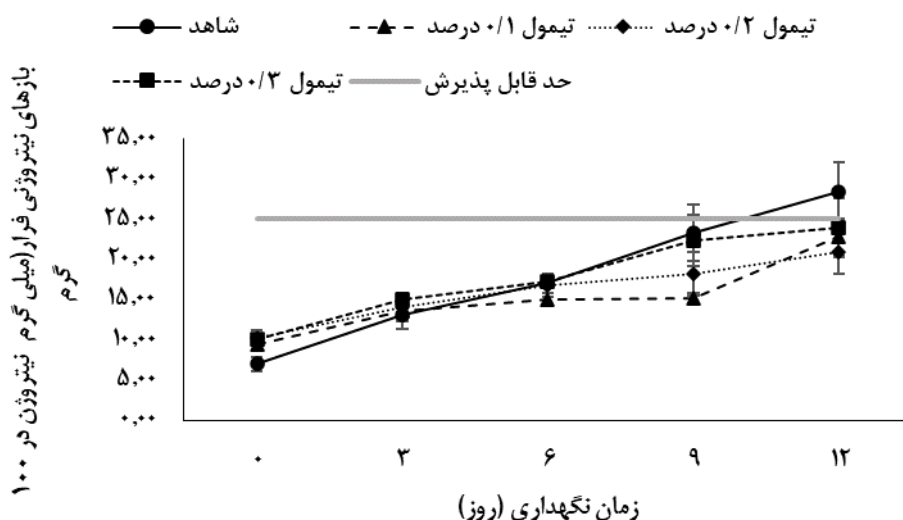
شکل ۲- نمودار تغییرات مقدار پراکساید در فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره حاوی سطوح مختلف تیمول طی نگهداری در یخچال. داده‌های به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شده‌اند.

مقدار ماده واکنش دهنده با ۲-تیوباریتوریک اسید (شکل ۳) در تمامی نمونه‌ها به‌طور پیوسته افزایش یافت و بالاترین میزان برای همه نمونه‌ها در روز ۱۲ به ثبت رسید. در پایان دوره نگهداری، هیچ اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌ها مشاهده نشد ($P \geq 0.05$). با این حال، کمترین میزان (1.12 ± 0.25 میلی گرم مالونوآلدهید در کیلوگرم) و بیشترین میزان (1.40 ± 0.05 میلی گرم مالونوآلدهید در کیلوگرم) به ترتیب در نمونه‌های جیره‌های شاهد و ۰/۲ درصد تیمول به دست آمد. براساس خط حد قابل پذیرش رسم شده در نمودار ۳، همان‌طور که مشاهده می‌شود، به جز نمونه‌های تیمار ۰/۱ درصد تیمول، سایر نمونه‌ها از روز ۹ نگهداری از حد مجاز فراتر رفتند و در پایان دوره نگهداری هیچ کدام از نمونه‌ها پایین تر از حد مجاز نبودند.

مجموع بازهای نیتروژنی فرار (شکل ۴) در تمامی نمونه‌های فیله در مقایسه با زمان شروع نگهداری، به‌طور پیوسته و معنی‌داری افزایش یافت ($P \leq 0.05$). در پایان دوره نگهداری، اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌ها مشاهده نشد ($P \geq 0.05$). با این حال، کمترین میزان (2.09 ± 0.27 میلی گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم) و بالاترین میزان (2.84 ± 0.52 میلی گرم در ۱۰۰ گرم) به ترتیب در ماهی‌های تغذیه شده با جیره ۰/۲ درصد تیمول و جیره‌های شاهد مشاهده شد. براساس خط حد قابل پذیرش رسم شده در نمودار ۴، همان‌طور که مشاهده می‌شود، به جز نمونه‌های تیمار شاهد، سایر نمونه‌ها در پایان دوره نگهداری (روز ۱۲) پایین تر از حد مجاز بودند، اگرچه این اختلاف بسیار کم بود. علاوه بر این تمامی نمونه‌ها تا روز ۹ نگهداری پایین تر از حد قابل پذیرش بودند.



شکل ۳- نمودار تغییرات مقدار ماده واکنش دهنده با ۲- تیوباربیتریک اسید در فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره حاوی سطوح مختلف تیمول طی نگهداری در یخچال. داده‌های به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شده‌اند.



شکل ۴- نمودار تغییرات مجموع بازهای نیتروژنی فرار در فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره حاوی سطوح مختلف تیمول طی نگهداری در یخچال. داده‌های به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شده‌اند.

بحث

عملکرد رشد: با توجه به فرمولاسیون جیره و همچنین افزودن مکمل‌های غذایی جهت دستیابی به تولید پایدار ماهیان و سایر آبزیان خوراکی امر بسیار ضروری است. در مطالعه حاضر جیره حاوی ۰/۲ درصد تیمول مؤثرترین خوراک در عملکرد رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، بود، به‌طوری که ماهی‌های تغذیه‌شده با این جیره بیشترین وزن نهایی (۱۰۳ گرم)، بیشترین افزایش وزن (۸۷/۷۵ گرم)، بیشترین درصد افزایش وزن (۵۷۷/۵۴ درصد)، بیشترین نرخ رشد ویژه (۳/۱۸ درصد) و کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی (۰/۷۱) را داشتند. گیاهان می‌توانند ترشح آنزیم‌های گوارشی مانند آنزیم‌های پانکراس، و نیز هضم و جذب غذا را تحریک کرده و منجر به افزایش وزن حیوان شوند (Frankic et al., 2009). نتایج رشد به‌دست‌آمده در مطالعه حاضر با یافته‌های

Giannenus و همکاران (۲۰۱۲) همخوانی دارد؛ آنها گزارش کردند که قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با ۶ گرم تیمول در هر کیلوگرم خوراک به مدت ۸ هفته، در مقایسه با گروه‌های شاهد دارای وزن نهایی بالاتر و ضریب تبدیل غذایی پایین‌تری بود. در همین راستا، اثرات مثبت جیره‌های حاوی تیمول و کارواکرول بر فرایندهای متابولیک و هضم غذا پیش‌ازین در قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با جیره حاوی ۱/۵ گرم تیمول در هر کیلوگرم خوراک تأیید شده بود؛ این امر منجر به تغییر قابل‌توجهی در نرخ رشد ویژه (۱۱/۵ درصد)، افزایش وزن بدن (۲۰/۳ درصد)، و ضریب تبدیل غذایی (۲۰/۵ درصد) در مقایسه با جیره شاهد گردید (Sönmez et al., 2015). به‌طور کلی، یافته‌های آنها پیشنهاد می‌کند که تیمول یا منابع گیاهی غنی از تیمول می‌توانند به‌طور مثبتی بر عملکرد رشد ماهی تأثیر بگذارند. علاوه بر این، تیمول یک ترکیب زیست‌فعال است و می‌تواند شرایط فیزیولوژیک دستگاه گوارش ماهی را بهبود بخشد و موجب افزایش عملکرد رشد ماهی شود (Zargar et al., 2019). همان‌طور که فرض شده بود، اثر مثبت تیمول در این مطالعه براساس نتایج به‌دست‌آمده مربوط به عملکرد رشد قزل‌آلای رنگین‌کمان تأیید شد؛ بنابراین، جیره حاوی ۰/۲ درصد تیمول موجب بهبود ضریب تبدیل غذایی گردید و در مقایسه با گروه‌های شاهد، ماهیان به وزن نهایی بالاتری در پایان دوره پرورش دست یافتند. افزون بر این، برتری جیره حاوی ۰/۲ درصد تیمول ممکن است منعکس‌کننده فعالیت ضد میکروبی بهینه بدون ایجاد مسمومیت باشد، چرا که دوزهای بالاتر (۰/۳ درصد) می‌توانند موجب اختلال در میکروبیوتای روده یا القای استرس اکسیداتیو شوند؛ امری که با پاسخ‌های دوز-پاسخ غیرخطی در ترکیبات فیتوژنیک مطابقت دارد (Zheng et al., 2009). مطالعات فارماکوکینتیک نشان می‌دهند که جذب تیمول در ماهیان در سطوح متوسط به اوج خود می‌رسد و پس از آن، زیست دسترس‌پذیری این ترکیب کاهش می‌یابد (Kong et al., 2021).

وضعیت آنتی‌اکسیدانی عضله: نتایج این مطالعه نشان داد که تغذیه قزل‌آلای رنگین‌کمان با جیره حاوی ۰/۲ و ۰/۳ درصد تیمول، از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و کاتالاز در مقایسه با گروه شاهد، وضعیت آنتی‌اکسیدانی عضله ماهی را در پایان دوره پرورش بهبود می‌بخشد. به‌همین ترتیب، میزان مالونوآلدهید در عضله ماهی‌های تغذیه‌شده با ۰/۲ یا ۰/۳ درصد تیمول پایین‌تر از سایر ماهی‌ها بود. استرس القا شده در طول پرورش ماهی اثرات زیان‌باری بر عملکرد رشد، میزان خوراک مصرفی، بازدهی خوراک، قابلیت هضم مواد مغذی، پاسخ‌های ایمنی و آنتی‌اکسیدانی، مقاومت در برابر بیماری‌ها و کاهش کیفیت گوشت طی دوران نگهداری دارد (Suarez et al., 2015; Li et al., 2023). دستگاه‌های آنتی‌اکسیدانی، از جمله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، جهت خنثی‌سازی اثرات مضر گونه‌های اکسیژن فعال توسعه یافته‌اند (Gutteridge and Halliwell, 2015). پرو اکسیداسیون لیپیدی نقشی کلیدی در از دست رفتن عملکرد سلولی تحت استرس اکسیداتیو ایفا می‌کند (Li et al., 2011)؛ بنابراین، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها در جیره ماهی جهت بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آنها توصیه می‌شود. ویتامین E و نانو سلنیوم به‌کاررفته در جیره قزل‌آلای رنگین‌کمان هر دو منجر به فعالیت بالای آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و کاتالاز و همچنین محتوای پایین مالونوآلدهید در عضله ماهی شدند (Naderi et al., 2019). در واقع، افزودن آنتی‌اکسیدان‌ها به جیره ماهی، وضعیت آنتی‌اکسیدانی ماهی را طی پرورش بهبود می‌بخشد؛ از این رو، یافته‌های مطالعه ما این فرضیه را تأیید کرد. فعالیت بالای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در عضلات ماهی‌های تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی آنتی‌اکسیدان، ناشی از توانایی افزودنی‌های آنتی‌اکسیدانی در کاهش تجمع رادیکال‌های آزاد است (Pes et al., 2018). در آبی‌پروری، استفاده بیش از حد از آنتی‌بیوتیک‌ها به‌عنوان محرک رشد یا جهت پیشگیری از بیماری می‌تواند منجر به اشباع استرس و در نتیجه پیامدهای نامطلوب شود (Gaskins et al., 2002). استفاده از مکمل‌های گیاهی با محتوای بالای ترکیبات فنولی کل در جیره ماهی می‌تواند از تشکیل رادیکال‌های آزاد جلوگیری کرده و وضعیت آنتی‌اکسیدانی ماهیان مختلف از جمله قزل‌آلای رنگین‌کمان را بهبود بخشد؛ بنابراین، این محصولات می‌توانند به‌عنوان جایگزین‌های طبیعی برای آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد در خوراک ماهی استفاده شوند (Mau et al., 2002; Yang et al., 2002). استفاده از تیمول در جیره غذایی به میزان ۰/۰۱ و ۰/۰۴ درصد به‌ترتیب موجب بهبود رشد و وضعیت آنتی‌اکسیدانی در بچه‌ماهی تیلاپیا نیل (*Oreochromis niloticus*) و ماهی سر ماری (*Channa argus*) گردید (Amer et al., 2018; Kong et al., 2020). پاسخ‌های اختصاصی گونه‌ای ممکن است

ناشی از تفاوت در متابولیسم چربی (به عنوان مثال، اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه) بالاتر در قزل آلاهی رنگین کمان در مقایسه با تیلایپا باشد که نشان دهنده کاربرد گسترده تر تیمول در قزل آلاهی رنگین کمان در مقایسه با گونه های همه چیزخوار مانند تیلایپا و دتریت خوار مانند ماهی سر ماری است. علاوه بر این، ماهیت چربی دوست تیمول احتمالاً زیست دسترس پذیری آن را در جیره پرچربی مانند جیره به کاررفته در این مطالعه (با ۱۵ درصد چربی) افزایش داده است؛ این ویژگی پتانسیل تقویت اثرات آنتی اکسیدانی را از طریق بهبود جذب دارا است (El-Saadony et al., 2021). با این حال، هیچ تحلیل متقابلی به صورت مستقیم انجام نشد؛ سنجش های قابلیت هضم در محیط آزمایشگاهی در آینده می تواند این موضوع را تأیید کند.

فساد اکسیداتیو: مقدار pH طی نگهداری در یخچال (شکل ۱) در تمامی نمونه ها، به استثنای نمونه های شاهد، روند افزایشی نشان داد. کاهش pH طی فرآیند پس از مرگ به دلیل فرآیند گلیکوژنیز رخ می دهد که پس از مرگ ماهی اتفاق می افتد (Ruiz-Capillas and Moral, 2001). از سوی دیگر، افزایش pH ممکن است ناشی از افزایش محتوای بازهای فرار مانند آمونیاک و نری متیل آمین باشد که توسط آنزیم های درون زاد یا میکروبی تولید می شوند؛ موضوعی که پیش از این نیز گزارش شده است (Chamanara et al., 2013; Chaijan et al., 2005). در این مطالعه، افزایش pH تا حدی می تواند به افزایش مجموع بازهای نیتروژنی فرار نسبت داده شود (شکل ۴). این یافته با گزارش Kamireddy و همکاران (۲۰۱۱) هم راستاست، چنانچه، آنها نشان دادند که دامنه تغییرات pH در عضله قزل آلاهی رنگین کمان تغذیه شده با مکمل ویتامین E (۲۰۰ و ۵۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم خوراک) بین ۶/۴۰ تا ۶/۶۵ بود و اثرات ضعیف ویتامین E آنتی اکسیدانی در جیره بر تغییرات pH، مشابه نتایج مطالعه ما، تأیید گردید (Kamireddy et al., 2011). با وجود الگوی افزایشی pH که در مطالعه حاضر مشاهده شد، نوسانات pH در طول زمان کم بود و دامنه محتوای pH در تمامی نمونه ها طی نگهداری بین ۶/۲۶ تا ۶/۵۶ قرار داشت که با نتایج مطالعات یادشده مطابقت داشت. به طور کلی در این مطالعه، تیمول اثربخشی پایینی بر pH فیله های قزل آلاهی رنگین کمان دارد که منجر به تغییرات ناچیز آن طی نگهداری می شود.

عدد پراکسید به طور گسترده برای اندازه گیری سطوح پراکسیدها و هیدروپراکسیدها که در مرحله اول اکسیداسیون چربی تشکیل می شوند، استفاده می گردد (Alsaggaf et al., 2017). محتوای بالای اسیدهای چرب تک غیراشباع و چند غیراشباع در ماهی، آن را در برابر اکسیداسیون چربی حساس می سازد که این امر ماندگاری آن را محدود می کند. روند تغییرات پراکسید طی دوره نگهداری برای تمامی نمونه ها افزایشی بود (شکل ۲). لازم به ذکر است که نوساناتی در گروه های ۰/۲ درصد و ۰/۳ درصد تیمول در طول زمان مشاهده شد؛ بنابراین، کاهش در روز ۹ در گروه های ۰/۲ تا ۰/۳ درصد پیشنهادکننده تجزیه پراکسیدهای اولیه به محصولات اکسیداسیون ثانویه است. کاهش پراکسید مشاهده شده در روز ۹ با سینتیک اکسیداسیون چربی مطابقت دارد، جایی که هیدروپراکسیدها به آلدهیدها و کتون ها تجزیه می شوند (Laguerre et al., 2007) و این امر با افزایش ماده واکنش دهنده با ۲- تیوبایتوریک اسید همبستگی دارد (شکل ۳). تیمول ممکن است این فرآیند را از طریق خنثی سازی رادیکال های آزاد تثبیت کند. در یک ماهی با کیفیت قابل قبول، مقدار پراکسید نباید از ۱۰ میلی اکی والان اکسیژن در کیلوگرم فراتر رود، از این رو این مقدار به عنوان حد مجاز پراکسید ماهی طی نگهداری در نظر گرفته می شود (Ozogul et al., 2006). در این مطالعه، پراکسید در فیله های ماهی تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۱ و ۰/۳ درصد تیمول در پایان دوره نگهداری نمونه ها (روز ۱۲) کمتر از حد مجاز ذکر شده بود. در حالی که در نمونه های دو تیمار شاهد و ۰/۲ درصد در پایان دوره نگهداری عدد پراکسید از حد مجاز فراتر رفت که نشان رخ دادن فساد اکسیداسیونی در این نمونه ها بود. افزون بر این، نتایج نشان داد که در تمامی نمونه ها تا روز ۹ نگهداری عدد پراکسید در محدوده قابل پذیرش قرار داشت تا حاکی از پایداری اکسیداتیو فیله تا روز ۹ نگهداری بود. یافته های مربوط به نمونه های دو تیمار ۰/۱ و ۰/۳ درصد تیمول در راستای نتایج اندازه گیری پراکسید در لاشه قزل آلاهی رنگین کمان تغذیه شده با روغن سیاه دانه در مرحله نهایی نگهداری در دمای 2 ± 1 درجه سانتی گراد به مدت ۲۳ روز بود، در تحقیق مذکور پراکسید در تمامی نمونه ها زیر حد مجاز بوده است (Oz, 2017). میزان پراکسید در فیله های ماهی تغذیه شده با سطوح مختلف تیمول در پایان دوره نگهداری به طور معنی داری پایین تر از ماهی های تغذیه شده با جیره شاهد بود که این امر می تواند ناشی از خواص آنتی اکسیدانی

تیمول باشد. بیان شده است که آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌توانند بر واکنش‌های آنزیمی باکتری‌های مرتبط با اکسیداسیون چربی در ماهی تأثیر گذاشته و تولید پراکسیدها و هیدروپراکسیدها را کاهش دهند (Alizadeh Amoli et al., 2019). میزان ماده واکنش‌دهنده با ۲-تیوباربیتریک اسید در طول زمان در تمامی نمونه‌ها در مقایسه با ابتدای نگهداری افزایش یافت. تصور می‌شود که واکنش‌دهنده با ۲-تیوباربیتریک اسید شاخصی از تازگی ماهی است که درجه اکسیداسیون ثانویه را براساس محتوای مالون‌دی‌آلدهید نشان می‌دهد (Goulas and Kontominas, 2007). در پایان نگهداری، ماهی‌های تغذیه‌شده با ۰/۲ درصد تیمول کمترین میزان واکنش‌دهنده با ۲-تیوباربیتریک اسید ($12/25 \pm 1/0$ میلی گرم مالون‌آلدهید در کیلوگرم) را داشتند. محدوده قابل قبول ماده واکنش‌دهنده با ۲-تیوباربیتریک اسید در محصولات برپایه ماهی ۱ میلی گرم مالون‌آلدهید در کیلوگرم است و این مقدار به عنوان حد قابل پذیرش شناخته می‌شود (Karki et al., 2023). در این مطالعه، ماده واکنش‌دهنده با ۲-تیوباربیتریک اسید در پایان ۱۲ روز نگهداری در یخچال در محدوده ۱/۱۲ تا ۱/۴ میلی گرم مالون‌آلدهید قرار داشت که نشان‌دهنده عبور این شاخص از حد مجاز ذکر شده بود. براساس این شاخص، پایداری اکسیداتیو عضله ماهی طی نگهداری تا روز ۹ و در نمونه‌های تیمار ۰/۱ درصد تیمول وجود داشت. فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای اسانس آویشن به دلیل حضور تیمول به عنوان یک ترکیب فنولی، از طریق کاهش ماده واکنش‌دهنده با ۲-تیوباربیتریک اسید در فیله‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان پوشش داده شده با سدیم آلزینات و کیتوزان در ترکیب با اسانس آویشن ($0/54$ میلی گرم مالون‌آلدهید) در مقایسه با نمونه‌های شاهد ($1/29$ میلی گرم مالون‌آلدهید در کیلوگرم) تأیید شده است (Raeisi et al., 2020). یافته‌های مطالعه یادشده، نتایج مطالعه حاضر فعالیت آنتی‌اکسیدانی تیمول را تأیید کرد، چرا که به حفظ ماده واکنش‌دهنده با ۲-تیوباربیتریک اسید در سطوح پایین در طی نگهداری فیله در یخچال (تا روز ۹) کمک نمود (شکل ۳).

یافته‌های مطالعه حاضر (شکل ۴) روند افزایشی مجموع بازهای نیتروژنی فرار را در طول زمان در تمامی نمونه‌ها نشان داد. در پایان نگهداری، هیچ اختلاف معنی‌داری ($P \geq 0/05$) میان نمونه‌ها وجود نداشت، اما کمترین میزان مجموع بازهای نیتروژنی فرار در فیله‌های ماهی تغذیه‌شده با ۰/۲ درصد تیمول یافت شد ($20/91 \pm 2/72$ میلی گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم). میزان مجموع بازهای نیتروژنی فرار به‌طور گسترده برای تعیین کیفیت ماهی استفاده می‌شود (Güroy et al., 2019). ترکیبات مختلفی از جمله آمونیاک، متیل آمین، دی متیل آمین و تری متیل آمین، بازهای نیتروژنی فرار را تشکیل می‌دهند که توسط فعالیت تجزیه‌ای باکتری‌ها و آنزیم‌های درون‌زاد تولید می‌شوند (Ozogul and Ozogul, 2004; Motavaf et al., 2020). حد مجاز مجموع بازهای نیتروژنی فرار در برای محصولات ماهی ۲۵ میلی گرم نیتروژن در کیلوگرم بیان شده است (Arashisar et al., 2004; Soleimani et al., 2024). بر این اساس، در پایان ۱۲ روز نگهداری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در یخچال، ماهی‌های تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی سطوح مختلف تیمول دارای کیفیت قابل قبولی بودند و تنها نمونه‌های گروه‌های شاهد قابل پذیرش نبودند. افزون بر این تا روز ۹ نگهداری این شاخص در تمامی نمونه‌ها کمتر از حد قابل پذیرش بود که نشان‌دهنده پایداری فیله ماهی از نظر این شاخص می‌باشد. علاوه بر این یافته‌های این مطالعه تأیید کننده اثر نسبتاً قوی آنتی اکسیدانی تیمول بود. بهبود ماندگاری قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با اسپیرولینا در غلظت ۴ درصد که در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ روز نگهداری شده بود، نتایج این مطالعه را تأیید کرد (Güroy et al., 2019). زیرا مقادیر مجموع بازهای نیتروژنی فرار در تمامی نمونه‌ها طی نگهداری از حد مجاز تجاوز نکرد. در مطالعه حاضر، محدودیتی در رابطه با عدم انجام تحلیل‌های مولکولی، مانند بیان ژن برای مسیر Nrf2 در آنتی‌اکسیدان‌ها وجود داشت که می‌توانست سازوکارهای مرتبط با اثربخشی مکمل سازی تیمول را بیشتر روشن سازد.

نتیجه‌گیری

در مجموع، طی دوره آزمایش تغذیه‌ای ۶۰ روزه، افزودن ۰/۲ درصد تیمول به عنوان یک آنتی‌اکسیدان به جیره قزل‌آلای رنگین‌کمان، شاخص‌های عملکرد رشد، به‌ویژه وزن نهایی و ضریب تبدیل غذایی را بهبود بخشید. علاوه بر این، سطوح ۰/۲ و ۰/۳ درصد تیمول ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عضله را ارتقا دادند. براساس یافته‌های این مطالعه، مکمل سازی جیره با تیمول، طبق ارزیابی‌های

صورت گرفته با شاخص های فساد اکسیداتیو نظیر محتوای پر اکساید و مجموع بازهای نیتروژنی فرار، پتانسیل بهبود کیفیت فیله و افزایش پایداری اکسیداتیو را تا ۹ روز نگهداری در یخچال را دارد. بررسی های بیشتری برای روشن شدن سازوکارهای اختصاصی زمینه ساز مسیرهای سیگنال دهی طی مکمل سازی تیمول مورد نیاز است. همچنین، تعیین اشکال و سطوح مناسب تیمول جهت استفاده در قزل آلا ی رنگین کمان حائز اهمیت حیاتی است.

ملاحظات اخلاقی

حامی مالی

موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

نویسندگان اصول اخلاقی را در انجام و انتشار این پژوهش علمی رعایت نموده اند و این موضوع مورد تأیید آنهاست.

بیانیه دسترسی به داده ها

داده هایی پژوهش حاضر از طریق درخواست از نویسندگان قابل دسترسی است.

References

- Aanyu M, Betancor M.B., Monroig O. 2018.** Effects of dietary limonene and thymol on the growth and nutritional physiology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 488, 217-226.
- Ahmadifar E., Falahatkar B., Akrami R. 2011.** Effects of dietary thymol-carvacrol on growth performance, hematological parameters, and tissue composition of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Applied Ichthyology* 27(4), 1057-1060.
- Alagawany M., Farag M.R., Abdelnour S.A., Elnesr S.S. 2021.** A review on the beneficial effect of thymol on health and production of fish. *Reviews in Aquaculture* 13(1), 632-641.
- Alizadeh Amoli Z., Mehdizadeh T., Tajik H., Azizkhani M. 2019.** Shelf-life extension of refrigerated, vacuum-packed rainbow trout dipped in an alginate coating containing an ethanolic extract and/or the essential oil of *Mentha Aquatica*. *Chemical Papers* 73, 2541-2550.
- Alsaggaf M.S., Moussa S.H., Tayel A.A. 2017.** Application of fungal chitosan incorporated with pomegranate peel extract as edible coating for microbiological, chemical and sensorial quality enhancement of Nile tilapia fillets. *International Journal of Biological Macromolecules* 99: 499-505.
- Amer SA., Metwally AE., Ahmed SA. 2018.** The influence of dietary supplementation of cinnamaldehyde and thymol on the growth performance, immunity and antioxidant status of mono sex Nile tilapia fingerlings (*Oreochromis niloticus*). *Egyptian Journal of Aquatic Research* 1,44(3), 251-6.
- Arashisar Ş., Hisar O., Kaya M., Yanik T. 2004.** Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. *International journal of food microbiology* 97(2), 209-214.
- Araujo P., Sarmiento V., Elvebø O., Heavyside R., Ødegård E., Sharma S., Hamre K. 2025.** Natural Antioxidants in Salmon Aquaculture: Processing Fate, Tissue Deposition, and Oxidative Protection. *Aquaculture Nutrition* 2025(1), 2393517.
- Asimi O.A., Sahu N.P. 2013.** Herbs/spices as feed additive in aquaculture. *Scientific Journal of Pure and Applied Sciences* 2(8), 284-292.
- Bakhshi F., Najdegerami E.H., Eimanian A., Moghanloo K.S. 2016.** Effect of biofloc technology on growth performances, body composition and reduction of economic costs in intensive culture of common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles. *Journal of Veterinary Research* 71(2), 163-169. (In Persian)

- Baltacıoğlu E., Akalın F.A., Alver A., Değer O., Karabulut E. 2008.** Protein carbonyl levels in serum and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis. *Archives of Oral Biology* 53(8), 716-722.
- Bharathi S., Antony C., Cbt R., Arumugam U., Ahilan B., Aanand S. 2019.** Functional feed additives used in fish feeds. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies* 7(3), 44-52.
- Bligh E. G., Dyer W.J., 1959:** A rapid method of total lipid extraction and purification Canadian.
- Buege J.A., Aust S.D. 1978.** Microsomal lipid peroxidation. *In Methods in enzymology* 52, 302-310.
- Chaijan M., Benjakul S., Visessanguan W., Faustman C. 2005.** Changes of pigments and color in sardine (*Sardinella gibbosa*) and mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) muscle during iced storage. *Food Chemistry* 93(4), 607-617.
- Chamanara V., Shabanpour B., Khomeiri M., Gorgin S., 2013.** Shelf-life extension of fish samples by using enriched chitosan coating with thyme essential oil. *Journal of Aquatic Food Product Technology* 22(1): 3-10.
- Egan H., Kirk R.S., Sawyer R. 1981.** *Pearson's chemical analysis of foods*. No. Ed. 8: 591.
- El-Saadony MT., Zabermawi NM., Zabermawi NM., Burollus MA., Shafi ME., Alagawany M., Yehia N., Askar AM., Alsafy SA., Noreldin AE., Khafaga AF. 2023.** Nutritional aspects and health benefits of bioactive plant compounds against infectious diseases: a review. *Food Reviews International* 39(4), 2138-2160.
- Farzollahi L., Sarvi M.K., Imani A., Azizibasir M., 2020.** Single and Combined Effects of Chicory (*Chicory intybus*) and St John's-Wort (*Hypericum perforatum*) on Growth Performance and Digestive Enzymes Activity of *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Plasma & Biomarkers* 50(13), 29-4.
- FrAnKIČ T., Voljč M., Salobir J., Rezar V. 2009.** Use of herbs and spices and their extracts in animal nutrition. *Acta agriculturae slovenica* 94(2), 95-102.
- Gaskins H.R., Collier C.T., Anderson D.B. 2002.** Antibiotics as growth promotants: mode of action. *Animal Biotechnology* 13(1), 29-42.
- Giannenas I., Triantafillou E., Stavrakakis S., Margaroni M., Mavridis S., Steiner T., Karagouni E., 2012.** Assessment of dietary supplementation with carvacrol or thymol containing feed additives on performance, intestinal microbiota and antioxidant status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 350, 26-32.
- Goulas A.E., Kontominas M.G. 2007.** Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry* 100(1), 287-296.
- Güroy B., Güroy D., Mantoğlu S., Çelebi K., Şahin O.I., Kayalı, S., Canan B. 2019.** Dietary Spirulina (*Arthrospira platensis*, Gomont, 1892) improved the flesh quality and shelf life of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) fed fish meal or plant-based diet. *Aquaculture Research* 50(9), 2519-2527.
- Halliwell B., Gutteridge J.M., 2015.** Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press, USA. Fifth Edition.
- Jiang W.D., Feng L., Liu Y., Jiang J., Hu K., Li S.H., Zhou X.Q. 2010.** Lipid peroxidation, protein oxidant and antioxidant status of muscle, intestine and hepatopancreas for juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) fed graded levels of myo-inositol. *Food Chemistry* 120(3), 692-697.
- Jiang W.D., Liu Y., Jiang J., Hu K., Li S.H., Feng L., Zhou X.Q. 2013.** In vitro interceptive and reparative effects of myo-inositol against copper-induced oxidative damage and antioxidant system disturbance in primary cultured fish enterocytes. *Aquatic Toxicology* 132, 100-110.
- Kamireddy N., Jittinandana S., Kenney P.B., Slider S.D., Kiser R.A., Mazik P.M., Hankins J.A. 2011.** Effect of dietary vitamin E supplementation and refrigerated storage on quality of rainbow trout fillets. *Journal of Food Science* 76(4), S233-S241.
- Kark S., Chowdhury S., Dora K.C., Murmu P., Nath S. 2023.** Influence of a traditional herb (*Bergenia ciliata*) from darjeeling himalayas on lipid oxidation and sensorial quality of sous-vide cooked tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Aquatic Food Product Technology* 32(3), 256-268.

- Kong YD., Li M., Xia CG., Zhao J., Niu XT., Shan XF., Wang GQ. 2021. The optimum thymol requirement in diets of *Channa argus*: effects on growth, antioxidant capability, immune response and disease resistance. *Aquaculture Nutrition* 27(3), 712-22.
- Laguerre M., Lecomte J., Villeneuve P. 2007. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Progress in Lipid Research* 46(5), 244-82.
- Li X., Wu L., Duan L., Wang W., Zhao P., Wu M., Song W., Huang F. 2023. Effects of Dietary Curcumin on Growth and Flesh Quality in Juvenile Genetically Improved Farmed Tilapia (GIFT, *Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Research* 2023(1), 6013669.
- Li Z.H., Velisek J., Zlabek V., Grabic R., Machova J., Kolarova J., Li P., Randak T. 2011. Chronic toxicity of verapamil on juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effects on morphological indices, hematological parameters and antioxidant responses. *Journal of Hazardous Materials* 185(2-3), 870-880.
- Mau J.L., Lin H.C., Chen C.C. 2002. Antioxidant properties of several medicinal mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(21), 6072-6077.
- Mishra V., Shah C., Mokashe N., Chavan R., Yadav H., Prajapati J. 2015. Probiotics as potential antioxidants: a systematic review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63(14), 3615-3626.
- Motavaf F., Mirvaghefi A., Farahmand H., Hosseini S.V. 2021. Effect of Zataria multiflora essential oil and potassium sorbate on inoculated *Listeria monocytogenes*, microbial and chemical quality of raw trout fillet during refrigerator storage. *Food Science & Nutrition* 9(6), 3015-3025.
- Naderi M., Keyvanshokoo S., Ghaedi A., Salati A.P. 2019. Interactive effects of dietary nano-selenium and vitamin E on growth, haematology, innate immune responses, antioxidant status and muscle composition of rainbow trout under high rearing density. *Aquaculture Nutrition* 25(5), 1156-1168.
- Öz M., Dikel S., Durmuş M., Özoğul Y. 2017. Effects of black cumin oil (*Nigella sativa*) on sensory, chemical and microbiological properties of rainbow trout during 23 days of storage at 2±1 C. *Journal of Aquatic Food Product Technology* 26(6), 665-674.
- Özogul Y., Özogul F. 2004. Effects of slaughtering methods on sensory, chemical and microbiological quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) stored in ice and MAP. *European Food Research and Technology* 219, 211-216.
- Özogul Y., Özogul F., Kuley E., Özkutuk A.S., Gökbulut C. and Köse S. 2006. Biochemical, sensory and microbiological attributes of wild turbot (*Scophthalmus maximus*), from the Black Sea, during chilled storage. *Food chemistry* 99(4), 752-758.
- Pês T.S., Saccol E.M., Londero É.P., Bressan CA., Ourique G.M., Rizzetti T.M., Prestes O.D., Zanella R., Baldisserotto B., Pavanato M.A. 2018. Protective effect of quercetin against oxidative stress induced by oxytetracycline in muscle of silver catfish. *Aquaculture* 484, 120-125.
- Peterson B.C., Bosworth B.G., Li M.H., Beltran R., Santos G.A., 2014. Assessment of a phytogetic feed additive (Digestaron PEP MGE) on growth performance, processing yield, fillet composition, and survival of channel catfish. *Journal of the World Aquaculture society* 45(2), 206-212.
- Raeisi M., Hashemi M., Aminzare M., Ghorbani Bidkorpheh F., Ebrahimi M., Jannat B., Tepe B., Noori S.M.A. 2020. Effects of sodium alginate and chitosan coating combined with three different essential oils on microbial and chemical attributes of rainbow trout fillets. *Journal of Aquatic Food Product Technology* 29(3), 253-263.
- Rawdkuen S., Jongjareonrak A., Phatcharat S., Benjakul S. 2010. Assessment of protein changes in farmed giant catfish (*Pangasianodon gigas*) muscles during refrigerated storage. *International Journal of Food Science & Technology* 45(5), 985-994.
- Rezaei M., Hosseini S.F. 2008. Quality assessment of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chilled storage. *Journal of Food Science* 73(6), H93-H96.
- Ruiz-Capillas C., Moral A. 2001. Correlation between biochemical and sensory quality indices in hake stored in ice. *Food Research International* 34(5), 441-447.

- Soleimani S., Haghighat Khajavi S., Safari R. 2025.** Prolonging Shelf Life and Meat Quality of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) by Immersing in Pine Nut (*Pinus gerardiana*) Extract During Cold Storage. *Food Science & Nutrition* 13(1), e4685.
- Sönmez A.Y., Bilen S., Alak G., Hisar O., Yanık T., Biswas G. 2015.** Growth performance and antioxidant enzyme activities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles fed diets supplemented with sage, mint and thyme oils. *Fish physiology and biochemistry* 41, 165-175.
- Suárez M.D., Trenzado C.E., García-Gallego M., Furné M., García-Mesa S., Domezain A., Alba I., Sanz A. 2015.** Interaction of dietary energy levels and culture density on growth performance and metabolic and oxidative status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquacultural Engineering* 67, 59-66.
- Suvanich V., Jahncke M.L., Marshall D.L. 2000.** Changes in selected chemical quality characteristics of channel catfish frame mince during chill and frozen storage. *Journal of Food Science* 65(1), 24-29.
- Tan X.Y., Luo Z., Zhang G.Y., Liu X.J., Jiang, M. 2010.** Effect of dietary cadmium level on the growth, body composition and several hepatic enzymatic activities of juvenile yellow catfish, *Pelteobagrus fulvidraco*. *Aquaculture Research* 41(7), 1022-1029.
- Viji P., Venkateshwarlu G., Ravishankar C.N., Gopal T.S. 2017.** Role of plant extracts as natural additives in fish and fish products-A review. *Fishery Technology* 54, 145-154.
- Williams G.M., Iatropoulos M.J., Whysner J., 1999.** Safety assessment of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene as antioxidant food additives. *Food and Chemical Toxicology* 37(9-10), 1027-1038.
- Yang J.H., Lin H.C., Mau J.L. 2002.** Antioxidant properties of several commercial mushrooms. *Food Chemistry* 77(2), 229-235.
- Yang H., Li Y., Wang G., Xie J., Kaneko G., Yu E. 2023.** Dietary grape seed proanthocyanidin extract improved the chemical composition, antioxidant capacity, myofiber growth and flesh quality of Nile tilapia muscle. *Aquaculture Reports* 33, 101878.
- Zahedi S., Akbarzadeh A., Mehrzad J., Noori A., Harsij M. 2019.** Effect of stocking density on growth performance, plasma biochemistry and muscle gene expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 498, 271-278.
- Zargar A., Rahimi-Afzal Z., Soltani E., Taheri Mirghaed A., Ebrahimzadeh-Mousavi H.A., Soltani M., Yuosefi P. 2019.** Growth performance, immune response and disease resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed *Thymus vulgaris* essential oils. *Aquaculture Research* 50(11), 3097-3106.
- Zhang X.D., Zhu Y.F., Cai L.S., Wu T.X., 2008.** Effects of fasting on the meat quality and antioxidant defenses of market-size farmed large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). *Aquaculture* 280(1-4), 136-139.
- Zheng Z.L., Tan JY., Liu HY., Zhou XH., Xiang X., Wang KY. 2009.** Evaluation of oregano essential oil (*Origanum heracleoticum* L.) on growth, antioxidant effect and resistance against *Aeromonas hydrophila* in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture* 292(3-4), 214-218.