

اثر عمل آوری میکروویو بر تجزیه پذیری پروتئین کنجاله منداب در شکمبه گاو

• پروین شورنگ

استادیار پژوهشکده علوم و فنون هسته‌ای پژوهشکده تحقیقات کشاورزی پزشکی و صنعتی

• علی نیکخواه

استاد دانشگاه تهران

• علی اصغر صادقی

استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات

تاریخ دریافت مقاله: شهریور ماه ۱۳۸۵ تاریخ پذیرش: بهمن ماه ۱۳۸۵

Email: parvinshawrang@yahoo.co.uk

چکیده

به منظور مطالعه روند تجزیه پذیری پروتئین خام و تعیین نوع پروتئین عبوری کنجاله منداب عمل آوری نشده و عمل آوری شده با میکروویو با قدرت ۱۰۰۰ وات به مدت ۱، ۲ و ۳ دقیقه، آزمایشی با تلفیق روش کیسه‌های نایلونی و تکنیک الکتروفورز ژل پلی آکرلامید (SDS-PAGE) انجام شد. تفاوت معنی دار ($p < 0.05$) بین فراسنجه‌های مختلف تجزیه پذیری و تجزیه پذیری مؤثر پروتئین خام کنجاله منداب عمل آوری نشده و عمل آوری شده مشاهده شد. تجزیه پذیری مؤثر پروتئین خام کنجاله منداب عمل آوری نشده در سرعت عبور ۵٪ در ساعت برابر ۶۵/۹٪ و برای کنجاله منداب عمل آوری شده با میکروویو به مدت ۱، ۲ و ۳ دقیقه به ترتیب ۶۰/۳، ۵۷/۳ و ۵۰/۸٪ بود. دو نوع پروتئین عمده در کنجاله منداب شامل ناپین با دو زیر واحد به وزن مولکولی ۸/۰ و ۹/۶ کیلودالتون و کروسیفترین با چهار زیر واحد به وزن مولکولی ۳۱/۹، ۲۶/۰، ۲۱/۴ و ۱۹/۵ کیلودالتون تشخیص داده شد که به ترتیب ۲۴ و ۵۱ درصد از کل پروتئین کنجاله منداب بودند. زیر واحدهای ناپین کنجاله منداب عمل آوری نشده طی ۲ ساعت و کنجاله عمل آوری شده پس از ۱۲ ساعت انکوباسیون به طور کامل تجزیه شد. در کنجاله عمل آوری شده با میکروویو به مدت ۱ و ۲ دقیقه، چهار زیر واحد پروتئین کروسیفترین پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در شکمبه تجزیه نشد. بین قابلیت هضم پروتئین خام کنجاله منداب عمل آوری نشده و عمل آوری شده با میکروویو به مدت ۱، ۲ و ۳ دقیقه تفاوت معنی دار ($p < 0.05$) وجود داشت. قابلیت هضم بعد شکمبه‌ای پروتئین خام کنجاله منداب ۷۲/۳ درصد و برای کنجاله منداب عمل آوری شده با میکروویو به مدت ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۷۴/۴، ۷۶/۹ و ۷۹/۱ درصد بود. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که عمل آوری کنجاله منداب با قدرت ۱۰۰۰ وات میکروویو به مدت ۳ دقیقه تجزیه پذیری پروتئین خام را در شکمبه کاهش و قابلیت هضم پروتئین خام را در روده افزایش می‌دهد.

کلمات کلیدی: کنجاله منداب، عمل آوری میکروویو، تجزیه پذیری پروتئین، الکتروفورز

Pajouhesh & Sazandegi No 78 pp: 117-124

Effects of microwave irradiation on ruminal protein degradation of rapeseed meal

By: P. Shawrang, Agriculture, Medical and Industrial Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute Karaj, Iran. A. Nikkhab Department of Animal Science, Tehran University, Karaj, Iran. and A.A. Sadeghi, Department of Animal Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

This study was conducted to determine effects of microwave irradiation at power of 1000 W for 1, 2 and 3 min on crude protein (CP) degradation of rapeseed meal by using nylon bags and SDS-PAGE techniques. Ruminal nylon bags of untreated, 1, 2 and 3 min microwave treated rapeseed meal were suspended in the rumen of four holstein cows for up to 48 h. Intestinal crude protein digestibility was measured using the mobile nylon bag technique. The subunits of rapeseed meal proteins and their disappearance patterns were monitored using sodium dodecyl sulphat polyacrylamid gel electrophoresis. There were differences ($p < 0.05$) for the effective CP degradability values among untreated and microwave irradiated rapeseed meal. The effective CP degradability of untreated and microwave irradiated rapeseed meal at a ruminal outflow rate of 0.05/h were 65.9, 60.3, 57.3 and 50.8 %, respectively. From the slab gel analysis, rapeseed meal proteins were composed of two major components, napin and cruciferin, accounting for approximately 24 and 51 percent of the total meal protein, respectively. The molecular weights of 31.9, 26.0, 21.4, 19.5 kDa for cruciferin subunits and 8.0, 9.6 kDa for napin subunits were estimated in this study. Electrophoretic and densitometric analysis of untreated rapeseed meal protein residues revealed that napin subunits were degraded completely within 2 h, whereas the four subunits of cruciferin were not degraded after 48 h incubation. In the microwave irradiated rapeseed meal for 1, 2 and 3 min; subunits of napin were resistant until 8, 12 and 48 h incubation, respectively, as well as the subunits of cruciferin (48 h). There were differences ($p < 0.05$) among crude protein digestibility of untreated and microwave treated rapeseed meal. There were differences ($p < 0.05$) for intestinal CP digestibility between untreated and microwave irradiated rapeseed meal. Intestinal CP digestibility of untreated, 1, 2 and 3 min microwave treated rapeseed meal was 72.3, 74.4, 76.9 and 79.1%, respectively. In conclusion, microwave irradiation of rapeseed meal at power of 1000 W for 3 min appeared to be effective in decreasing ruminal protein degradability and increasing intestinal protein digestibility.

Keywords: Rapeseed meal, Microwave irradiation, Protein degradation, Electrophoresis

پروتئین خام به میزان ۲۵، ۳۳ و ۳۸ درصد نسبت به کنجاله عمل آوری نشده می شود.

به منظور کاربردی تر کردن این عمل آوری در صنعت، کاهش زمان عمل آوری از اهمیت زیادی برخوردار است. تاکنون درباره مدت زمان مناسب عمل آوری کنجاله منداب با میکروویو با قدرت ۱۰۰۰ وات گزارشی منتشر نشده است. هدف از انجام پژوهش حاضر، تعیین مدت زمان مناسب برای عمل آوری کنجاله منداب با میکروویو با قدرت ۱۰۰۰ وات بود.

مواد و روش ها

ترکیبات شیمیایی و نحوه عمل آوری کنجاله منداب

کنجاله منداب مورد مطالعه در این پژوهش از شرکت روغن نباتی جهان تهیه شد. پس از اینکه رطوبت نمونه به ۲۵ درصد رسانده شد در آزمایشگاه شیمی مواد غذایی گروه صنایع غذایی دانشگاه تهران با استفاده از دستگاه میکروفر بوتان مدل ۲۴۵ با قدرت ۱۰۰۰ وات به مدت ۱، ۲ و ۳ دقیقه در معرض امواج میکروویو قرار گرفتند. عمل آوری کنجاله منداب با میکروویو با قدرت ۱۰۰۰ وات به مدت ۴ دقیقه سبب سوختن کنجاله شد به همین دلیل این زمان حذف گردید. ترکیبات شیمیایی نمونه کنجاله

مقدمه

تجزیه پذیری پروتئین کنجاله منداب^۱ در شکمبه زیاد است (۲، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۳، ۱۷، ۲۴، ۲۸). بنابر گزارش Khorasani و همکاران (۱۱) و Kendall و همکاران (۹) پروتئین کنجاله منداب از نظر پروتئین عبوری در بین سایر مکمل های پروتئینی در درجه ضعیف تا متوسط طبقه بندی می شود. روش های مختلفی برای کاهش تجزیه پذیری پروتئین کنجاله منداب ارائه شده است (۱۰، ۱۱، ۱۳، ۱۷، ۱۹، ۲۰، ۲۲، ۲۴، ۲۸). یکی از روش های عمل آوری کنجاله ها که اخیراً مورد مطالعه قرار گرفته است استفاده از امواج کوتاه یا میکروویو می باشد (۲۳، ۲۴). میکروویو از جمله امواج الکترو مغناطیسی و یک عامل فیزیکی واسرشتی^۲ پروتئین است. میکروویو با ایجاد چرخش و اصطکاک مولکول های دو قطبی و یون ها و افزایش برخورد مولکول ها به همدیگر تولید حرارت می کند و برخلاف روش های حرارت دادن معمولی که حرارت از سطح به درون مواد خوراکی نفوذ می کند، حرارت به صورت یکسان در درون و سطح مواد خوراکی ایجاد می شود که از مهمترین مزایای عمل آوری با این روش است (۴). Sadeghi و Shawrang (۲۴) گزارش کردند که عمل آوری کنجاله منداب با میکروویو با قدرت ۸۰۰ وات به مدت ۲، ۴ و ۶ دقیقه سبب کاهش تجزیه پذیری

Laemmli (۱۲) انجام شد. برای استخراج پروتئین جهت انجام الکتروفورز مقصداری از کنجاله منداب (اندازه ذرات ۰/۱ میلی متر) که حاوی ۱ میلی گرم نیتروژن بود (تقریباً ۱۵ میلی گرم ماده خشک کنجاله منداب) به درون لوله‌های اپندرف منتقل شد. ۷۵۰ میکرولیتر بافر استخراج SDS-PAGE حاوی ۰/۶۲۵ مولار تریس-اسید کلریدریک^۶ (pH= ۶/۸)، ۱۰ درصد سدیم دودسیل سولفات^۷، ۲/۵ درصد بتامرکاپتواتانول^۸، ۷ درصد گلیسرول و ۴ میلی گرم بروموفنل بلو^۹ اضافه شد. پس از ۱۵ دقیقه هم زدن بر روی همزن مخصوص لوله اپندرف در دمای ۴ درجه سانتیگراد، پروتئین نمونه‌ها استخراج و پس از قرار دادن در آب ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۳ دقیقه و سانتریفیوژ ۱۰۰۰۰g به مدت ۱ دقیقه، مایع صاف شده بالایی جدا شد (۷). ۱۲). ۲۵ میکرولیتر از مایع صاف شده بالایی نمونه‌های آنکوباسیون نشده و آنکوباسیون شده در شکمبه در ساعات مختلف به چاهک‌های الکتروفورز با ژل بالایی حاوی ۳/۷۵٪ آکریلامید-بیس آکریلامید و ژل پائینی حاوی ۱۴٪ آکریلامید-بیس آکریلامید منتقل شد. ابعاد ژل ۱۴۰ × ۱۱۰ × ۱ میلی متر و مدل دستگاه VEU:۷۳۰۵D (شرکت پایا پژوهش) و شدت جریان ۳۰ میلی آمپر بود. پس از بیرون آوردن ژل از شیشه‌های الکتروفورز با محلول حاوی ۰/۰۶۲۵ گرم رنگ کماسی بریلینت بلو^۱، ۷ درصد اسید استیک گلیسیسیال و ۲۰ درصد متانول به مدت ۱۲ ساعت رنگ آمیزی و سپس با محلول حاوی ۷ درصد اسید استیک گلیسیسیال و ۵ درصد متانول به مدت ۱۲ ساعت رنگبری شد. پس از چندبار شستشو با آب دوبار تقطیر در طول موج ۵۸۰ نانومتر دنسیتومتر و با اسکنر معمولی و دوربین تصویربرداری شد (۷).

تعیین وزن مولکولی زیرواحدها

از مارکر پروتئینی Fermentas با مشخصات پروتئینی بتاگالاکتوزیداز (۱۱۶ کیلودالتون)، آلبومین سرم گاو (۶۶/۲ کیلودالتون)، آلبومین (۴۵ کیلودالتون)، لاکتات دهیدروژناز (۳۵ کیلودالتون)، آندونوکلئاز (۲۵ کیلودالتون)، بتالاکتوگلوبولین (۱۸/۴ کیلودالتون) و لیزوزیم (۱۴/۴ کیلودالتون) برای تعیین وزن مولکولی زیرواحدهای کنجاله مورد مطالعه استفاده شد. حرکت نسبی هر پروتئین مارکر در ژل محاسبه و در مقابل لگاریتم وزن مولکولی آن خط استاندارد رسم شد. با قرار دادن حرکت نسبی هر زیرواحد، لگاریتم وزن مولکولی آن زیرواحد و با آنتی لگاریتم وزن مولکولی زیرواحد معین شد (۷).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

با استفاده از رابطه غیرخطی (رابطه ۱) McDonald و Orskov (۲۱) فراسنجه‌های مختلف تجزیه‌پذیری و تجزیه‌پذیری مؤثر پروتئین خام (رابطه ۲) محاسبه شد.

$$P = a + b(1 - e^{-ct})$$

رابطه ۱:

در این رابطه a بخش سریع تجزیه، b بخش کند تجزیه، c ثابت نرخ تجزیه در واحد زمان و P مقدار ناپدید شدن می‌باشد. با استفاده از رابطه ۲ تجزیه‌پذیری مؤثر (ED) ماده خشک و پروتئین خام در سرعت‌های عبور ۲، ۵ و ۸ درصد در ساعت (k) محاسبه شد.

$$ED = a + bc/(c+k)$$

رابطه ۲

تجزیه آماری داده‌های مربوط به فراسنجه‌های مختلف تجزیه‌پذیری

منداب شامل چربی خام، پروتئین خام و خاکستر به روش AOAC (۱) و دیواره سلولی^۳ به روش ون سوست (۲۹) اندازه‌گیری شد.

حیوانات مورد استفاده و جیره غذایی

آزمایش‌های مربوط به تعیین تجزیه‌پذیری و قابلیت هضم بعدشکمبه‌ای پروتئین خام در چهار رأس گاو ماده هلشتاین غیرشیرده (با متوسط وزن زنده 18 ± 622 کیلوگرم) مجهز به فیستولای شکمبه و کانولای دوازدهه انجام شد. حیوانات با جیره حاوی ۷۰ درصد علوفه (یونجه خشک و ذرت سیلوشده به نسبت ۱:۱) و ۳۰ درصد کنسانتره (جو ۴۶٪، کنجاله منداب ۱۹٪، سبوس گندم ۱۸/۵٪، ذرت ۱۵٪، دی کلسیم فسفات ۱/۱۵٪، نمک ۲۵٪ و مکمل مواد معدنی و ویتامینی ۰/۱٪) به مقدار ۱۳ کیلوگرم ماده خشک در روز به صورت جیره کاملاً مخلوط در دو نوبت صبح و عصر در ساعات ۸:۰۰ و ۱۶:۰۰ تغذیه می‌شدند. حیوانات آزادانه به آب و بلوک‌های لیسیدنی نمک و مواد معدنی دسترسی داشتند (۲۷).

تعیین تجزیه‌پذیری پروتئین خام

با استفاده از روش کیسه‌های نایلونی، مقدار ۵ گرم نمونه کنجاله منداب عمل‌آوری نشده یا عمل‌آوری شده با میکروویو (اندازه ذرات ۲ میلی متر) به مدت صفر، ۲، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت در دو تکرار (دو کیسه) برای هر زمان در شکمبه هر گاو آنکوباسیون شد. کیسه‌های مورد استفاده از جنس پلی استر^۴ و در ابعاد ۲۱ × ۹ سانتیمتر با قطر منافذ ۴۵ میکرومتر مطابق استاندارد توصیه شده توسط Hvelplund و Weisbjerg (۸) بود. پس از طی مدت آنکوباسیون، کیسه‌های حاوی نمونه از شکمبه خارج و پس از شستشو با آب سرد، خشک و سپس توزین شد. تجزیه‌پذیری پروتئین خام کنجاله منداب عمل‌آوری نشده یا عمل‌آوری شده در ساعات مختلف آنکوباسیون شکمبه‌ای با توجه به اختلاف مقدار پروتئین خام نمونه‌ها قبل و بعد از آنکوباسیون در شکمبه محاسبه شد (۲۷).

تعیین قابلیت هضم بعدشکمبه‌ای پروتئین خام

قابلیت هضم بعدشکمبه‌ای پروتئین خام کنجاله منداب عمل‌آوری نشده یا عمل‌آوری شده با میکروویو با استفاده از روش کیسه‌های نایلونی متحرک اندازه‌گیری شد. به این منظور مقدار ۱ گرم باقیمانده نمونه کنجاله منداب عمل‌آوری نشده یا عمل‌آوری شده آنکوباسیون شده در شکمبه به مدت ۱۶ ساعت را در کیسه‌هایی (با همان مشخصات روش کیسه‌های نایلونی) به ابعاد ۳×۴ ریخته و پس از آنکوباسیون در محلول اسید کلریدریک ۱ نرمال حاوی ۱ گرم در لیتر آنزیم پپسین در دمای ۳۹ درجه سانتیگراد به مدت ۱۲ ساعت، تعداد ۱۲ کیسه حاوی نمونه آنکوباسیون شده از طریق کانولای روده‌ای وارد دوازدهه ۳ رأس گاو شد. کیسه‌ها در مدت ۲۴ ساعت از طریق مدفوع گاو‌ها بازیافت شد. کیسه‌های جمع‌آوری شده با آب سرد شستشو و سپس خشک و توزین شد. قابلیت هضم بعد شکمبه‌ای پروتئین خام کنجاله منداب عمل‌آوری نشده یا عمل‌آوری شده با توجه به اختلاف مقدار پروتئین خام نمونه‌ها قبل و بعد از آنکوباسیون در روده محاسبه شد (۲۷).

الکتروفورز

الکتروفورز پروتئین‌ها با استفاده از تکنیک SDS-PAGE به روش

۴۴/۳ تا ۵۹٪ گزارش شده توسط Kendall و همکاران (۹) بود. علت تفاوت بین نتایج این مطالعه و سایر مطالعات به متفاوت بودن واریته منداب، خصوصیات کیسه‌ها و شرایط انکوباسیون مربوط است.

عمل آوری میکروویو سبب کاهش بخش سریع تجزیه (a)، افزایش بخش کند تجزیه (b)، کاهش ثابت نرخ تجزیه (c) و در نهایت کاهش تجزیه پذیری مؤثر در سرعت‌های عبور مختلف شد. در مطالعه Sadeghi و Shawrang (۲۴) عمل آوری با میکروویو اثرات مطلوبی بر کاهش تجزیه پذیری پروتئین کنجاله منداب در شکمبه نشان داد. علت کاهش تجزیه پذیری پروتئین به نفوذ امواج کوتاه در ساختارهای درونی کنجاله و ایجاد حرارت یکنواخت بر اثر افزایش حرکت و برخورد مولکول‌های دو قطبی مربوط می‌شود. حرارت ناشی از عمل آوری میکروویو با ایجاد تغییرات ساختمانی در پروتئین‌ها و افزایش آب‌گریزی سطح پروتئین به دلیل جدا شدن پیوندهای هیدروژنی و سایر پیوندهای ضعیف غیرکوالانسی و تغییر موقعیت اسیدهای آمینه و در نتیجه افزایش آب‌گریزی سطح مولکول پروتئین سبب تشکیل ژل پروتئینی می‌شود (۵) که به کاهش در دسترس بودن گروه‌های فعال شیمیایی مولکول‌های پروتئین و کاهش محلولیت و در نتیجه کاهش تجزیه پذیری مؤثر پروتئین در شکمبه منجر می‌شود.

بر اساس گزارش صادقی و شورنگ (۲۴) عمل آوری میکروویو کنجاله منداب با قدرت ۸۰۰ وات به مدت ۲، ۴ و ۶ دقیقه، تجزیه پذیری مؤثر پروتئین در سرعت عبور ۵٪ در ساعت را در شکمبه گاو نر اخته از ۶۸/۳٪ در کنجاله عمل آوری نشده به ترتیب به ۵۱/۵، ۴۵/۶ و ۴۲٪ کاهش داده است.

وزن مولکولی زیرواحدهای پروتئین‌های کنجاله منداب

شکل ۱ الگوی زیرواحدهای پروتئین‌های کنجاله منداب را نشان می‌دهد. دو نوع پروتئین عمده در کنجاله منداب، پروتئین‌های کروسیفرین (گلوبولین S1۲) با چهار زیرواحد و ناپین (آلبومین S2) با دو زیرواحد و سه زنجیره پلی‌پپتیدی با وزن مولکولی بیشتر از کروسیفرین،

و تجزیه پذیری مؤثر پروتئین خام در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با استفاده از بسته نرم افزاری SAS (۲۵)، رویه Proc GLM انجام شد. پس از تجزیه واریانس، میانگین‌ها با آزمون چند دامنه دانکن مورد مقایسه قرار گرفتند (۲۶).

نتایج و بحث

ترکیبات شیمیایی کنجاله منداب

مقدار ماده خشک، پروتئین خام، عصاره اتری، خاکستر و ترکیبات دیواره سلولی کنجاله منداب بر اساس ماده خشک به ترتیب ۳۵/۹، ۳/۰، ۸/۰ و ۲۶/۰ درصد بود. مقدار پروتئین خام کنجاله منداب مورد مطالعه با مقادیر ۳۶/۶٪ (۲۴)، ۳۸/۸٪ (۲۲) و ۲۷/۷٪ (۲۸) متفاوت بود. ترکیبات شیمیایی کنجاله دانه‌های روغنی متغیر بوده و تحت تاثیر واریته و شرایط اقلیمی محل برداشت دانه روغنی و شرایط و نحوه روغن کشی آنها قرار دارد (۱۶).

تجزیه پذیری پروتئین خام کنجاله منداب

عمل آوری نشده و عمل آوری شده

بنابر تجزیه واریانس داده‌های تجزیه پذیری، اثر حیوان بر فراسنجه‌های مختلف تجزیه پذیری و تجزیه پذیری مؤثر پروتئین خام کنجاله منداب معنی‌دار نبود ($p < 0.05$). تفاوت معنی‌دار ($p < 0.05$) بین میانگین فراسنجه‌های مختلف تجزیه پذیری و تجزیه پذیری مؤثر پروتئین خام کنجاله منداب عمل آوری نشده و عمل آوری شده مشاهده شد (جدول ۱). تجزیه پذیری بالقوه (b+a) پروتئین کنجاله منداب عمل آوری نشده در این مطالعه ۹۵/۳٪ بود که بیانگر زیاد بودن تجزیه پذیری پروتئین خام کنجاله منداب در شکمبه است. تجزیه پذیری مؤثر پروتئین خام کنجاله منداب مورد مطالعه در سرعت عبور ۵٪ در ساعت ۶۵/۹٪ بود که کمتر از نتایج مطالعه مک کینون و همکاران (۱۷)، ۷۳٪، Lindbery و همکاران (۱۳)، ۷۴٪ و Madsen و Hvelplund (۱۴) در دامنه ۶۳-۷۷٪ و بیشتر از مقادیر

جدول ۱- فراسنجه‌های مختلف تجزیه پذیری پروتئین خام کنجاله منداب عمل آوری نشده و عمل آوری شده با میکروویو

تجزیه پذیری مؤثر (درصد) در سرعت عبور (درصد در ساعت)			ثابت نرخ تجزیه (c) درصد در ساعت	بخش کند تجزیه (b) درصد	بخش سریع تجزیه (a) درصد	
۸	۵	۲			عمل آوری نشده	
۵۷/۶ ^a	۶۵/۹ ^a	۷۹/۷ ^a	۷/۳ ^a	۷۲/۱ ^d	۲۳/۲ ^a	عمل آوری نشده
۵۱/۵ ^b	۶۰/۳ ^b	۷۶/۰ ^b	۵/۷ ^b	۷۵/۴ ^c	۲۰/۲ ^b	۱۰۰۰وات: ۱دقیقه
۴۸/۴ ^c	۵۷/۳ ^c	۷۳/۹ ^b	۵/۱ ^{b c}	۷۷/۶ ^{b c}	۱۸/۲ ^c	۱۰۰۰وات: ۲دقیقه
۴۱/۹ ^d	۵۰/۸ ^d	۶۸/۷ ^c	۳/۹ ^d	۸۰/۶ ^a	۱۵/۵ ^d	۱۰۰۰وات: ۳دقیقه
۲/۱۸	۲/۳۴	۲/۴۸	۰/۵۴	۲/۳۸	۱/۴۸	اشتباه معیار

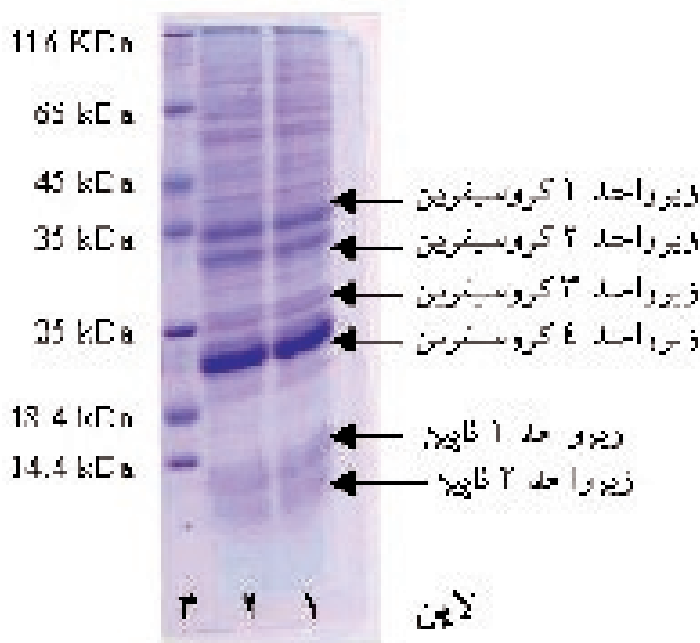
حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) می‌باشد.

حالی که زیر واحد ۳ کروسیفیرین تا زمان ۴۸ انکوباسیون وجود داشت و به طور کامل تجزیه نشد. زیر واحد ۴ کروسیفیرین تا زمان ۸ انکوباسیون وجود داشت و در زمان‌های بعدی ناپدید شد. نبودن پروتئین ناپین در زمان صفر انکوباسیون نشان دهنده شسته شدن و خارج شدن آن از کیسه‌ها است. به دلیل وجود اسیدهای آمینه آب دوست در سطح پروتئین ناپین، این مولکول به مقدار زیادی در آب محلول است (۳، ۵، ۶، ۱۵، ۱۸). برخلاف کنجاله عمل‌آوری نشده، در کنجاله منداب عمل‌آوری شده با میکروویو با قدرت ۱۰۰۰ وات به مدت ۱، ۲ و ۳ دقیقه در زمان صفر و زمان‌های بعدی انکوباسیون پروتئین ناپین وجود داشت و به ترتیب تا زمان ۸، ۸ و ۲۴ انکوباسیون تجزیه نشد. این عمل‌آوری‌ها همچنین سبب محافظت پروتئین کروسیفیرین تا زمان ۴۸ انکوباسیون شد. عمل‌آوری با میکروویو همچنین سبب پایداری زنجیره‌های پلی‌پپتیدی تا زمان ۱۲ انکوباسیون شد. زیرواحدهای پروتئین کروسیفیرین تحت تأثیر این عمل‌آوری تا زمان ۱۲ انکوباسیون وجود داشت، ولی زیرواحد ۴ در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ناپدید و زیرواحد ۳ تا زمان ۴۸ انکوباسیون از تجزیه میکروبی محافظت شد.

Sadeghi و Shawrang (۲۴) گزارش کردند که کنجاله منداب عمل‌آوری شده با میکروویو با قدرت ۸۰۰ وات به مدت ۲، ۴ و ۶ دقیقه در زمان صفر انکوباسیون پروتئین ناپین داشت و به ترتیب تا زمان ۸، ۸ و ۲۴ انکوباسیون تجزیه نشد. این عمل‌آوری‌ها همچنین سبب محافظت پروتئین کروسیفیرین تا زمان ۴۸ انکوباسیون شد. نتایج این پژوهش نشان داد که اثر عمل‌آوری با قدرت ۱۰۰۰ وات میکروویو به مدت ۳ دقیقه در کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین خام کنجاله منداب بیشتر از دو سطح دیگر است. نتایج دنسیتومتری (شکل ۳) نشان داد که در زمان ۱۶ انکوباسیون، به ترتیب ۴۱ و ۵۳٪ پروتئین کنجاله منداب عمل‌آوری نشده و عمل‌آوری شده با قدرت ۱۰۰۰ وات میکروویو به مدت ۳ دقیقه که عمدتاً زیرواحدهای کروسیفیرین است، از شکمبه می‌تواند عبور کند و در تأمین پروتئین قابل متابولیسم سهیم باشد.

قابلیت هضم بعدشکمبه‌ای

تجزیه واریانس نشان داد که اثر حیوان بر قابلیت هضم بعد شکمبه‌ای پروتئین خام کنجاله منداب معنی‌دار نیست ($p > 0.05$). تفاوت معنی‌دار ($p < 0.05$) بین قابلیت هضم بعدشکمبه‌ای پروتئین عبوری کنجاله منداب عمل‌آوری نشده و عمل‌آوری شده با میکروویو مشاهده شد. قابلیت هضم بعد شکمبه‌ای پروتئین خام کنجاله منداب ۷۲/۳ درصد و برای کنجاله منداب عمل‌آوری شده با قدرت ۱۰۰۰ وات میکروویو به مدت ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۷۴/۴، ۷۶/۹ و ۷۹/۱ درصد بود. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که میکروویو سبب افزایش قابلیت هضم بعدشکمبه‌ای پروتئین خام کنجاله منداب می‌شود. در مطالعه McKinnon و همکاران (۱۷) قابلیت هضم پروتئین خام کنجاله منداب عمل‌آوری نشده ۷۷/۳٪ بود که از مطالعه حاضر بیشتر است. Kendall و همکاران (۹) قابلیت هضم پروتئین کنجاله منداب را ۸۴٪ گزارش کردند. متفاوت بودن وارسته

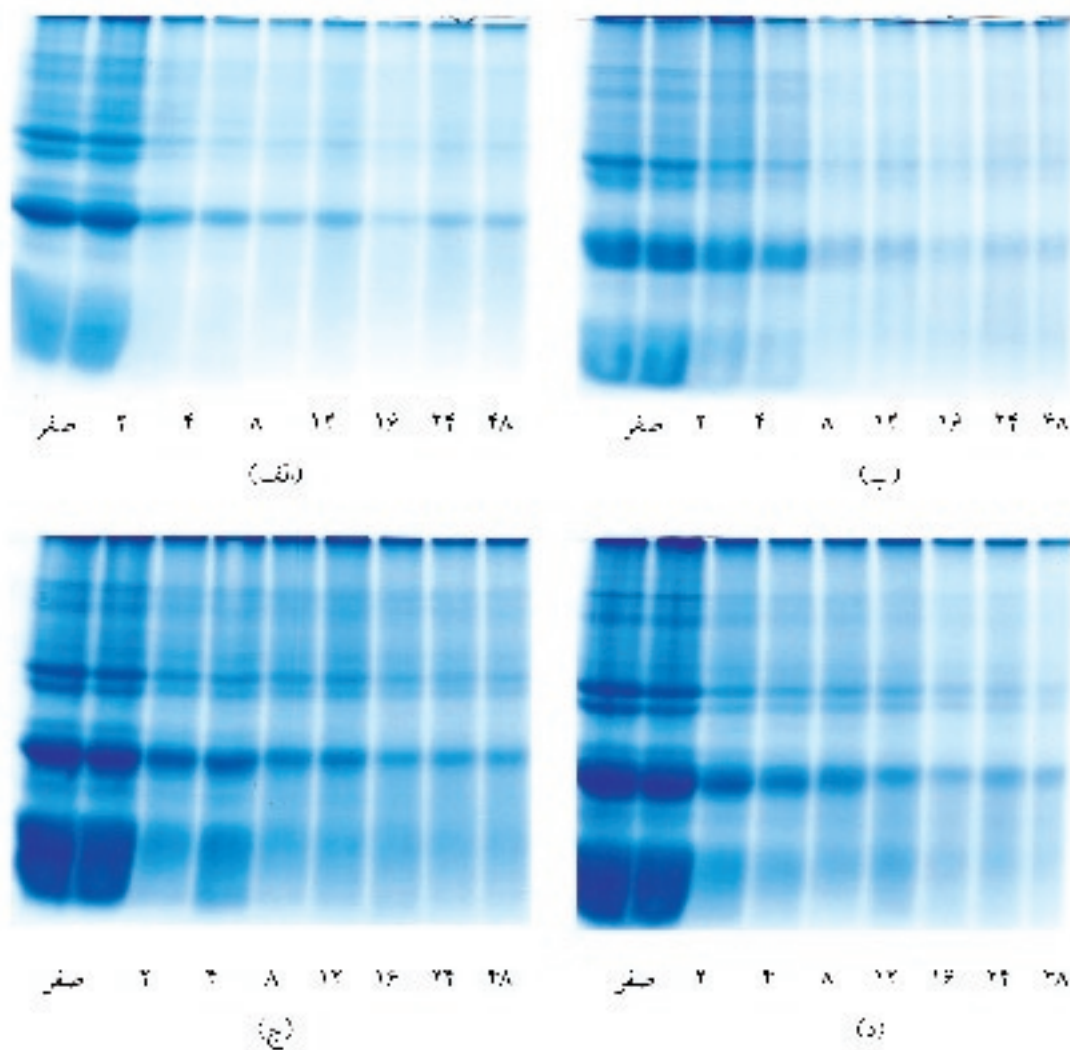


شکل ۱- الگوی زیرواحدهای مارکر پروتئینی (۳) و کنجاله منداب (۲)

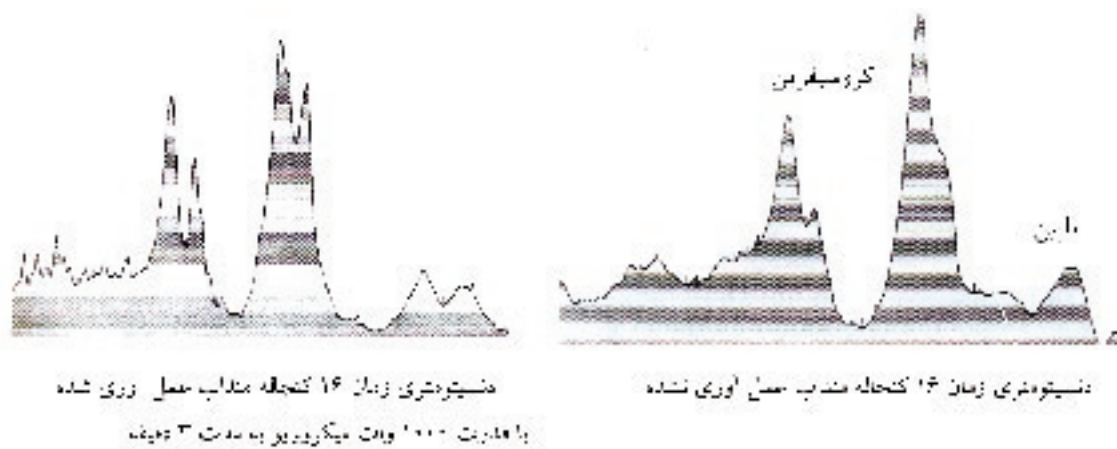
مشاهده شد. وزن مولکولی ناپین با دو زیرواحد به ترتیب ۹/۶ و ۸ کیلودالتون و کروسیفیرین دارای چهار زیرواحد با وزن مولکولی ۳۱/۹، ۲۶، ۲۱/۴ و ۱۹/۵ کیلودالتون بود که به نتایج گزارش شده توسط Sadeghi و Shawrang (۲۴) و Bhatti و همکاران (۳) نزدیک است. نتایج دنسیتومتری (شکل ۳) نشان داد که آلومین (ناپین) و گلوبولین (کروسیفیرین) به ترتیب ۲۴ و ۵۱٪ کل پروتئین‌های کنجاله منداب را تشکیل می‌دهند. Dua و Mahajan (۱۵) گزارش کردند این دو پروتئین به ترتیب ۳۳/۲ و ۴۱/۰٪ کل پروتئین دانه منداب را شامل می‌شود. در این مطالعه مجموع دو پروتئین عمده کنجاله منداب ۷۵٪ کل پروتئین آن بود که به مقدار گزارش شده توسط Sadeghi و Shawrang (۲۴)، ۷۱/۷٪ (به ترتیب ۱۸/۸ و ۵۲/۹٪) نزدیک است. تفاوت بین اعداد گزارش شده توسط این محققان و این پژوهش، صرف نظر از متفاوت بودن نسبت پروتئین‌ها در دانه و کنجاله، به متفاوت بودن وارسته منداب مربوط می‌شود. وارسته منداب مطالعه Dua, Mahajan (۱۵) *B. napus* بود، در حالی که وارسته مورد مطالعه در این پژوهش حاصل تلاقی *B. napus* و *B. compestris* (کنجاله منداب رقم دوص فر) است. *B. napus* حاوی مقادیر بیشتری پروتئین ناپین است.

آنالیز الکتروفورزی تجزیه‌پذیری پروتئین‌های کنجاله منداب

الگوی زیرواحدهای کنجاله منداب عمل‌آوری نشده و عمل‌آوری شده با میکروویو با قدرت ۱۰۰۰ وات به مدت ۱، ۲ و ۳ دقیقه و انکوباسیون شده در شکمبه در شکل ۲ نشان داده شده است. در زمان صفر بخش عمده آلومین (ناپین) کنجاله منداب ناپدید شد و چهار زیر واحد کروسیفیرین (گلوبولین) و سه زنجیره پلی‌پپتیدی با وزن مولکولی بیشتر از کروسیفیرین وجود داشت. این سه زنجیره پلی‌پپتیدی تا زمان ۴ انکوباسیون وجود داشت و در زمان‌های بعدی ناپدید شدند. زیرواحدهای ۱ و ۲ کروسیفیرین نیز تا زمان ۱۲ انکوباسیون وجود داشت و در زمان ۲۴ و ۴۸ انکوباسیون زیرواحد ۲ به طور کامل ناپدید شد. در



شکل ۲- الکتروفورز ژل پلی آکریلامید کنجاله منداب عمل آوری نشده (الف) و عمل آوری شده با قدرت ۱۰۰۰ وات میکروویو به مدت ۰.۱ و ۳ دقیقه (به ترتیب ب، ج و د) انکوباسیون شده در شکمبه گاو (زمان انکوباسیون به ساعت).



شکل ۳- دنتیومتری ژل پلی آکریلامید در طول موج ۵۸۰ نانومتر در ساعات مختلف انکوباسیون.

Doreau, and P. Chapoutot. 1991; Predicting *in situ* degradability of feed proteins in the rumen by two laboratory methods (solubility and enzymatic degradation). Anim. Feed Sci. Technol. 33: 97-116.

3- Bhatti, R. S., S. L. McKenzie and A. J., Finlayson. 1999; The proteins of rapeseed soluble in salt solutions. Can. J. Biochem. 46: 1191-1197.

4- Fakhouri, M.O., and H.S. Ramaswamy. 1993; Temperature uniformity of microwave heated foods as influenced by product type and composition. Food Research International, 26, 89-95.

5- Folawiyo Y. L. and R. K. O., Aparenten. 1997; The effect of heat and acid-treatment on the structure of rapeseed albumin (napin). Food Chemistry. 58: 237-243.

6- Gerbanowski, A.C.R. and J. Guéguen. 2002; Behaviors of bovine serum albumin and rapeseed proteins at the air/water interface after grafting aliphatic or aromatic chains. Journal of Colloid and Interface Science 262: 391-399.

7- Hames, E.D. and Rickwood, D. 1990; Gel Electrophoresis of proteins. 2nd Ed. IRL Press. Oxford. UK.

8- Hvelplund T. and M.R. Weisbjerg. 2000; *In situ* techniques for the estimation of protein degradability and postpartum availability. Eds. Givens, D.J., E. Owen, R.F.F. Axford and H.M. Omed. p.233-258. CAB International Publishing. UK.

9- Kendall, E.M., Ingalls, J.R. and R.J., Boila. 1991; Variability in the rumen degradability and post-ruminal digestion of the dry matter, nitrogen and amino acids of canola meal. Can. J. Anim. Sci. 71: 739-754.

10- Kennelly, J. J. and G. R. Khorasani. 1993; Enhancement of the nutritive value of canola protein by acid treatment. Part C. Influence of acid treatment of canola meal on milk production of early-lactation dairy cows. 10th Project report: Research on canola seed, oil and meal. Canola Council of Canada.

11- Khorasani, G. R., P. H. Robinson, and J. J. Kennelly. 1993; Effects of canola meal treated with acetic acid on ruminal degradation and intestinal digestibility in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 76:1607-1616.

12- Laemmli, U. K. 1970; Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature. 227: 680-688.

13- Lindberg, J. E., H. S. Soliman, and S. Stanne. 1982; A study of the rumen degradation of untreated and heat treated rapeseed meal and of whole rapeseed including a comparison between two nylon bag techniques. Swed. J. Agri. Res. 12: 83-88.

14- Madsen, J., and T. Hvelplund. 1985; Protein degradation in the rumen. Acta Agric. Scand. Suppl. 25:103-124.

15- Mahajan, A. and S. Dua. 1994; Physicochemical properties of

منداب و ترکیب پروتئین آن، محتوی عوامل ضد مغذی و شرایط آزمایش علت تفاوت نتایج قابلیت هضم است.

منداب و Sadeghi و Shawrang (۲۴) گزارش کردند که عمل آوری کنجاله منداب با میکروویو با قدرت ۸۰۰ وات به مدت ۲ و ۴ دقیقه قابلیت هضم پروتئین خام را در شرایط درون شیشه ای (*in vitro*) افزایش و عمل آوری کنجاله منداب با میکروویو با قدرت ۸۰۰ وات به مدت ۶ دقیقه قابلیت هضم پروتئین خام را کاهش می دهد.

نتیجه کلی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تجزیه پذیری پروتئین خام کنجاله منداب در سطح بالایی است و استفاده از میکروویو راهبرد مناسبی برای افزایش بازدهی مورد استفاده قرار گرفتن پروتئین خام آن است. نتایج تجزیه پذیری موثر، الکتروفورز، دنسیتومتری و قابلیت هضم کنجاله منداب عمل آوری نشده و عمل آوری شده نشان داد که عمل آوری میکروویو کنجاله منداب (با ۲۵ درصد رطوبت) با قدرت ۱۰۰۰ وات به مدت ۳ دقیقه سبب عبوری شدن پروتئین خام می شود. همچنین نتایج تعیین قابلیت هضم بعدشکمبه ای نشان داد که این عمل آوری اثر سوئی بر قابلیت هضم بعد شکمبه ای پروتئین عبوری از شکمبه به روده ندارد. عمل آوری میکروویو به دلیل سریع و کم هزینه بودن روش مفیدی برای تغییر تجزیه پذیری پروتئین کنجاله دانه های روغنی است.

تشکر و قدردانی

از معاونین محترم مالی و پژوهشی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی به جهت تأمین منابع مالی، سرپرست ایستگاه آموزشی-پژوهشی علوم دامی و کارشناسان آزمایشگاه های تغذیه و شیمی مواد غذایی که امکان اجرای این تحقیق را فراهم کردند و آقای مهندس داوودی کارشناس خط تولید روغن نباتی جهان صمیمانه تشکر و قدردانی می شود.

پاورقی ها

- ۱ - واریته منداب مورد استفاده از نوع اصلاح شده است و با منداب
 - 2- Denaturation
 - 3- NDF
 - 4- Poly Ester
 - 5- SDS-PAGE sample buffer
 - 6- Tris-Hcl
 - 7- Sodium Dodecyl Sulfate (SDS)
 - 8-β Mercaptoethanol
 - 9- Bromophenol blue
 - 10- Coomassie brilliant blue
- بومی که حاوی مقادیر زیاد گلوکوسینولیت است فرق دارد.

منابع مورد استفاده

- 1- AOAC. 1990; Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 15th ed. Washington, DC. USA.
- 2- Aufrere, J., D. Graviou, C. Demarquilly, R. Verite, B. Michalet-

- rapeseed proteins and ionizable groups. J. Agri. Food. Chem. 42: 1411-1414.
- 16- McDonald, P., R.A. Edwards, J.F.D. Greenhalgh and C.A. Moryan. 1995; Animal nutrition. Fifth ed. Longman, Singapore.
- 17- McKinnon, J.J., J.A. Olubobokun, A. Mustafa and R.D.H.Christensen. 1995; Influence of dry heat treatment of canola meal on site and extent of nutrient disappearance in ruminants. Anim. Feed Sci. Technol. 56: 243-252.
- 18- Monsalve, R. I., C. Lopez-Otin, M. Villalba and R. Rodriguez. 2003; A new distinct group of 2 S albumins from rapeseed. FEBS. 295: 207-210.
- 19- Moshtaghi Nia, S.A. and J.R. Ingalls. 1992; Effect of heating on canola meal protein degradation in the rumen and digestion in the lower gastrointestinal tract of steers. Can. J. Anim. Sci. 72: 83-88.
- 20- Moshtaghi Nia, S.A. and J.R. Ingalls. 1995; Influence of moist heat treatment on ruminal and intestinal disappearance of amino acids from canola meal. J. Dairy Sci. 78: 1552-1560.
- 21- Orskov, E.R. and McDonald, I. 1979; The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. Journal of Agriculture Science 92: 499-503.
- 22- Prestlækken, E., 1999; *In situ* ruminal degradation and intestinal digestibility of dry matter and protein in expanded feedstuffs. Anim. Feed Sci. and Techn. 77: 1-23.
- 23- Sadeghi, A.A., A. Nikkhah, and P. Shawrang. 2005; Effects of microwave irradiation on ruminal degradation and *in vitro* digestibility of soya bean meal. Animal Science. 80: 369-375.
- 24- Sadeghi, A.A. and P. Shawrang. 2006; Effects of microwave irradiation on ruminal degradability and *in vitro* digestibility of canola meal. Animal Feed Science and Technology. 127: 45-54.
- 25- SAS Institute Inc., 1996; Statistical Analysis System (SAS) User's Guide, SAS Institute, Cary, NC, USA.
26. Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. 1980; Principles and procedures of statistics: A biometrical approach, 2nd ed., McGraw Hill, New York, NY, USA, pp. 187-188.
- 27- Stern, M.D., Bach A. and Calsamiglia, S. 1997; Alternative techniques for measuring nutrient digestion in ruminants. Journal of Animal Science 75: 2256.
- 28- Tuncer, S.D. and P., Sacakli. 2003; Rumen degradability characteristics of xylose treated canola and soybean meals. Anim. Feed Sci. and Tech. 107: 211-218.
- 29- Van Soest, P.J., Robertson, J.B. and Lewis, B.A., 1991; Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science 74: 3583-3597.

