اثرات تفت دادن پنبه دانه بر محتوی گوسیپول، روند تجزیه‌پذیری و قابلیت هضم پروتئین آن

مهدی تقی‌نژاد رودبنه[۱] و سید روح الله ابراهیمی[۲]

چکیده

این آزمایش با هدف مطالعه‌ی اثرات عمل‌آوری تفت‌دادن (در دمای ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه) بر محتوی گوسیپول آزاد، قابلیت هضم پروتئین، تجزیه‌پذیری ماده‌ی خشک و پروتئین خام و همچنین تعیین نوع پروتئین عبوری پنبه‌دانه، انجام شد. مقدار تجزیه‌پذیری ماده‌ی خشک و پروتئین به روش کیسه‌های نایلونی و با استفاده از سه رأس گاو نر تالشی اندازه‌گیری شد. تفت‌دادن در دمای ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه سبب کاهش مقدارگوسیپول آزاد موجود در پنبه‌دانه به میزان ۱۷/۵ و ۲۱/۳ درصد شد (P<۰/۰۵). تفت‌دادن اثر معنی‌داری بر قابلیت هضم آزمایشگاهی پنبه‌دانه نداشت (P>۰/۰۵). اگرچه تفت‌دادن سبب کاهش نرخ ثابت تجزیه پروتئین پنبه‌دانه گردید (P<۰/۰۵)، اما این عمل‌آوری اثر معنی‌داری (P>۰/۰۵) بر تجزیه‌پذیری موثر پروتئین پنبه‌دانه عمل‌آوری شده در مقایسه با پنبه‌دانه عمل‌آوری نشده، نداشته است (P>۰/۰۵). آنالیز الکتروفورزی زیر واحدهای پروتئینی در این مطالعه نشان داد که عمل‌آوری تفت دادن در دمای ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه تغییر محسوسی در الگوی ناپدیدشدن زیر واحدهای پروتئینی پنبه‌دانه در زمان‌های مختلف انکوباسیون ایجاد نکرد. در این مطالعه اگرچه عمل‌آوری تفت‌دادن به مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه سبب کاهش گوسیپول پنبه‌دانه شد ولی در کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین پنبه‌دانه موثر نبود.

واژگان کلیدی : الکتروفورز، تجزیه‌پذیری‌شکمبه‌ای، تفت دادن، پنبه‌دانه، گوسیپول.

۱- استادیار گروه علوم دامی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز (نگارنده‌ی مسئول) taghinejad_mehdi@yahoo.com
۲- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر قدس

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۱/۱۰
تاریخ پذیرش: ۸۹/۵/۲۵

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

پروتئین جیره‌ی غذایی یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر عملکرد تولیدی و تولید مثلی دام‌ها است. برای تأمین احتیاجات پروتئینی نشخوارکنندگانی که سرعت رشد زیادی دارند و یا شیر زیادی تولید می‌کنند در نظر گرفتن مقدار کافی پروتئین عبوری (اسیدهای آمینه‌ی ضروری) برای عملکرد قابل قبول حیوان، ضروری است (۱۰). دانه‌های روغنی حاوی مقدار زیادی انرژی و پروتئین بوده و استفاده از آن‌ها در تغذیه‌ی نشخوارکنندگان، به ویژه در تغذیه‌ی گاوهای شیرده پرتولید به طور روزافزونی در حال افزایش است. دانه‌های روغنی مانند پنبه‌دانه به دلیل داشتن مقدار زیادی پروتئین (۲۳/۵ درصد) و چربی (۱۹/۳ درصد) ارزش غذایی زیادی برای نشخوارکنندگان پرتولید دارند. با این وجود، پروتئین آنها به دلیل حل شدن زیاد در شکمبه به سرعت تجزیه شده و در نتیجه بازدهی استفاده از پروتئین آن‌ها برای نشخوارکنندگان پرتولید کاهش می یابد. مقدار پروتئین پنبه دانه که از تخمیر شکمبه ای فرار می‌کنند، ۲۰/۳ درصد از پروتیین خام را شامل می‌شود (۱۰). بنابراین، افزایش دادن پروتئین عبوری این دانه‌ی روغنی یا به عبارتی کاهش تجزیه‌ی پروتئین آن در شکمبه از اهمیت ویژه‌ای در تغذیه‌ی نشخوارکنندگان پرتولید برخوردار است. از طرفی، پنبه دانه حاوی رنگدانه سمّی گوسیپول است که استفاده از پنبه دانه را در سطوح بالا برای نشخوارکنندگان پرتولید محدود کرده و همچنین نباید از آن‌ها در جیره‌ی نشخوارکنندگان جوان استفاده کرد (۳).

تاکنون مطالعات زیادی در ارتباط با میزان مؤثر بودن روش‌های مختلف عمل‌آوری که بتواند تجزیه پذیری پروتئین مواد خوراکی را در شکمبه کاهش و عوامل ضدتغذیه‌ای موجود در آن‌ها را از بین ببرد، انجام گرفته است. در بین عمل‌آوری‌های شیمیایی و فیزیکی، عمل‌آوری حرارتی متداول‌ترین روش است (۱۰). حرارت دادن انجام واکنش قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی (میلارد) را تسهیل و سبب تشکیل کمپلکس آمینو- قند می‌شود که در مقابل تجزیه‌ی میکروبی در شکمبه مقاوم بوده ولی اسیدهای آمینه‌ی موجود در آن در روده‌ی باریک قابل هضم و جذب هستند. شایان ذکر است که افزایش پروتئین عبوری جیره زمانی سودمند واقع می‌شود که اولاً در مقابل کاهش تولید پروتئین میکروبی در شکمبه قرار نگیرد، ثانیاً در روده قابل هضم باشد. تقی‌نژاد و همکاران (۱) گزارش کردند، تفت دادن دانه‌ی سویا در دمای ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس و مدت ۳۰ دقیقه، سبب افزایش عبوری شدن و قابلیت هضم پروتئین خام و کاهش فعالیت مهارکننده‌ی تریپسین آن می‌شود.

در پژوهش حاضر اثرات تفت‌دادن در دمای ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس و مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه بر محتوی گوسیپول، روند تجزیه پذیری و قابلیت هضم پروتئین پنبه دانه مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

عمل‌آوری

در این تحقیق پنبه‌دانه‌ی رقم ورامین از مرکز تحقیقات پنبه ورامین تهیه شد. سپس،

Archive of SID

www.SID.ir

نمونه‌ها در ظرف آلومینیومی به ارتفاع دو سانتی- متر ریخته و در دمای ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس آون به مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه حرارت داده شدند. پس از اتمام عمل‌آوری حرارتی، نمونه‌ها خارج و به داخل سینی‌هایی منتقل شدند تا خنک شوند. پس از خنک شدن، نمونه‌ها به کیسه‌های پلاستیکی منتقل و در دمای ۲۰- درجه‌ی سلسیوس برای تعیین ترکیبات شیمیایی نگهداری شدند.

تعیین ترکیبات شیمیایی

تجزیه‌ی شیمیایی نمونه‌ها با روش‌های استاندارد آزمایشگاهی (۲) تعیین شد. اندازه‌گیری ماده‌ی خشک با قرار دادن نمونه‌های مواد خوراکی در آون به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۵۵ درجه‌ی سلسیوس انجام شد. خاکستر نمونه‌ها با قرار دادن نمونه‌های مواد خوراکی در کوره‌ی الکتریکی با دمای ۶۰۰ درجه‌ی سلسیوس به مدت دو ساعت، اندازه‌گیری شد. چربی خام با استفاده از دستگاه Soxtec مدل ۱۰۳۴و یک ساعت شستشو با دی اتیل اتر اندازه‌گیری شد. دیواره‌ی سلولی به روش ون سوست و همکاران (۱۵) و با استفاده از دستگاه فیبرتچ[۱] اندازه‌گیری شد. مقدار پروتئین خام مواد خوراکی نیز با استفاده از دستگاه کجلدال تعیین شد (نیتروژن × ۶/۲۵). اندازه‌گیری مقدار گوسیپول آزاد پنبه‌دانه در آزمایشگاه شرکت کشت و توزیع دانه‌های روغنی و با استفاده از روش رنگ‌سنجی انجام شد. در این روش از مخلوط حلال‌های پروپان و هگزان برای اندازه‌گیری گوسیپول آزاد استفاده شد. در این روش گوسیپول با استفاده از آلانین تبدیل به گوسیپول دی‌آلانین شده و جذب نیز در حداکثر جذب بین ۴۳۵ و ۴۴۵ نانومتر صورت قرایت شد (۹).

اندازه‌گیری تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای

برای اندازه‌گیری تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده‌ی خشک و پروتئین از معادلات ارسکوف و مک‌دونالد (۱۲) استفاده شد. مقدار ۶ گرم نمونه‌ی مواد خوراکی عمل‌آوری نشده و عمل‌آوری شده به روش‌های مختلف، به مدت صفر، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت در شکمبه سه راس گاو نر نژاد تالشی (میانگین وزن ۴۱۶ کیلوگرم) دارای فیستولای شکمبه در مؤسسه‌ی تحقیقات علوم دامی کشور انکوباسیون شد. گاوها با جیره‌ی حاوی ۷۰ درصد علوفه (یونجه‌ی خشک و کاه گندم به نسبت ۷۰ به ۳۰) و ۳۰ درصد کنسانتره (۳۵ درصد آرد جو، ۱۷ درصد کنجاله سویا، ۲۵ درصد پنبه دانه، ۲۰ درصد سبوس گندم، ۱ درصد کربنات کلسیم و ۲ درصد مکمل مواد معدنی و ویتامینی) به مقدار ۸ کیلوگرم ماده‌ی خشک در روز به صورت جیره‌ی کاملاً مخلوط در دو نوبت صبح و عصر در ساعت‌های ۸ و ۱۶ دو هفته قبل و طی دوره‌ی آزمایش تغذیه شدند.

الکتروفورز

از تکنیک الکتروفورز ژل پلی‌آکریلامید به روش لاملی (۸) برای تعیین وضعیت زیر واحدهای پروتئین مواد خوراکی، انجام شد. در این پژوهش از دستگاه الکتروفورز عمودی مدل TV400 برای الکتروفورز استفاده شد. برای استخراج پروتئین حقیقی مواد خوراکی جهت

۱- Fibertech System M, Tecator, 1010

Archive of SID

www.SID.ir

انجام الکتروفورز، مقداری از نمونه‌ی پنبه دانه (حاوی ۱ میلی‌گرم نیتروژن و با اندازه‌ی ذرات ۰/۱ میلی‌متر) که شامل نمونه‌ی عمل‌آوری نشده یا تفت داده شده و انکوباسیون شده در ساعات مختلف در شکمبه بود، به درون لوله‌های میکروتیوپ منتقل شد. سپس ۷۵۰ میکرولیتر بافر استخراج حاوی ۰/۶۲۵ مولار Tris-Hcl (pH=۶/۸)، ۱۰ درصد سدیم دودسیل سولفات (SDS)، ۲/۵ درصد بتا مرکاپتو اتانول، ۷ درصد گلیسرول و ۴ میلی‌گرم بروموفنل بلو اضافه شد. پس از ۳۰ دقیقه به هم زدن بر روی همزن ویژه‌ی لوله میکروتیوپ در دمای چهار درجه‌ی سلسیوس، پروتئین نمونه‌ها استخراج و پس از قرار دادن در آب ۹۵ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۳ دقیقه و سانتریفیوژ به مدت یک دقیقه (۱۰۰۰۰×g) مایع صاف شده‌ی رویی جدا شد. مایع رویی به لوله‌های میکروتیوپ منتقل و تا زمان انجام الکتروفورز در دمای ۲۰– درجه‌ی سلسیوس نگهداری شد (۷).

برای انجام الکتروفورز پروتئین نمونه‌ها، ۳۰ میکرولیتر از مایع رویی نمونه‌های انکوباسیون نشده و انکوباسیون شده در ساعات مختلف به چاهک‌های الکتروفورز با ژل بالایی حاوی ۳/۷۵ درصد آکریلامید-بیس آکریلامید و ژل پایینی حاوی ۱۴ درصد آکریلامید-بیس آکریلامید منتقل شد. ابعاد ژل ۱۹۰×۱۴۰×۱ میلی‌متر و شدت جریان ۶۰ میلی‌آمپر و ژل‌ها دو طرفه بسته شد. پس از رسیدن رنگ بروموفنل بلو به انتهای ژل، منبع تغذیه را خاموش کرده و اقدام به خارج کردن ژل‌ها از داخل شیشه‌ها شد. طول مدت الکتروفورز با این مشخصات چهار و نیم ساعت بود. در تعیین وزن مولکولی زیر واحدهای پروتئین از مارکر پروتیینی فرمنتاز[1] حاوی بتاگلوکوزیداز (۱۱۶ کیلو دالتون)، آلبومین سرم گاوی (۶۶/۰ کیلو دالتون)، آلبومین (۴۵ کیلو دالتون)، لاکتات دهیدروژناز (۳۵ کیلو دالتون)، آندونوکلئاز (۲۵ کیلو دالتون)، بتالاکتوگلوبولین (۱۸/۴ کیلو دالتون) و لیزوزیم (۱۴/۴ کیلو دالتون) و بر اساس محاسبه‌ی حرکت نسبی هر پروتئین مارکر در ژل و مقایسه‌ی آن با حرکت نسبی هر زیر واحد، وزن مولکولی آن زیر واحد، تعیین شد.

اندازه‌گیری قابلیت هضم درون شیشه‌ای[2] پروتئین

قابلیت هضم درون شیشه‌ای پروتئین به روش سه مرحله‌ای کالسامیگلیا و استرن (۵) اندازه‌گیری شد. کیسه‌های حاوی نمونه‌های مواد خوراکی به مدت ۱۶ ساعت در شکمبه نگهداری و باقی‌مانده‌ی هضم نشده‌ی شکمبه‌ای (تقریباً حاوی ۱۵ میلی‌گرم نیتروژن) به مدت یک ساعت در ۱۰ میلی‌لیتر محلول اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال که حاوی یک گرم پپسین در هر لیتر بود، انکوباسیون شد. سپس pH مخلوط با ۰/۵ میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم یک نرمال و ۱۳/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات با pH ۷/۸ خنثی و ۳۷/۵ میلی‌گرم پانکراتین اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۸ درجه‌ی سلسیوس انکوباسیون شد. سپس، پروتئین‌های هضم نشده با محلول اسید تری کلرو استیک رسوب داده شد. مخلوط فوق به مدت ۱۵ دقیقه (۱۰۰۰۰ × g) سانتریفیوژ و محلول رویی

۱- Fermentas

۲- In vitro

Archive of SID

www.SID.ir

برای تجزیه‌ی نیتروژن جدا شد. قابلیت هضم پروتئین به صورت نیتروژن محلول در اسید تری کلرو استیک تقسیم بر مقدار نیتروژن در نمونه (مواد باقیمانده در کیسه‌های نایلونی) اندازه‌گیری شد.

فراسنجه‌های مختلف تجزیه‌پذیری و تجزیه پذیری مؤثر ماده‌ی خشک و پروتئین‌خام و حقیقی با استفاده از بسته‌ی نرم افزاری NEWAY و رابطه‌های زیر محاسبه شد.

رابطه‌ی ۱ $P=a+b\,(1-e^{-ct})$

رابطه‌ی ۲ $ED=a+b/(c+k)$

در این دو رابطه a بخش سریع تجزیه، b بخش کند تجزیه، c نرخ ثابت تجزیه در واحد زمان، P ناپدید شدن ماده‌ی خشک یا پروتئین خام از کیسه‌ها و ED تجزیه‌پذیری مؤثر است. با به کار بردن رابطه‌ی ۲ تجزیه پذیری مؤثر ماده خشک و پروتئین خام در نرخ‌های عبور ۲، ۵ و ۸ درصد در ساعت محاسبه شد.

آزمایش تجزیه‌پذیری و قابلیت هضم در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با شش تکرار (سه حیوان × دو کیسه برای هر زمان انکوباسیون در هر گاو) انجام شد. مدل آماری مورد استفاده به صورت $Y_{ijk}= \mu + T_i + Bj + e_{ijk}$ بود. در این مدل‌ها Y_{ijk} مقدار هر مشاهده، μ میانگین صفت مورد مطالعه، T_i اثر عمل‌آوری، B_j اثر حیوان و e_{ijk} خطای آزمایشی بود. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها در این مطالعه با استفاده از نسخه‌ی ۶/۱۲ بسته نرم افزاری SAS (۱۴)، Proc GLM صورت گرفت. پس از تجزیه واریانس، میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن (۱۵) مقایسه شدند.

نتایج و بحث

اثرات عمل‌آوری تفت‌دادن بر ترکیبات شیمیایی و محتوی گوسیپول پنبه دانه

عمل‌آوری‌های مذکور در این آزمایش اثر معنی‌داری بر خاکستر، پروتئین خام، دیواره‌ی سلولی و دیواره‌ی سلولی بدون همی‌سلولز پنبه دانه نداشتند (جدول ۱). تفت دادن پنبه دانه در دمای ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه سبب کاهش مقدارگوسیپول آزاد موجود در پنبه دانه به میزان ۹ و ۱۵ درصد شد ($P<۰/۰۵$). حرارت بالا برای تشکیل فرم متصل و ماندگار بین گوسیپول و سایر مولکول‌ها مناسب است (۱۳).

فرم متصل گوسیپول از نظر فیزیولوژیکی غیرفعال است. محققین در مطالعات خود گزارش کردند، عمل‌آوری‌هایی مثل حرارت دادن و اکسترود کردن می‌توانند گوسیپول آزاد پنبه دانه را به فرم متصل تبدیل و در نتیجه از اثر مسمومیت زایی آن بکاهند (۱۷).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی و محتوی گوسیپول پنبه دانه خام و عمل‌آوری شده

مشخصه	پنبه دانه خام	پنبه دانه تفت داده شده		اشتباه معیار
		۱۵ دقیقه	۳۰ دقیقه	
ماده خشک (درصد)	۹۱/۸	۹۲/۷	۹۳/۵	۱/۰۴
خاکستر (درصد)	۴/۲	۴/۲	۴/۰	۰/۴۳
پروتئین خام (درصد)	۲۲/۶	۲۲/۹	۲۳/۱	۰/۸۰
چربی خام (درصد)	۲۴/۰	۲۳/۸	۲۳/۵	۰/۹۲
دیواره سلولی (درصد)	۵۱/۱	۵۱	۵۱/۸	۰/۵۴
گوسیپول آزاد (درصد)	۰/۴۷^{a}	۰/۴۲^{b}	۰/۳۹^{c}	۰/۰۰۷

در هر ردیف، اعدادی که دارای حروف غیر مشابه هستند، اختلاف معنی دار دارند (P <۰/۰۵).

قابلیت هضم پروتئین خام

عمل‌آوری تفت دادن در دمای ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه، اثر معنی‌داری بر قابلیت هضم پروتئین خام پنبه دانه نداشت (P>۰/۰۵). قابلیت هضم آزمایشگاهی پروتئین خام باقی مانده‌ی نمونه پنبه دانه فرایند نشده و تفت داده شده در دمای ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه پس از ۱۶ ساعت انکوباسیون در شکمبه‌ی گاوها به ترتیب ۵۵/۶، ۵۶/۲ و ۵۵/۷ درصد بود. واسرشتی[۱] پروتئین در طی عمل‌آوری با حرارت، گروه‌های فعال شیمیایی را افزایش داده و سبب افزایش قابلیت هضم پروتئین می‌شود (۱۶). به نظر می‌رسد که عمل‌آوری تفت دادن در دمای ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس سبب ایجاد تغییرات لازم برای عملکرد بهتر آنزیم‌های هضم کننده‌ی پروتئین نشده‌اند.

ناپدید شدن شکمبه‌ای ماده‌ی خشک و پروتیین خام پنبه دانه

مقادیر فراسنجه‌های مختلف تجزیه‌پذیری و تجزیه‌پذیری موثر ماده‌ی خشک و پروتئین خام پنبه دانه عمل‌آوری نشده و عمل‌آوری شده در جدول (۲) گزارش شده است. تجزیه پذیری بالقوه‌ی (a+b) پروتئین پنبه دانه‌ی عمل آوری نشده در این مطالعه ۹۱/۳ درصد بود که بیانگر بالا بودن تجزیه‌پذیری پروتیین خام پنبه دانه در شکمبه است. تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد، عمل‌آوری تفت دادن در دمای ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه، اثر معنی‌داری (P>۰/۰۵) بر فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری موثر پروتئین خام و ماده‌ی خشک پنبه دانه نداشت (جدول ۲).

تفت دادن پنبه دانه در دمای ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه، سبب کاهش ثابت نرخ تجزیه‌ی پروتئین خام از ۰/۱۳۲ به ۰/۱۰۲

۱- Denaturation

Archive of SID

www.SID.ir

درصد در ساعت، نسبت به دانه‌ی عمل‌آوری نشده گردید (P<۰/۰۵). مبجش و همکاران (۱۰) گزارش کردند، تفت‌دادن در دمای ۱۴۹ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه، تجزیه‌پذیری پروتئین خام پنبه دانه واریته‌ی پیما (واریته با پرز کم) را کاهش داده است. به نظر می‌رسد ساز و کارهای محافظت پروتئین مواد خوراکی عمل‌آوری شده با حرارت در برابر تجزیه‌ی شکمبه‌ای پیچیده است. به نظر می‌رسد که دما یا مدت زمان اعمال شده در عمل‌آوری تفت‌دادن در این مطالعه برای نفوذ به مغز پنبه‌دانه و اثر بر پروتئین‌های ذخیره ای و کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین پنبه‌دانه رقم ورامین کافی نبوده است.

جدول ۲- فراسنجه‌های مختلف تجزیه پذیری مادهd خشک و پروتئین پنبه دانه خام و عمل‌آوری شده

مشخصه	فراسنجه‌های مختلف تجزیه پذیری (درصد)			نرخ ثابت تجزیه (c)	تجزیه پذیری موثر در سرعت عبور (درصد)		
	a	b	a + b		۲	۵	۸
ماده‌ی خشک							
پنبه دانه خام	۳۱/۷	۲۳/۲	۵۴/۹	۰/۱۵ ^{a}	۵۲/۳	۴۹/۲	۴۶/۹
تفت داده شده در ۱۲۵ درجه سلسیوس و مدت ۱۵ دقیقه	۳۲/۳	۲۲/۳	۵۴/۶	۰/۱۳ ^{ab}	۵۱/۵	۴۸/۲	۴۵/۹
تفت داده شده در ۱۲۵ درجه سلسیوس و مدت ۳۰ دقیقه	۲۹/۶	۲۲/۵	۵۲/۱	۰/۱۱ ^{b}	۴۸/۷	۴۵/۱	۴۲/۷
اشتباه معیار میانگین‌ها (SEM)[1]	۱/۱۰	۱/۲۵	۱/۹	۰/۰۱۱	۱/۷۲	۱/۵۶	۱/۰۷
پروتیین خام							
پنبه دانه خام	۴۶/۶	۴۴/۷	۹۱/۳	۰/۱۳۲ ^{a}	۸۵/۶	۷۸/۹	۷۴/۶
تفت داده شده در ۱۲۵ درجه سلسیوس و مدت ۱۵ دقیقه	۴۶/۳	۴۵/۲	۹۱/۵	۰/۱۲۱ ^{ab}	۸۴/۸	۷۸/۰	۷۳/۲
تفت داده شده در ۱۲۵ درجه سلسیوس و مدت ۳۰ دقیقه	۴۵/۳	۴۶/۴	۹۱/۷	۰/۱۰۲ ^{b}	۸۴/۰	۷۶/۴	۷۱/۳
اشتباه معیار میانگین‌ها	۱/۳۱	۱/۵۱	۱/۲۰	۰/۰۰۷۲	۱/۵۹	۱/۶۳	۱/۶۱

در هر ستون، اعدادی که دارای حروف غیر مشابه هستند، اختلاف معنی دار دارند (P <۰/۰۵)

وزن مولکولی زیر واحدهای پروتئینی پنبه دانه

در شکل (۱) الگوی زیر واحدهای پروتئینی پنبه دانه نشان داده شده است. الگوی زیر واحدهای پروتئین های پنبه دانه، ۸ زنجیره‌ی پلی پپتیدی را نشان می‌دهد که مربوط به پروتئین‌های گلوبولین ۹S با دو زیر واحد به وزن مولکولی ۵۵/۰ و ۴۸/۰ کیلو دالتون، گلوبولین ۵S با سه زیر واحد به وزن مولکولی ۲۸/۸، ۲۶/۵ و ۲۴/۲ کیلو دالتون و آلبومین ۲S با سه زیر واحد به وزن مولکولی ۱۹/۰، ۱۴/۰ و ۱۰/۵ کیلو دالتون می‌باشد. همچنین، تعدادی باند ناواضح با وزن مولکولی ۳۶ تا ۴۴ کیلو دالتون قابل مشاهده است. گلوبولین ۹S، ۵S و آلبومین ۲S زیر واحدهای عمده‌ی پروتئینی پنبه دانه می‌باشند. وزن مولکولی زیر واحدهای پروتئینی پنبه دانه در

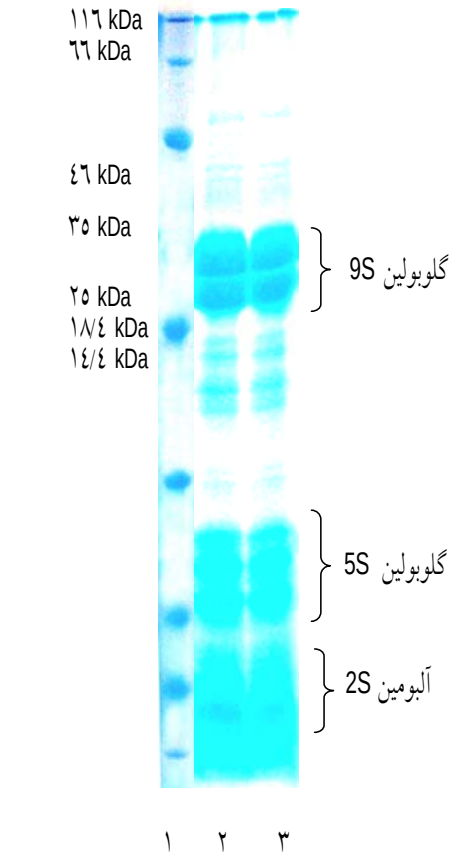
Archive of SID

www.SID.ir

پژوهش حاضر به گزارش یول و هوانگ (۱۹) نـزدیک است. احتـمالاً تفـاوت در درجـه‌ی آب‌گریزی، شکل فضایی، ساختمان دوم و سوم، توالی و نوع اسیدهای آمینه، علت متفاوت بودن تجزیه‌پذیری پروتئین های پنبه دانه می‌باشد. در زمینه‌ی ویژگی‌های بیوفیزیکی و بیوشیمیایی پروتئین‌های پنبه دانه گزارشی منتشر نشده است. برای روشن شدن علت متفاوت بودن تجزیه‌پذیری زیر واحدها، مطالعه تغییرات آب‌گریزی سطحی پروتئین‌های پنبه دانه، تعیین توالی اسیدهای آمینه در زیر واحدها و مقدار هر اسید آمینه در هر پروتئین، تعیین نوع ساختمان با استفاده از اشعه-ی ایکس و رزونانس مغناطیسی هسته‌ای لازم می‌باشد.

آنالیز الکتروفورزی تجزیه پذیری پروتئین‌های پنبه دانه

آنالیز الکتروفورزی زیر واحدهای پروتئینی پنبه‌دانه‌ی خام نشان داد که زیر واحد ۱۰ کیلو دالتون پروتئین آلبومین در زمان صفر در آب محلول بوده و بدون تجزیه شدن از کیسه‌ها خارج می‌شود. زیر واحدهای ۱۴ و ۱۹ کیلو دالتون این پروتئین نیز در زمان ۲ انکوباسیون و زیرواحدهای گلوبولین 5S بعد از زمان ۸ انکوباسیون ناپدید شدند ولی زنجیره‌های پلی پپتیدی ۳۶ تا ۴۴ کیلو دالتون و گلوبولین 9S زمان ۴۸ انکوباسیون وجود داشتند.



شکل ۱– الگوی مارکر پروتئینی (۱) و زیرواحدهای پروتئین پنبه دانه (۲ و ۳)

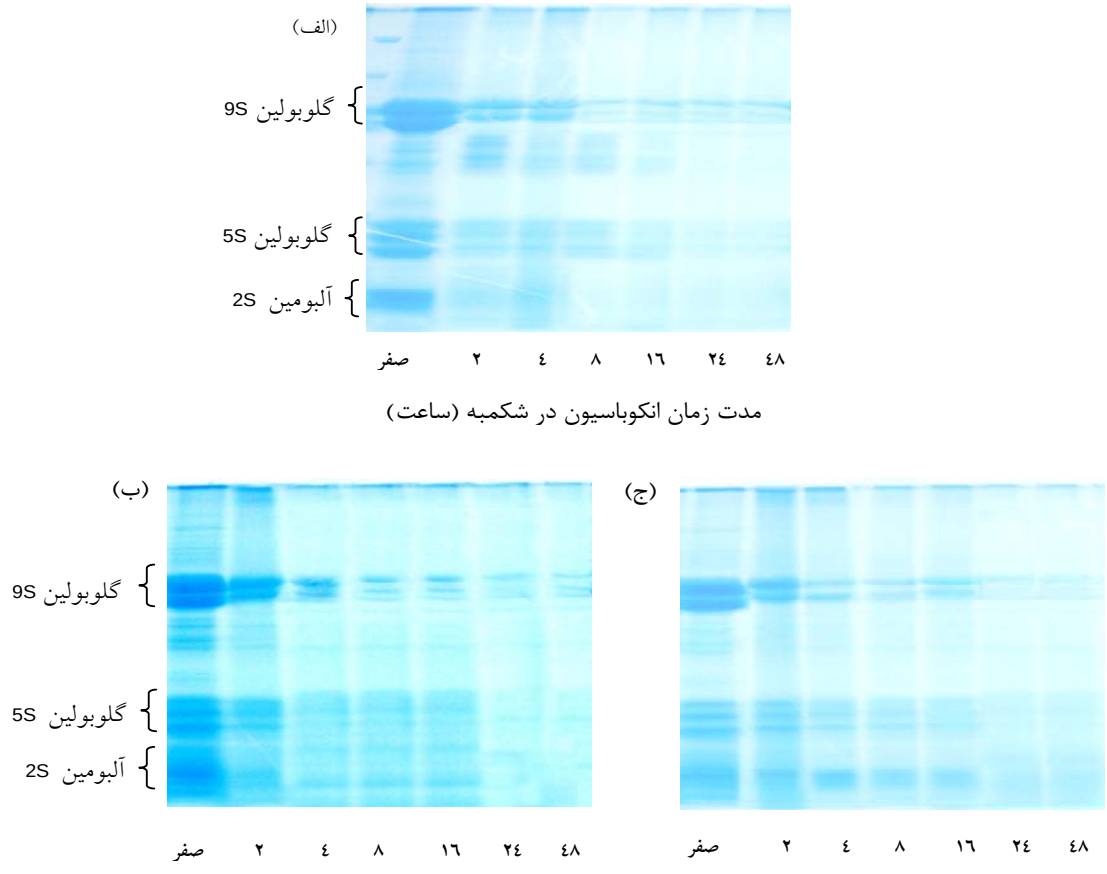
Archive of SID

www.SID.ir

آنالیز الکتروفورزی زیر واحدهای پروتئینی پنبه دانه نشان داد که عمل‌آوری تفت دادن در دمای ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه تغییری در الگوی ناپدید شدن زیر واحدهای پروتئینی پنبه دانه در ساعت‌های مختلف انکوباسیون ایجاد نکرده و با نتایج حاصل از ناپدید شدن شکمبه‌ای پروتئین در این مطالعه، همخوانی دارد.

در این مطالعه تفت دادن در دمای ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه اثر معنی‌داری بر بخش سریع تجزیه، بخش کند تجزیه و تجزیه‌پذیری موثر پروتئین خام پنبه دانه نداشته است.

حرارت با تشکیل مجموعه‌های به هم چسبیده‌ی پروتئینی (ژل) و ایجاد اتصالات عرضی بین پروتئین‌ها و افزایش آب‌گریزی در سطح پروتئین (۶)، سبب کاهش دسترسی آنزیم‌های پروتئولیتیک میکروبی و در نهایت کاهش سرعت و مقدار تجزیه‌ی میکروبی پروتئین‌ها در شکمبه می‌شود (۴). زیرا محلول بودن ترکیبات نیتروژن‌دار (پروتئین‌ها) سبب تسهیل دسترسی آن‌ها برای متابولیسم میکروبی می‌شود (۱۱).



شکل ۲- (الف) الکتروفورز ژل پلی‌آکریلامید پنبه دانه‌ی عمل‌آوری نشده، (ب) پنبه دانه‌ی تف داده شده در ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس و مدت ۱۵ دقیقه و (ج) پنبه دانه‌ی تف داده شده در ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس و مدت ۳۰ دقیقه

www.SID.ir

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد، تفت دادن راه کار مناسبی برای کاهش گوسیپول آزاد پنبه دانه است. با توجه به نتایج مطالعه‌ی حاضر که نشان داد تفت‌دادن پنبه‌دانه در دمای ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه اثر معنی‌داری بر تجزیه‌پذیری موثر پروتئین پنبه‌دانه ندارد، پیشنهاد می‌شود مطالعات بیشتری در دما و یا مدت زمان‌های دیگر برای یافتن شرایط مناسب تفت‌دادن پنبه دانه انجام شود.

منابع مورد استفاده

۱- تقی نژاد رودبنه، م.، ع. نیکخواه، ع. ا. صادقی، غ. رئیسعلی، م. چمنی. بررسی روند تجزیه پذیری پروتیین های دانه سویا تفت داده شده با روش کیسه های نایلونی و الکتروفورز ژل پلی آکریلامید. مجله علوم کشاورزی دانشگاه آزاد تبریز. سال دوم، شماره ۶: ۸۶-۷۳.

2. AOAC. 1995. Official Methods of Analysis, 16th Ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA.

3. Barraza, M.L., C.E. Coppock, K.N. Brooks, D.L. Wilks, R.G. Saunders, and G.W. Latimer. 1991. Iron sulfate and feed pelleting to detoxify free gossypol in cottonseed diets for dairy cattle. J. Dairy Sci. 74: 3457–3467.

4. Broderick, G.A., R.J. Wallce, and E.R. Orskov. 1991. Control of rate and extent of protein degradation. In: Tsuda, T., Sasaki, Y.and Kawashima, R. (Eds.), Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants. Academic Press, San Diego CA, USA. 542-592.

5. Calsamiglia, S. and M.D. Stern, 1995. A three-step in vitro procedure for estimating intestinal digestion of protein in ruminants. J. Anim. Sci. 73: 1459.

6. Folawiyo Y.L. and R.K.O. Apenten. 1997. The effect of heat and acid treatment on the structure of rapeseed albumin (napin). Food Chem. 58: 237-243.

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

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

9. ISO 6866. 1985. Animal feeding stuffs-determination of free and total gossypol. http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=13378.

10. Mabjeesh, S.J., J. Galindez, O. Kroll, and A. Arieli. 2000. The effect of roasting nonlinted whole cottonseed on milk production by dairy cows. J. Dairy Sci. 83: 2557–2563.

11. National Research Council. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th Ed. National Academy of Sciences, Washington, DC. Ananymous.

Archive of SID

www.SID.ir

12. Orskov, E.R. and I. Mc Donald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation weighed according to rate of passage. J. Agric. Sci. (Camb.) 92: 499-503.

13. Randel, R.D., Jr.C.C. Chase, and S.J. Wyse. 1992. Effect of gossypol and cottonseed products on reproduction in mammals. J. Anim. Nutr. 70: 1628–1638.

14. SAS. 1996. Statistical analysis system. SAS Intit. Inc., Cary, NC, USA.

15. Steel, R.G.D. and J.H. Torrie. 1980. Principles and procedures of statistics: A biometrical approach, 2nd ed., Mc Graw Hill, New York, NY, USA, pp. 187-188.

16. van Soest, P.J., J.B. Robertson, and B.A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74: 3583–3597.

17. Wagner, J.R., D.A. Sorgentini and M.C. Anon. 2000. Relation between solubility and surface aromatic hydrophobicity as an indicator of modification during preparation processes of commercial and laboratory prepared soy protein isolates. J. Agri. Food Chem. 48, 3159–3165.

18. Zhang, W., Z. Xu, X. Pan, X. Yan and Y. Wang. 2007. Advances in gossypol toxicit and processing effects of whole cottonseed in dairy cows feeding. Livestock Sci. 11: 1-9.

19. Youle, R.J., H.C. Huang.1979. Albumin storage and allergens in cottonseeds. J. Agric. Food Chem. 27: 500-503.

Archive of SID

www.SID.ir