تولیدات دامی
دوره ۱۷ ■ شماره ۱ ■ بهار و تابستان ۱۳۹۴
صفحه‌های ۹۳-۸۳

ناپدیدشدن شکمبه‌ای پروتئین و اسیدهای آمینهٔ کنجالهٔ کانولای عمل‌آوری‌نشده و عمل‌آوری‌شده با پرتوهای گاما و الکترون

فرزاد قنبری[1*]، تقی قورچی[2]، پروین شورنگ[3]، هرمز منصوری[4]، نورمحمد تربتی‌نژاد[2]

۱. استادیار گروه علوم دامی، دانشکدهٔ کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، ایران
۲. استاد گروه تغذیهٔ دام و طیور، دانشکدهٔ علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران
۳. استادیار پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، پژوهشکدهٔ کشاورزی هسته‌ای کرج، ایران
۴. استادیار بخش تغذیه و فیزیولوژی دام و طیور، مؤسسهٔ تحقیقات علوم دامی کشور، کرج، ایران

تاریخ وصول مقاله:۱۳۹۳/۰۴/۰۴ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۱۱/۱۱

چکیده

این پژوهش به‌منظور بررسی تأثیر دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ کیلوگری پرتوهای یون‌ساز گاما و الکترون، بر ناپدیدشدن شکمبه‌ای اسیدهای آمینه و زیرواحدهای پروتئین کنجالهٔ کانولا انجام گرفت. آزمایش تجزیه‌پذیری با تکنیک کیسه‌های نایلونی اجرا شد. بدین منظور از سه رأس گاو نر تالشی مجهز به فیستولای شکمبه‌ای استفاده شد. روند ناپدیدشدن شکمبه‌ای زیرواحدهای پروتئین کنجالهٔ کانولا، با تکنیک الکتروفورز ژل پلی‌آکریلامید در حضور سدیم دودسیل‌سولفات تعیین شد. پرتوتابی موجب کاهش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای اسیدهای آمینه شد ($P<0/05$). به‌جز در زمینهٔ اسیدهای آمینهٔ سرین، تیروزین، و گلوتامات، تأثیر پرتو گاما در کاهش تجزیه‌پذیری اسیدهای آمینه بیشتر از پرتو الکترون بود. تجزیهٔ الکتروفورزی وجود پروتئین کروسیفرین با چهار زیرواحد را در کنجالهٔ کانولا نشان داد. در کنجالهٔ کانولای پرتوتابی نشده، هر چهار زیرواحد پروتئین کروسیفرین پس از هشت ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای تجزیه شدند. دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ کیلوگری پرتو الکترون و پرتو گاما، باعث حفظ زیرواحدهای پروتئین کروسیفرین به‌ترتیب تا زمان ۱۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت شدند. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که عمل‌آوری با پرتوهای یون‌ساز گاما و الکترون باعث کاهش تجزیهٔ شکمبه‌ای زیرواحدهای پروتئین کروسیفرین و اسیدهای آمینهٔ کنجالهٔ کانولا می‌شود. توانایی پرتو گاما در کاهش تجزیهٔ شکمبه‌ای پروتئین‌های کنجالهٔ کانولابیشتر از پرتو الکترون است.

کلیدواژه‌ها: الکتروفورز، پرتوهای یون‌ساز، تجزیه‌پذیری، کروسیفرین، کنجالهٔ کانولا.

* نویسنده مسئول Email: farzadghanbari@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

کنجاله‌های دانه‌های روغنی از منابع ارزشمند پروتئینی در تغذیهٔ نشخوارکنندگان هستند، اما بخش اعظمی از محتوای پروتئین آن‌ها، در شکمبه تجزیه می‌شود. تجزیهٔ گستردهٔ پروتئین‌های مفید به وسیلهٔ میکروارگانیسم‌های شکمبه، باعث ازدست‌رفتن نیتروژن به‌صورت اوره در ادرار می‌شود (۱۹، ۳۱). در طی چند دههٔ گذشته، روش‌های گوناگون عمل‌آوری کنجاله‌های پروتئینی همچون عمل‌آوری‌های شیمیایی (استفاده از الکل، زایلوز، اسیدهای آلی و معدنی، لیگنوسولفونات، و فرمالدئید)، فیزیکی (استفاده از حرارت خشک، حرارت مرطوب)، یا ترکیب آن‌ها اعمال شده‌اند (۷، ۲۷، ۲۹، ۳۶، ۳۹). اما بسیاری از این فرایندها بر قابلیت هضم روده‌ای فراوردهٔ نهایی تأثیر نامطلوب دارند (۳۴). پرتوتابی یکی از فرایندهایی است که به‌تازگی به آن توجه شده و روشی ایمن و اطمینان بخش برای بهبود ارزش تغذیه‌ای مواد خوراکی شناخته شده است (۱۳). پرتوتابی مواد خوراکی مستلزم استفادهٔ کنترل‌شده از انرژی پرتوهای یون‌ساز مانند الکترون و گاما برای بهبود ارزش مواد خوراکی است (۳، ۱۸). استفاده از پرتوهای یون‌ساز در کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین منابع خوراکی موفق بوده است (۱۶). عمل‌آوری خوراک با پرتوتابی، قابلیت بالایی برای جایگزینی سایر روش‌های عمل‌آوری دارد و بدون شک در آینده به‌طور وسیع‌تری استفاده خواهد شد (۲۵).

کنجالهٔ کانولا به‌عنوان منبع پروتئینی ارزشمند، به‌طور گسترده‌ای در جیرهٔ نشخوارکنندگان استفاده می‌شود (۳۸). توازن اسیدهای آمینه در کنجالهٔ کانولا مطلوب است (۳۷) و پروتئین آن بیشترین نسبت بازده پروتئین (۳/۲۹) را در بین منابع پروتئین گیاهی دارد (۲۰). با وجود این ، به دلیل تجزیهٔ گستردهٔ پروتئین کنجالهٔ کانولا در شکمبه، این کنجاله ازنظر اسیدهای آمینه قابل متابولیسم فقیر است. (۱۷). درخصوص تأثیر پرتوهای یون‌ساز بر تجزیه‌پذیری اسیدهای آمینهٔ کنجالهٔ کانولا گزارشی در منابع علمی یافت نشد.

ون‌سوست بهترین ملاک ارزشیابی پروتئین مواد خوراکی در تغذیهٔ نشخوارکنندگان را اندازه‌گیری‌کردن مقدار تجزیه‌پذیری پروتئین حقیقی شکمبه می‌داند (۳۳). تکنیک الکتروفورز ژل پلی‌آکریلامید و دنسیومتری، امکان مطالعهٔ نوع پروتئین موجود در مواد خوراکی، تعداد زیرواحدهای هر پروتئین، و وزن مولکولی زیرواحدها را فراهم می‌کند. این تکنیک توانایی تعیین و جداسازی پروتئین‌های نمونهٔ خوراک را دارد و امکان بررسی تجزیه‌پذیری زیرواحدهای پروتئین را فراهم می‌کند. بنابراین با این تکنیک می‌توان نوع پروتئین‌های عبوری از شکمبه را تشخیص داد (۳۰). بررسی الگوی الکتروفورزی پروتئین کنجالهٔ کانولا، وجود پروتئین کروسیفرین با چهار زیرواحد را در آن مشخص کرده است (۳۴). دوزهای ۵۰ و ۷۵ کیلوگری اشعهٔ گاما، سبب حفظ زیرواحدهای این پروتئین تا زمان ۴۸ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای می‌شوند. زیرواحدهای کروسیفرین کنجالهٔ کانولای پرتوتابی‌شده با دوزهای ۱۵ و ۳۰ کیلوگری پرتو الکترون، در مقایسه با نمونه‌های پرتوتابی‌نشده، به تجزیهٔ شکمبه‌ای مقاوم‌تر بودند (۳۵). درخصوص تأثیر پرتوهای یون‌ساز بر تجزیه‌پذیری اسیدهای آمینهٔ کنجالهٔ کانولا گزارشی گزارشی منتشر نشده است. هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تأثیر و مقایسهٔ پرتوهای یون‌ساز گاما و الکترون بر ناپدیدشدن شکمبه‌ای پروتئین و اسیدهای آمینه کنجالهٔ کانولا بود.

مواد و روش‌ها

کنجالهٔ کانولا از شرکت تعاونی گاوداران و اسب‌داران استان گلستان تهیه شد. پرتوتابی گامای کنجالهٔ کانولا در پژوهشکدهٔ تحقیقات کشاورزی، پزشکی، و صنعتی سازمان انرژی اتمی انجام گرفت. نمونه‌ها در دمای اتاق و اتمسفر

Archive of SID
www.SID.ir

هوا با سیستم پرتوتابی آزمایشگاهی مدل PX-30، با دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۷۰ کیلوگری و نرخ متوسط ۰/۳۴ گری در ثانیه، پرتوتابی شدند. در این سیستم، از کبالت ۶۰ به‌عنوان چشمهٔ پرتوزای گاما استفاده می‌شود. کیفیت پرتوتابی با به‌کارگیری سیستم دوزی‌متر شیمیایی مرجع فریک، براساس استاندارد ASTM E1026-95 کنترل شد (۴). پرتوتابی الکترونی کنجالهٔ کانولا در مرکز پرتوفرایند پژوهشکدهٔ کاربرد پرتوهای سازمان انرژی اتمی انجام گرفت. بدین‌منظور از شتاب‌دهندهٔ الکترونی رودوترون (مدلTT-2200، شرکت IBA، بلژیک) استفاده شد. نمونه‌های کنجاله با پرتو الکترونی ۱۰ مگاالکترون‌ولت و جریان باریکهٔ الکترونی شش میلی‌آمپر، با دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ کیلوگری و با خطای کمتر از پنج درصد پرتوتابی شدند. روش پرتوتابی به‌صورت یک‌طرفه بود. به‌منظور دقت در دوز داده شده به نمونه‌ها، اندازه‌گیری دوز با کالری‌متر پلی‌استراین (دوزی‌متر مرجع) صورت گرفت.

آزمایش تجزیه‌پذیری با تکنیک کیسه‌های نایلونی انجام گرفت (۲۸). به‌این منظور، از سه رأس گاو نر تالشی (۱۰±۳۵۰ کیلوگرم) مجهز به فیستولای شکمبه‌ای استفاده شد. دام‌ها در سطح نگهداری و با جیرهٔ براساس نسبت ۶۰ درصد علوفه و ۴۰ درصد کنسانتره تغذیه شدند. اجزای جیره شامل یونجه، کاه گندم، دانهٔ ذرت، دانهٔ جو، کنجالهٔ سویا، کربنات کلسیم، و مکمل ویتامینی‌ـمعدنی به‌ترتیب به‌میزان ۵۴، ۵۴۳، ۴۳، ۳۰۱، ۵۲، ۲ و ۵ گرم در کیلوگرم مادهٔ خشک بودند. خوراک به‌صورت روزانه و در دو وعدهٔ مساوی در اختیار دام‌ها قرار گرفت. نمونه‌های کنجالهٔ کانولای عمل‌آوری‌نشده و عمل‌آوری‌شده با پرتوهای گاما و الکترون با آسیاب چکشی آزمایشگاهی دارای غربال ۲ میلی‌متری آسیاب شدند. پنج گرم از هر نمونه در داخل کیسه‌های پلی‌استری (ابعاد ۲۱×۱۰ سانتی‌متر، قطر منافذ ۴۵ میکرومتر) قرار داده شد. زمان‌های صفر، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۲۴، و ۴۸ ساعت به‌منظور انکوباسیون شکمبه‌ای کیسه‌های نایلونی حاوی نمونه‌ها درنظر گرفته شدند. پس از پایان یافتن هر زمان انکوباسیون، کیسه‌های حاوی مواد باقی‌مانده ازطریق فیستولا از شکمبه خارج شدند و به‌مدت ۳۰ دقیقه در ماشین لباسشویی با آب سرد شسته شدند. پس از شست وشو، کیسه‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت در آون ۶۵ درجه خشک شدند.

تجزیه‌پذیری اسیدهای آمینه در زمان ۱۶ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای و با تعیین مقدار اسیدهای آمینهٔ موجود در نمونهٔ اولیه و نمونهٔ باقی‌مانده محاسبه شد (۲۶). اندازه گیری مقدار اسیدهای آمینه در آزمایشگاه گروه تولیدات دامی پژوهشکدهٔ تحقیقات غذا و کشاورزی MTT فنلاند انجام شد. روش اندازه‌گیری براساس دستور کار کمیسیون اروپایی (۱۴) و با استفاده از MassTrak UPLC بود. داده‌ها در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی، با نرم‌افزار آماری SAS (۳۲) و رویهٔ GLM تجزیه و میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن مقایسه شدند.

الکتروفورز پروتئین نمونه‌های کنجالهٔ کانولای عمل‌آوری‌نشده و عمل‌آوری‌شده با پرتوهای گاما و الکترون، با تکنیک الکتروفورز ژل پلی‌آکریلامید صورت گرفت (۲۲). در این پژوهش، از دستگاه الکتروفورز عمودی، ساخت شرکت پایاپژوهش استفاده شد. به‌منظور استخراج پروتئین برای انجام الکتروفورز، مقداری از کنجاله (اندازهٔ ذرات ۰/۱ میلی‌متر و تقریباً ۱۵ میلی‌گرم مادهٔ خشک کنجاله) به‌درون لوله‌های اپندرف منتقل شد. سپس ۷۵۰ میکرولیتر بافر استخراج نمونهٔ حاوی ۰/۶۲۵ مولار تریس‌ـاسیدکلریدریک (اسیدیته برابر با ۶/۸)، ۱۰ درصد سدیم دودسیل سولفات، ۲/۵ درصد بتامرکاپتواتانول، ۷ درصد گلیسرول، و ۴ میلی‌گرم بروموفنل بلو اضافه شد. پس از ۳۰ دقیقه هم‌زدن روی همزن مخصوص لولهٔ اپندرف در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد، پروتئین نمونه‌ها استخراج شد. سپس

Archive of SID
www.SID.ir

نمونه‌ها به‌مدت سه دقیقه در آب ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شدند و در ادامه به‌مدت یک دقیقه سانتریفیوژ (۱۰۰۰۰ دور در دقیقه) شدند. سپس مایع بالایی به لوله‌های اپندرف منتقل و تا زمان انجام الکتروفورز در دمای ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد. ۲۵ میکرولیتر از مایع بالایی (حاوی تقریباً ۵۰ میکروگرم پروتئین) به چاهک‌های الکتروفورز با ژل بالایی حاوی ۳/۷۵ و ژل پایینی حاوی ۱۴ درصد آکریلامید-بیس آکریلامید منتقل شد. ابعاد ژل ۱۴۰×۱۱۰×۱ میلی‌متر، زمان الکتروفورز سه ساعت، و شدت جریان ۳۰ میلی‌آمپر بود. پس از انجام الکتروفورز، ژل‌ها از شیشهٔ الکتروفورز جدا شدند و یک روز در ظروف پلاستیکی حاوی مقدار کافی محلول رنگ‌آمیزی، قرار داده شدند و پس از چند بار شست‌وشو با آب مقطر به آن‌ها مقدار کافی محلول رنگ‌بر اضافه شد. ژل‌ها تا حذف کامل رنگ زمینه و مشخص شدن باندهای پروتئین در محلول رنگ‌بر باقی ماندند. وزن مولکولی قطعات پروتئینی تفکیک شده روی ژل، با استفاده از مارکر استاندارد فرمنتاز حاوی ۱۱۶ کیلودالتون بتاگالاکتوزیداز، ۶۶/۲ کیلودالتون آلبومین سرم گاوی، ۴۵ کیلودالتون اُآلبومین، ۳۵ کیلودالتون لاکتات دهیدروژناز، ۲۵ کیلودالتون آندونوکلئاز، ۱۸/۴ کیلودالتون بتالاکتوگلوبولین، و ۱۴/۴ کیلودالتون لیزوزیم و با نرم‌افزار آنالیزکنندهٔ ژل تعیین شد.

نتایج و بحث

میزان تجزیه‌پذیری اسیدهای آمینهٔ کنجالهٔ کانولای عمل‌آوری‌نشده و عمل‌آوری‌شده با پرتوهای گاما و الکترون بعد از ۱۶ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای در جدول ۱ آمده است. در کنجالهٔ کانولای عمل‌آوری‌نشده، تجزیه‌پذیری اسیدهای آمینه در دامنهٔ بین ۴۱/۰۶ (تیروزین) و ۶۲/۲۱ درصد (گلوتامات) قرار داشت. پرتوتابی باعث کاهش تجزیهٔ شکمبه‌ای اسیدهای آمینه شد ($P<0/05$). تأثیر پرتو گاما در کاهش تجزیهٔ شکمبه‌ای اسیدهای آمینه (به استثنای سرین، تیروزین، و گلوتامات) بیشتر از پرتو الکترون بود ($P<0/05$). درخصوص تأثیر پرتوهای یون‌ساز بر تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای اسیدهای آمینهٔ کنجالهٔ کانولا گزارشی در منابع علمی یافت نشد. در گزارش منتشرنشده‌ای از نگارندگان این مقاله، مشاهده شد که پرتوهای یون‌ساز، تجزیهٔ بخش‌های پروتئین کنجالهٔ کلزا با نرخ تجزیهٔ سریع و ثابت را کاهش و تجزیهٔ بخش پروتئینی با نرخ تجزیهٔ کم را افزایش می‌دهند. همچنین تجزیه‌پذیری مؤثر پروتئین خام در سرعت‌های عبور شکمبه‌ای ۲، ۵ و ۸ درصد در ساعت نیز به‌وسیلهٔ عمل‌آوری پرتوتابی کاهش یافت. در پژوهشی مشاهده شد که دوزهای ۳۰ و ۴۵ کیلوگری پرتو الکترون تجزیه‌پذیری مؤثر پروتئین خام کنجالهٔ کانولا را به‌ترتیب به‌میزان ۸/۲ و ۲۱ درصد در مقایسه با شاهد کاهش دادند (۳۵).

پرتو یون‌ساز همانند حرارت، از عوامل فیزیکی واسرشت‌کنندهٔ پروتئین است. این نوع پرتو در مواد خوراکی مرطوب و آب‌دار مولکول‌های آب به یون‌های فعال یونیزه می‌کند و با تولید پراکسید سبب ایجاد تغییرات فیزیکوشیمیایی در پروتئین‌ها و واسرشتی آن‌ها می‌شود (۱۰، ۲۳). واسرشتی باعث افزایش سطح آب‌گریزی پروتئین می‌شود (۳۴). بدین‌ترتیب محلولیت پروتئین‌ها کاهش می‌یابد. نتایج مطالعات میکروکالری‌متر نشان داده است که دوز بالای پرتوتابی (۳۵ کیلوگری) ویژگی‌های ترمودینامیکی آلفالاکتالبومین را تغییر می‌دهد و سبب کاهش آنتالپی واسرشتی پروتئین می‌شود (۸). همچنین پرتو گاما به کاهش حل‌شدن پروتئین ازطریق پیوند عرضی بین زنجیره‌ها و انباشتگی پروتئین می‌انجامد (۱۵، ۲۴). پرتوتابی که باعث به‌هم چسبیدن پروتئین‌ها می‌شود، محلولیت پروتئین را کاهش می‌دهد. (۲۳).

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱. تجزیه‌پذیری (درصد) اسیدهای آمینه کنجالهٔ کانولای عمل‌آوری‌نشده و عمل‌آوری‌شده با پرتوهای یون‌ساز گاما و الکترون بعد از ۱۶ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای

اسیدهای آمینه	پرتوتابی‌شده با اشعهٔ گاما (کیلوگری)			پرتوتابی‌شده با تابش الکترون (کیلوگری)			SEM	مقایسات گروهی			
	۲۵	۵۰	۷۵	۲۵	۵۰	۷۵		پرتوتابی نشده در برابر پرتوتابی شده	پرتوتابی نشده در برابر تابش الکترون	پرتوتابی نشده در برابر اشعهٔ گاما	تابش الکترون در برابر اشعهٔ گاما
هیستیدین	۶۱/۳۴^{a}	۴۹/۶۷^{c}	۴۷/۹۹^{c}	۳۴/۷۷^{e}	۵۰/۲۵^{c}	۳۹/۴۹^{d}	۱/۰۳۰	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱۸
ایزولوسین	۴۵/۶۱^{a}	۳۹/۲۵^{b}	۳۳/۸۹^{d}	۳۱/۳۲^{d}	۴۳/۸۲^{a}	۳۸/۰۹^{bc}	۱/۰۹۱	۰/۰۰۲۱	۰/۰۰۲۳	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۲
لوسین	۵۴/۸۸^{a}	۴۳/۷۷^{bc}	۳۹/۴۸^{cd}	۳۱/۰۷^{e}	۴۶/۵۰^{b}	۳۲/۵۶^{bc}	۱/۶۳۲	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۲	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۳۱۸
لیزین	۵۱/۸۸^{a}	۴۳/۰۳^{bc}	۳۹/۱۲^{d}	۳۵/۱۴^{e}	۴۴/۸۹^{b}	۴۰/۹۴^{cd}	۰/۷۷۴	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۵۴۱
متیونین	۵۸/۳۸^{a}	۴۸/۹۲^{b}	۴۵/۰۵^{b}	۳۲/۳۲^{d}	۴۹/۲۹^{b}	۳۷/۰۷^{c}	۱/۳۸۳	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۴۴۷
فنیل آلانین	۴۹/۶۶^{a}	۳۶/۱۱^{c}	۲۸/۵۷^{d}	۲۲/۱۹^{e}	۴۶/۱۱^{ab}	۳۰/۷۵^{d}	۱/۲۳۹	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۴۷۷
ترئونین	۴۲/۹۹^{a}	۳۲/۸۸^{bc}	۲۹/۰۷^{cd}	۲۲/۸۹^{e}	۳۵/۴۱^{b}	۲۶/۴۵^{de}	۱/۴۲۰	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۴۷۷
والین	۴۲/۰۳^{a}	۳۴/۰۰^{bc}	۲۶/۹۹^{d}	۱۸/۳۲^{e}	۳۵/۲۱^{b}	۲۰/۹۳^{e}	۱/۱۶۵	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۲۷۵
آلانین	۵۲/۸۲^{a}	۴۰/۸۳^{bc}	۳۹/۴۷^{c}	۲۷/۸۹^{e}	۴۴/۳۳^{ab}	۳۲/۸۹^{d}	۱/۱۷۰	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۱۰۳
آرژنین	۶۰/۲۲^{a}	۵۱/۷۶^{bc}	۴۷/۳۸^{d}	۳۵/۵۱^{f}	۵۴/۳۰^{b}	۴۱/۶۳^{e}	۰/۹۴۳	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۹
آسپارژین	۴۸/۶۸^{a}	۳۹/۵۰^{bc}	۳۳/۸۵^{d}	۲۴/۲۰^{f}	۴۲/۸۸^{b}	۲۹/۸۱^{e}	۱/۱۷۰	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۲۷
گلیسین	۴۹/۱۹^{a}	۴۱/۱۵^{b}	۳۵/۶۸^{c}	۲۳/۸۷^{e}	۴۲/۲۲^{b}	۲۹/۱۸^{d}	۱/۱۲۷	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۱۰۳
پرولین	۴۷/۲۲^{a}	۴۱/۶۲^{b}	۳۳/۴۴^{d}	۲۳/۴۴^{d}	۴۳/۲۰^{ab}	۲۷/۸۶^{d}	۱/۳۶۳	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۲	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۳۹۱
سرین	۴۴/۷۲^{a}	۳۶/۱۵^{b}	۳۲/۳۱^{b}	۲۱/۲۰^{c}	۳۶/۹۳^{b}	۲۵/۱۷^{c}	۱/۶۱۵	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۳	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۸۴۰
تیروزین	۴۱/۰۶^{a}	۳۴/۴۹^{b}	۳۰/۴۲^{c}	۲۰/۴۲^{c}	۳۴/۲۳^{b}	۲۵/۰۴^{c}	۱/۶۲۰	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۷	۰/۰۰۰۳	۰/۲۱۷۷
گلوتامات	۶۶/۲۱^{a}	۵۹/۸۵^{ab}	۵۵/۷۷^{b}	۳۹/۲۵^{d}	۶۰/۶۰^{ab}	۴۶/۴۹^{c}	۱/۹۰۷	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۱۱	۰/۰۰۰۳	۰/۱۰۶۷

a-f: تفاوت میانگین‌ها با حروف غیر مشابه در هر ردیف، معنی‌دار است (P<۰/۰۵).
SEM: اشتباه معیار میانگین‌ها

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲. وزن مولکولی زیرواحدهای پروتئین کروسیفرین کنجالهٔ کانولا در پژوهش‌های گوناگون (کیلودالتون)

زیرواحد	پژوهش حاضر	(۵)	(۶)	(۳۴)	(۳۵)	(۱)
۱	۳۲/۷–۳۴/۳	۳۰/۰	۳۲/۰	۳۱/۲	۳۹/۰	۴۱/۰
۲	۲۶/۴–۲۹/۱	۲۶/۰	۲۸/۲	۲۶/۸	۳۰/۰	۲۵/۸
۳	۲۱/۸–۲۳/۶	۲۲/۰	۲۱/۰	۲۱/۱	۲۳/۰	۲۲/۴
۴	۱۹/۲–۲۰/۳	۲۰/۰	۱۸/۲	۲۰/۵	۲۱/۰	۱۸/۰

پروتئین‌هایی که تحت پرتوتابی یون‌ساز (پرتوهای گاما و الکترون) قرار گرفته‌اند، تاخوردگی‌شان باز می‌شود. در این شرایط، پیوندهای عرضی تشکیل می‌دهند یا متراکم می‌شوند. این پروتئین‌ها حساسیت کمتری به آنزیم‌های هیدرولیزکننده دارند (۹)، زیرا بیشتر باکتری‌های تجزیه‌کنندهٔ پروتئین‌ها، پروتئازهایی دارند که به سطح سلولی پیوسته اند و جذب پروتئین‌های محلول توسط باکتری، برای تجزیهٔ آن‌ها ضروری است (۲۱). بدین‌ترتیب پروتئین‌ها از تجزیهٔ میکروبی شکمبه، در امان می‌مانند و به‌منظور هضم و جذب وارد رودهٔ باریک می‌شوند.

تجزیهٔ الکتروفورزی کنجالهٔ کانولا وجود پروتئین کروسیفرین با چهار زیرواحد را نشان داد. دامنهٔ وزن مولکولی زیرواحدهای یک، دو، سه، و چهار پروتئین کروسیفرین به‌ترتیب در دامنهٔ ۳۴/۳–۳۲/۷، ۲۹/۱–۲۶/۴، ۲۳/۶–۲۱/۸، و ۲۰/۳–۱۹/۲ کیلودالتون بود که با گزارش سایر پژوهشگران مطابقت داشت (۱، ۵، ۶، ۳۴، ۳۵) (جدول ۲). تفاوت‌های جزئی مشاهده‌شده در این گزارش‌ها (به‌عنوان مثال وزن مولکولی بالاتر زیرواحد یک کروسیفرین در یکی از گزارش‌ها (۱)) احتمالاً به ناهمگنی پروتئین‌های کانولا، شرایط الکتروفورز نمونه‌ها، غلظت ژل و وزن مولکولی مارکر پروتئین مربوط است (۲).

زمان لازم برای ناپدیدشدن زیرواحدهای پروتئین کروسیفرین کنجالهٔ کانولای پرتوتابی‌نشده در شکمبه، در جدول ۳ نشان داده شده است. هر چهار زیرواحد این پروتئین تا زمان هشت ساعت انکوباسیون در شکمبه بازیافت گردیدند و پس از آن ناپدید شدند.

در دوز ۲۵ کیلوگری تابش الکترون، زیرواحدهای پروتئین کروسیفرین تا زمان ۱۶ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای حضور داشتند و پس از آن ناپدید شدند. زیرواحدهای مذکور توسط دوزهای ۵۰ و ۷۵ کیلوگری، تا زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای حفظ شدند (جدول ۴).

دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ کیلوگری اشعهٔ گاما باعث حفظ زیرواحدهای پروتئین کروسیفرین به‌ترتیب تا زمان ۱۶، ۲۴، و ۴۸ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای شدند (جدول ۵).

زیرواحدهای پروتئین کروسیفرین کنجالهٔ کانولای عمل‌آوری شده با پرتو الکترون و اشعهٔ گاما، زمان بیشتری از تجزیهٔ شکمبه‌ای در امان ماندند. پرتوهای گاما و الکترون در دوزهای ۲۵ و ۵۰ کیلوگری، تأثیر یکسانی در به تأخیرانداختن تجزیهٔ پروتئین کروسیفرین داشتند، اما در دوز ۷۵ کیلوگری، تأثیر اشعهٔ گاما بیشتر از پرتو الکترون بود. به‌گونه‌ای که در این دوز، زیرواحدهای پروتئین کروسیفرین در تیمارهای اشعهٔ گاما و پرتو الکترون به‌ترتیب پس از ۴۸ و ۲۴ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای تجزیه شدند.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۳. ناپدیدشدن زیرواحدهای پروتئین کروسیفرین کنجالهٔ کانولای پرتوتابی‌نشده در زمان‌های گوناگون انکوباسیون در شکمبه

زیرواحد	وزن مولکولی	زمان انکوباسیون (ساعت)						
		۰	۲	۴	۸	۱۶	۲۴	۴۸
۱	۳۲/۷ –۳۴/۳	+	+	+	+	–	–	–
۲	۲۶/۴–۲۹/۱	+	+	+	+	–	–	–
۳	۲۱/۸–۲۳/۶	+	+	+	+	–	–	–
۴	۱۹/۲–۲۰/۳	+	+	+	+	–	–	–

+: حضور زیرواحد در زمان انکوباسیون مشخص

–: عدم حضور زیرواحد در زمان انکوباسیون مشخص

جدول ۴. ناپدیدشدن زیرواحدهای پروتئین کروسیفرین کنجالهٔ کانولای پرتوتابی‌شده با تابش الکترون در زمان‌های گوناگون انکوباسیون در شکمبه

دوز تابش (کیلوگری)	زیرواحد	زمان انکوباسیون (ساعت)						
		۰	۲	۴	۸	۱۶	۲۴	۴۸
۲۵	۱	+	+	+	+	+	–	–
	۲	+	+	+	+	+	–	–
	۳	+	+	+	+	+	–	–
	۴	+	+	+	+	+	–	–
۵۰	۱	+	+	+	+	+	+	–
	۲	+	+	+	+	+	+	–
	۳	+	+	+	+	+	+	–
	۴	+	+	+	+	+	+	–
۷۵	۱	+	+	+	+	+	+	–
	۲	+	+	+	+	+	+	–
	۳	+	+	+	+	+	+	–
	۴	+	+	+	+	+	+	–

+: حضور زیرواحد در زمان انکوباسیون مشخص

–: عدم حضور زیرواحد در زمان انکوباسیون مشخص

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۵. ناپدیدشدن زیرواحدهای پروتئین کروسیفرین کنجالهٔ کانولای پرتوتابی‌شده با اشعهٔ گاما در زمان‌های گوناگون انکوباسیون در شکمبه

دوز تابش (کیلوگری)	زیرواحد	زمان انکوباسیون (ساعت)						
		۰	۲	۴	۸	۱۶	۲۴	۴۸
۲۵	۱	+	+	+	+	+	−	−
	۲	+	+	+	+	+	−	−
	۳	+	+	+	+	+	−	−
	۴	+	+	+	+	+	−	−
۵۰	۱	+	+	+	+	+	+	−
	۲	+	+	+	+	+	+	−
	۳	+	+	+	+	+	+	−
	۴	+	+	+	+	+	+	−
۷۵	۱	+	+	+	+	+	+	+
	۲	+	+	+	+	+	+	+
	۳	+	+	+	+	+	+	+
	۴	+	+	+	+	+	+	+

+: حضور زیرواحد در زمان انکوباسیون مشخص

−: عدم حضور زیرواحد در زمان انکوباسیون مشخص

در کنجالهٔ کانولای پرتوتابی‌نشده، زیرواحدهای پروتئین کروسیفرین پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای ناپدید می‌شوند، درحالی‌که پرتوتابی با دوزهای ۵۰ و ۷۵ کیلوگری اشعهٔ گاما، زیرواحدهای این پروتئین را تا زمان ۴۸ ساعت از تجزیهٔ شکمبه‌ای حفظ می‌کند (۳۴). در تحقیقی، پرتوتابی کنجالهٔ کانولا با دوز ۶۳ کیلوگری پرتو الکترون، تأثیری بر تجزیهٔ شکمبه‌ای زیرواحدهای پروتئین کروسیفرین آن نداشته است (۱). در پژوهشی که با تکنیک الکتروفورز ژل پلی‌آکریلامید انجام گرفت، اثر دوزهای ۱۵، ۳۰، و ۴۵ کیلوگری پرتو گاما بر تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین دانهٔ کانولا بررسی شد. در کنجالهٔ کانولای پرتوتابی نشده، زیرواحدهای پروتئین کروسیفرین پس از ۱۶ ساعت انکوباسیون در شکمبه ناپدید شدند، درحالی‌که پرتوتابی با دوزهای ۳۰ و ۴۵ کیلوگری اشعهٔ گاما، زیرواحدهای پروتئین مذکور را تا زمان ۲۴ ساعت در شکمبه حفظ کرد (۱۲). نتایج حاصل از پژوهشی نشان داد که زیرواحدهای کروسیفرین کنجالهٔ کانولای پرتوتابی‌شده با دوزهای ۱۵ و ۳۰ کیلوگری پرتو الکترون، در مقایسه با نمونه‌های پرتوتابی‌نشده، به تجزیهٔ شکمبه‌ای مقاوم‌تر بودند (۳۵).

علت محافظت بیشتر زیرواحدهای پروتئین کروسیفرین در مقابل تجزیه‌شدن، واسرشتی در اثر پرتوتابی است (۳۳). اثر پرتو یون‌ساز بر واسرشتی پروتئین‌های مواد خوراکی مشاهده شده است (۱۰، ۱۱). واسرشتی سبب تغییر موقعیت اسیدهای آمینه با گروه‌های جانبی آب‌گریز از درون هسته به سطح مولکول شده است که بر اثر این کار

Archive of SID
www.SID.ir

سطح مولکول پروتئین آب‌گریزتر و از حالت طبیعی خارج می‌شود (۲). کاهش تجزیه‌پذیری زیرواحدهای پروتئین کروسیفرین احتمالاً به دلیل ایجاد پیوندهای عرضی، به‌هم چسبیدگی، و اکسیداسیون به‌وسیلهٔ رادیکال‌های اکسیژن تولیدشده در اثر پرتوتابی است (۱۰). رادیکال‌های آنیونی هیدروکسیل و سوپراکسید تولیدشده با پرتوتابی، می‌توانند ویژگی‌های مولکولی پروتئین‌ها را ازطریق ایجاد پیوندهای عرضی تغییر دهند و باعث به‌هم‌چسبیدگی پروتئین‌ها شوند (۱۵).

به‌طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد که عمل‌آوری با دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ کیلوگری پرتوهای یون‌ساز گاما و الکترون، سبب کاهش تجزیهٔ شکمبه‌ای اسیدهای آمینهٔ کنجالهٔ کانولا می‌شود. همچنین توانایی پرتو گاما در کاهش تجزیهٔ شکمبه‌ای اسیدهای آمینه، بیشتر از تابش الکترون است. الگوی الکتروفورزی کنجالهٔ کانولا وجود چهار زیرواحد را در آن نشان داد. زیرواحدهای پروتئین کروسیفرین در کنجالهٔ کلزا، تحت تأثیر پرتوهای گاما و الکترون، زمان بیشتری در شکمبه پایدار می‌مانند. دوز ۷۵ کیلوگری پرتو گاما بیشترین تأثیر را در محافظت زیرواحدهای پروتئین کروسیفرین در مقابل تجزیهٔ میکروبی در شکمبه دارد.

منابع

۱. جعفری‌فروشانی م (۱۳۸۹) اثر پرتوتابی تابش الکترون بر تجزیه‌پذیری مادهٔ خشک و پروتئین خام کنجاله‌های سویا و کانولا و عملکرد گاوهای شیری هلشتاین، پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه صنعتی اصفهان.

۲. شورنگ پ (۱۳۸۵) مطالعهٔ اثرات پرتوتابی روی ناپدیدشدن شکمبه‌ای و پس‌شکمبه‌ای پروتئین بعضی مواد خوراکی با استفاده از تکنیک‌های کیسه‌های نایلونی و الکتروفورز ژل پلی‌آکریلامید، رسالهٔ دکتری علوم دامی دانشگاه تهران.

3. Al-Masri MR and Zarkawi M (1994) Effects of gamma irradiation on chemical compositions of some agricultural residues. Radiation Physics and Chemistry. 43: 257-262.

4. ASTM (1984) Method for using the Fricke dosimeter to measure absorbed dose in water. ASTM Standard E 1026.

5. Aufrere J, Gravious D, Demarquilly C, Verite R, Michalet-Doreau B and Chapoutot P (1991) Predicting *in sacco* degradability of feed proteins in the rumen by two laboratory methods (solubility and enzymatic degradation). Animal Feed Science and Technology. 33: 97-116.

6. Bhatty RS, McKenzie SL and Finlayson AJ (1999) The proteins of rapeseed soluble in salt solutions. Canadian Journal of Biochemistry. 46: 1191-1197.

7. Borucki Castro SI, Phillip LE, Lapierre H, Jardon PW and Berthiaume R (2007) Ruminal degradability and intestinal digestibility of protein and amino acids in treated soybean meal products. Journal of Dairy Science. 90: 810-822.

8. Chapelier A, Desmadril M and Houe e-Levin C (2001) Gamma irradiation effects on α-lactalbumin: structural modifications. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology. 79: 154-157.

9. Cho Y, Yang JS and Song KB (1999) Effect of ascorbic acid and protein concentration on the molecular weight profile of bovine serum albumin and b-lactoglobulin and c-irradiation. Food Research International. 32: 515-519.

Archive of SID
www.SID.ir

10. Ciesla K, Roos Y and Gluszewski W (2000) Denaturation processes in gamma irradiated proteins studied by differential scanning calorimetry. Radiation Physics and Chemistry. 58: 233-243.

11. Davies KJA and Delsignore ME (1987) Protein damage and degradation by oxygen radicals III. Modification of secondary and tertiary structure. Journal of Biological Chemistry. 262: 9908-9913.

12. Ebrahimi SR, Nikkhah A, Sadeghi AA and Raisali G (2009) Chemical composition, secondry compounds, ruminal degradation and *in vitro* crude protein digestibility of gamma irradiated canola seed. Anim Feed Science and Technology. 151: 184-193.

13. Ebrahimi SR, Nikkhah A, Sadeghi AA and Raisali G (2009) Chemical composition, secondry compounds, ruminal degradation and *in vitro* crude protein digestibility of gamma irradiated canola seed. Anim Feed Science and Technology. 151: 184-193.

14. European Comission (1998) Establishing community methods of analysis for the determination of amino acids, crude oils and fats, and olaquindox in feedingstuffs and amending directive 71/393/EEC. Comission directive 98/64/EC.

15. Gaber MH (2005) Effect of g-irradiation on the molecular properties of bovine serum albumin. Journal of Bioscience and Bioengineering. 100: 203-206.

16. Ghanbari F, Ghoorchi T, Shawrang P, Mansouri H and Torbati-Nejad NM (2012) Comparison of electron beam and gamma ray irradiations effects on ruminal crude protein and amino acid degradation kinetics, and *in vitro* digestibility of cottonseed meal. Radiation Physics and Chemistry. 81: 572-578.

17. Gozho GN, McKinnon JJ, Christensen DA, Racz V and Mutsvangwa T (2009) Effect of type of canola protein supplement on ruminal fermentation and nutrient flow to the duodenum in beef heifers. Journal of Animal Science. 87: 3363-3371.

18. Hyun-Joo K, Jun-Sang H, Ju-Woon L, Keehyuk K, Sang-Do H and Cheorun J (2010) Effects of gamma and electron beam irradiation on the survival of pathogens inoculated into sliced and pizza cheeses. Radiation Physics and Chemistry. 79: 731-734.

19. Kamalak A, Canbolat O, Gurbuz Y and Ozan O (2005) Protected protein and amino acids in ruminant nutrition. Journal of Science and Engineering. 8: 84-88.

20. Khattab RY and Arntfield SD (2009) Functional properties of d raw anprocessed canola meal. LWT-Food Science and Technology. 42: 1119-1124.

21. Kopecny J and Wallace RJ (1982) Cellular location and some properties of proteolytic enzymes of rumen bacteria. Applied. Environmental Microbiology. 43: 1026-1033.

22. Laemmli UK (1970) Cleavage structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature. 227: 680-688.

23. Lee JW, Kim JH, Yook HS, Kang KO, Lee S Y, Hwang HJ and Byun MW (2001) Effect of gamma irradiation on the allergenic and antigenic properties of milk proteins. Journal of Food Protection. 64: 272-276.

24. Lee SL, Lee MS and Song KB (2005) Effect of gamma-irradiation on the physicochemical properties of gluten films. Food Chemistry. 92: 621-625.

25. Mani V and Chandra P (2003) Effect of feeding irradiated soybean on nutrient intake,

Archive of SID
www.SID.ir

digestibility and N-balance in goats. Small Ruminant Research. 48: 77-81.

26. Maxin G, Ouellet DR and Lapierre H (2013) Ruminal degradability of dry matter, crude protein, and amino acids in soybean meal, corn and wheat dried distillers. Journal of Dairy Science. 96: 5151-5160.

27. National Research Council (2001) Nutrient requirements of dairy cattle, seventh revised ed. National Academy of Sciences, Washington, D.C.

28. Orskov ER and I McDonald (1979) The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rumenrate of passage. Journal of Agricultural Science Cambridge. 92: 499-503.

29. Sadeghi AA and Shawrang P (2006) Effects of microwave irradiation on ruminal protein and starch degradation of corn grain. Animal Feed Science and Technology. 127: 113-123.

30. Sadeghi AA, Nikkhah A, Shawrang P and Shahrebabak MM (2006) Protein degradation kinetics of untreated and treated soybean meal using SDS-PAGE. Animal Feed Science and Technology. 126: 121-133.

31. Sandrock CM, Armentano LE, Thomas DL and Berget YM (2009) Effect of protein degradability on milk production of dairy ewes. Journal of Dairy Science. 92: 4507-4513.

32. SAS (2003) SAS User's Guide: Statistics, Version 9.1 Edition.SAS Institute, Cary, NC, USA.

33. Shawrang P, Nikkhah A, Zare-Shahneh A, Sadeghi AA, Raisali G and Moradi-Shahrbabak MM (2007) Effects of gamma irradiation on protein degradation of soybean meal in the rumen. Animal Feed Science and Technology. 134: 140-151.

34. Shawrang P, Nikkhah A, Zare-Shahneh A, Sadeghi AA, Raisali G and Moradi-Shahrbabak MM (2008) Effects of gamma irradiation on chemical composition and ruminal protein degradation of canola meal. Radiation Physics and Chemistry. 77: 918-922.

35. Taghinejad- Roudbaneh M, Ebrahimi SR, Azizi S and Shawrang P (2010) Effect of electron beam irradiation on chemical composition, antinutritional factors, ruminal degradation and *in vitro* protein digestibility of canola meal. Radiation Physics and Chemistry. 79: 1264-1269.

36. Tuncer SD and Sacakli P (2003) Rumen degradability characteristics of xylose treated canola and soybean meals. Animal Feed Science and Technology. 107: 211-218.

37. Wright CF (1995) The evaluation of heat and lignosulfonate treated canola meal and sources of rumen undegradable protein for lactating cows. B. Sc. Thesis. University of British Columbia. 103p.

38. Wright CF, Von Keyserlingk MAG, Swift ML and Fisher LJ (2005) Heat and lignosulfonate-treated canola meal as a source of ruminal undegradable protein for lactating dairy cows. Journal of Dairy Science. 88: 238-243.

39. Yoruk MA, Aksu T, Gul M and Bolat D (2006) The effect of soybean meal treated with formaldehyde on amount of protein in the rumen and absorption of amino acid from small intestines. Turkish Journal of Veterinary and Animal Science. 30: 457-463.

Archive of SID
www.SID.ir