Archive of SID

مجله بیوتکنولوژی کشاورزی (دوره 5، شماره 1، بهار 1392)

آنالیز مولکولی و شیمیایی زیر واحدها و بخش های مختلف پروتئین کنجاله کنجد در مقایسه با کنجاله های پنبه دانه و سویا با استفاده از روش های الکتروفورز SDS-PAGE و CNCPS

امین خضری*

استادیار گروه علوم دامی دانشگاه شهید باهنر کرمان

تاریخ دریافت: 1390/11/16، تاریخ پذیرش: 1391/4/6

چکیده

در این پژوهش به منظور مطالعه زیر واحدها و بخش های مختلف پروتئین کنجاله کنجد و مقایسه آن با کنجاله های پنبه دانه و سویا از دو روش الکتروفورز SDS-PAGE و CNCPS استفاده شد. نتایج بخش های مختلف پروتئین بر اساس روش CNCPS نشان دهنده اختلاف معنی دار (P<0/05) بین میانگین‌های نیتروژن غیرپروتئینی (بخشA)، پروتئین حقیقی محلول (بخش B_1)، پروتئین با قابلیت هضم سریع در شکمبه (بخش B_2)، پروتئین با قابلیت هضم کند در شکمبه (بخشB_3) و پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه (بخش C) برای کنجاله کنجد در مقایسه با کنجاله های تخم پنبه و سویا بود. در روش SDS- Page زیر واحد پروتئینی کنجد شامل 11S گلوبولین بود که از یک پلی پپتید اصلی اسیدی با وزن مولکولی 85/96 کیلودالتون و دو پلی پپتید بازی با دامنه وزن مولکولی 17/04 تا 28/87 کیلودالتون تشکیل شده بود. همچنین زیر واحد پروتئینی 2S آلبومین در کنجاله کنجد شامل دو زیر واحد با دامنه وزن مولکولی 9/5 تا 10/51 کیلودالتون بود. الگوی زیرواحدهای پروتئینی در کنجاله پنبه دانه نشان دهنده 4 زنجیره پلی پپتیدی مربوط به پروتئین های گلوبولین 9S با دو زیر واحد به وزن مولکولی 78/36 کیلودالتون و 71/10 کیلودالتون، گلوبولین 5S با یک زیر واحد به وزن مولکولی 25/47 کیلودالتون و آلبومین 2S با یک زیر واحد به وزن مولکولی 15/84 کیلودالتون بود. در پژوهش حاضر، دو نوع پروتئین عمده در کنجاله سویا شامل گلیسینین و بتاکنگلیسینین مشاهده شد. گلیسینین دارای دو زیرواحد اسیدی (عمدتا دارای اسیدهای آمینه اسیدی) و بازی (دارای اسیدهای آمینه بازی) به ترتیب با وزن مولکولی 40 و 21/30 کیلودالتون و پروتئین بتاکنگلیسینین دارای سه زیرواحد α، ά و β با وزن مولکولی به ترتیب 91/83، 80/49 و 47/16 بود. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که کنجاله کنجد با توجه زیر واحدها و بخش های مختلف پروتئین دارای ارزش تغذیه ای مناسبی برای جایگزینی با کنجاله پنبه دانه در تغذیه دام می باشد.

کلمات کلیدی: *کنجاله کنجد، زیرواحدهای پروتئینی، الکتروفورز SDS-Page، CNCPS.*

* نویسنده مسئول: امین خضری تلفن: 09133977126 Email: akhezri@mail.uk.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

سطح تولید شیر گاوهای شیرده برای بهبود پتانسیل ژنتیکی و مدیریت عوامل محیطی در سال های اخیر افزایش چشمگیری داشته است. همگام با این افزایش تولید، نیازهای پروتئینی گاوهای شیرده افزایش یافته و تامین این نیازها مستلزم استفاده موثر از مواد خوراکی پروتئینی با کیفیت در جیره دام می باشد. در سال های اخیر با افزایش نیاز به مواد خوراکی دامی و در نتیجه افزایش تولیدات دامی، قیمت مواد خوراکی دامی به ویژه مواد خوراکی پروتئینی، نیز زیاد شده است. بنابراین استفاده از مواد خوراکی جایگزین و ارزان به ویژه فرآورده های جانبی حاصل از محصولات کشاورزی در تغذیه دام اهمیت بسیار زیادی پیدا کرده است. فراورده های جانبی حاصل از محصولات کشاورزی دارای مواد آلی زیادی بوده که عمدتا مورد استفاده قرار نگرفته و و به دلیل دفع در محیط زیست، باعث آلودگی آن می گردند. بازده استفاده از پروتئین خام جیره در نشخوارکنندگان نسبتا پایین بوده و به این دلیل افزایش مقدار پروتئین خام جیره به منظور تامین نیازهای تولید حیوان با افزایش دفع نیتروژن از بدن دام و افزایش آلودگی های زیست محیطی همراه است. در حقیقت مطلوب نمودن بازده استفاده دام از پروتئین خام جیره به عوامل مختلف از جمله نوع ماده خوراکی دارای پروتئین و سرعت و وسعت تجزیه پذیری آن بستگی دارد.

کنجد با نام علمی *Sesamum indicum L.* گیاهی است یکساله با ارتفاع حدود یک متر که قسمت انتهایی ساقه آن پوشیده از کرک است. برگهای آن بیضی، باریک و نوک تیز است . گلهای آن برنگ سفید و یا قرمز بطور تک تک در کناره برگ های قسمت انتهایی ساقه ظاهر می شود. میوه گیاه کنجد به صورت کپسول و دارای دانه های کوچک، مسطح و بیضوی بنام دانه کنجد است. کنجاله کنجد محصول جانبی حاصل از روغن کشی میوه کنجد بوده که طی سل های اخیر تولید این فرآورده های جانبی در کشور افزایش یافته است. بر اساس مطالعات ابتدایی انجام گرفته توسط نگارنده (داده های گزارش نشده) کنجاله کنجد به دلیل مقدار پروتئین زیاد، می تواند منبع پروتئینی مناسبی برای جایگزینی با دیگر منابع خوراکی پروتئینی از جمله کنجاله پنبه دانه در تغذیه دام باشد. عوامل متعددی تجزیه پذیری پروتئین مواد خوراکی در شکمبه و نگاری دام های نشخوارکننده را تحت تأثیر قرار داده که مقدار و نوع زیرواحدهای پروتئین های مواد خوراکی و نوع ساختمان پروتئین از جمله این عوامل می باشند (Stern *et al.*, 1997). در سیستم های جدید تنظیم جیره نشخوارکنندگان فراسنجه های پیچیده ای برای تخمین سنتز پروتئین و تجزیه آن در شکمبه، وارد محاسبات و مدل های ریاضی شده است (Tamminga *et al.*, 1994). در حقیقت به کارگیری موفقیت آمیز این سیستم ها به منظور تعادل

www.SID.ir

Archive of SID

بین سنتز پروتئین میکروبی و پروتئین عبوری از شکمبه و در نتیجه کاهش دفع نیتروژن از بدن حیوان، مستلزم افزایش اطلاعات از خصوصیات پروتئین ها در این مواد خوراکی می باشد. بنابراین، هدف این پژوهش، مطالعه زیر واحدها و بخش های مختلف پروتئین کنجاله کنجد در مقایسه با کنجاله های پنبه دانه و سویا با استفاده از روش های الکتروفورز SDS-PAGE و CNCPS به منظور آگاهی کامل تر از کینتیک هضم و تجزیه پذیری این منابع پروتئینی در تغذیه دام بود.

مواد و روش ها

در این مطالعه از کنجاله های کنجد، سویا و پنبه دانه روغن کشی شده به روش حلال استفاده شد. پروتئین خام نمونه خشک شده کنجاله ها پس از آسیاب کردن با الک با قطر منافذ 1 میلی متر، بر اساس روش AOAC (2000) اندازه گیری شد. مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی بر اساس روش Van soest *et al.* (1991)، بدون استفاده از سولفیت سدیم، استون و آنزیم آلفا آمیلاز تعیین شدند. برای تعیین بخش های نیتروژنی در سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل (CNCPS) از روش Licitra *et al.* (1996) استفاده شد. برای تعیین نیتروژن غیرپروتئینی (A) از تنگستات سدیم استفاده شد. همچنین نیتروژن نامحلول در شوینده اسیدی[1] و شوینده خنثی[2] در ادامه اندازه گیری بخش الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و الیاف نامحلول در شوینده خنثی با روش Van soest *et al.* (1991)، اندازه گیری شد. به منظور جلوگیری از اختلال در استخراج پروتئین و انجام الکتروفورز، روغن باقیمانده در کنجاله، با استفاده از اتر به طور کامل حذف شد. برای استخراج پروتئین برای انجام الکتروفورز مقداری از کنجاله ها (دارای 1 میلی گرم نیتروژن) به درون لوله های اپندرف منتقل شد. مقدار 750 میکرولیتر بافر استخراج نمونه SDS-Page حاوی 0/625 مولار تریس – اسیدکلریدریک (pH=6/8)، 10 درصد سدیم دودوسیل سولفات، 2/5 درصد بتامرکاپتواتانول، 7 درصد گلیسرول و 4 میلی گرم بروموفنل بلو اضافه شد. پس از 30 دقیقه هم زدن روی هم زن مخصوص لوله اپندرف در دمای 4 درجه سانتیگراد، پروتئین نمونه ها استخراج و پس از قرار دادن در آب 95 درجه سانتیگراد به مدت 3 دقیقه و سانتریوفوژ با سرعت 10000 × g به مدت 1 دقیقه، مایع صاف شده فوقانی جدا شد. مایع فوقانی، که حاوی پروتئین دناتوره بود به لوله های اپندرف منتقل و تا زمان انجام الکتروفورز در دمای 20 - درجه سانتیگراد نگهداری شد.

الکتروفورز پروتئین ها با استفاده از تکنیک SDS-Page، به روش Laemmli (1970) انجام شد. مقدار 25 میکرولیتر از پروتئین استخراج شده

[2] -Acid detergent insoluble nitrogen (ADIN)
[2] - Neutral detergent insoluble nitrogen (NDIN)

www.SID.ir

Archive of SID

که تقریباً دارای 50 میکروگرم پروتئین بود، به چاهک های الکتروفورز با ژل بالایی حاوی 3/75 درصد آکریلامید-بیس آکریلامید و ژل پایینی حاوی 12 درصد آکریلامید-بیس آکریلامید منتقل شد. ابعاد ژل 140 × 110 × 1 میلی متر و زمان الکتروفورز 3 ساعت (تا رسیدن رنگ بروموفنل بلو به لبه پائینی ژل) و شدت جریان 30 میلی آمپر در دستگاه PROTEIN Π xi SLABGEL (شرکت BIO-RAD) بود. پس از بیرون آوردن ژل از شیشه های الکتروفورز با محلول دارای 0/0625 گرم رنگ کماسی بریلینت بلو، 7 درصد اسید استیک خالص و 20 درصد متانول به مدت 12 ساعت رنگ آمیزی و سپس با محلول حاوی 7 درصد اسید استیک خالص و 5 درصد متانول به مدت 12 ساعت رنگبری شد. از مارکر پروتئینی BIO-RAD برای تعیین وزن مولکولی زیرواحدهای کنجاله های مورد آزمایش استفاده شد. حرکت نسبی هر نشانگر پروتئینی در ژل محاسبه و در مقابل لگاریتم وزن مولکولی آن خط استاندارد رسم شد. با قرار دادن حرکت نسبی هر زیرواحد پروتئین کنجاله های کنجد، پنبه دانه و سویا، لگاریتم وزن مولکولی آن زیرواحد و با آنتی لگاریتم وزن مولکولی زیرواحد تعیین شد. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SAS (2000) و مقایسه میانگین ها در سطح آماری 0/05 انجام گرفت.

نتایج و بحث

بخش های مختلف نیتروژن دار کنجاله های کنجد، پنبه دانه و سویا

نتایج بخش های مختلف نیتروژن بر اساس روش CNCPS در کنجاله های کنجد، پنبه دانه و سویا در جدول 1 نشان داده شده است. مقدار نیتروژن غیرپروتئینی (بخشA) در کنجالههای کنجد، پنبه دانه و سویا به ترتیب 18/64، 15/45 و 5/59 درصد از پروتئین خام بود (جدول 1). بیشترین مقدار بخش A مربوط به کنجاله کنجد و کمترین آن مربوط به کنجاله سویا بود ($p<0/05$) که با مقادیر گزارش شده توسط MirzaiiAlamoti *et al.* (2005) و Ghoorchi and Arbabi (2010) همخوانی داشت، اما در مقایسه با نتایج Sniffen *et al.* (1992) و Chalupa and Sinffen (1996) متفاوت بود که احتمالا به دلیل روش مورد استفاده برای اندازه گیری نیتروژن غیرپروتئینی، روش برداشت و خشک کردن و انبار کردن مواد خوراکی و همچنین نوع رسوب دهندههای پروتئینی در آزمایشهای مختلف است.

مقادیر اندازه گیری شده پروتئین حقیقی محلول (بخشB_1) در کنجالههای کنجد، پنبه دانه و سویا به ترتیب 17/07، 17/64 و 17/21 درصد از پروتئین خام بود (جدول 1). اختلاف معنی دار بین میانگینهای کنجاله کنجد با کنجاله تخم پنبه وجود داشت. این بخش در کنجاله کنجد کمترین و در کنجاله پنبه دانه بیشترین بود ($p<0/05$). نتایج

www.SID.ir

Archive of SID

پژوهش حاضر با مقادیر گزارش شده توسط دیگر محققین (Ghoorchi & Arbabi, 2010; MirzaiiAlomati *et al.*, 2005) همخوانی داشت ولی با مقادیر Chalupa and Sinffen (1996) همخوانی نداشت. بخشی از اختلاف بین گزارش های مختلف احتمالا مربوط به استفاده از بافرهای مختلف می باشد (Krishnamoorthy *et al.*, 1982). همچنین بخش عمده ای از پروتئین کنجاله پنبه دانه را گلوبولین ها و آلبومین ها تشکیل می دهند که تحت تاثیر حرارت تغییر می کنند (Arieli, 1998). پروتئین با قابلیت هضم سریع در شکمبه (بخش B_2)، در حقیقت ترکیبات نیتروژن‌دار محلول در شوینده خنثی است که بخشی از آن در شکمبه تجزیه شده و بخشی نیز وارد روده می شود، عبور این بخش از شکمبه به نرخ نسبی هضم و عبور بستگی دارد. مقدار B_2 در کنجاله‌های کنجد، پنبه دانه و سویا به ترتیب 43/61، 39/29 و 63/43 درصد از پروتئین خام بود (جدول 1).

جدول 1- بخش های مختلف نیتروژن در کنجاله های کنجد، سویا و پنبه دانه بر اساس روش CNCPS (بر اساس درصد ماده خشک).

Table 1- Different nitrogen fractions in almond, soybean and cottonseed meals according to CNCPS method (DM basis).

ترکیب شیمیایی Chemical composition	نوع کنجاله Meal type			SEM
	کنجد Sesame	سویا Soybean	پنبه دانه Cottonseed	
پروتئین خام Crude protein	39.78[b]	28.1[c]	45.5[a]	0.42
بخش A (درصد از پروتئین خام) Fraction A (% of CP)	18.64[a]	15.45[b]	5.59[c]	0.46
بخش B1 (درصد از پروتئین خام) Fraction B_1 (% of CP)	17.07[b]	17.64[a]	17.21[ab]	0.34
بخش B_2 (درصد از پروتئین خام) Fraction B_2 (% of CP)	43.61[b]	39.29[c]	63.43[a]	0.55
بخش B_3 (درصد از پروتئین خام) Fraction B_3 (% of CP)	6.12[b]	3.06[c]	9.08[a]	0.29
بخش C (درصد از پروتئین خام) Fraction C (% of CP)	14.56[b]	24.56[a]	4.70[c]	0.21

حروف مختلف در هر ردیف نشان دهنده تفاوت بین میانگین ها می باشد ($p<0/05$). A: نیتروژن غیر پروتئینی، B1: پروتئین حقیقی سریع تجزیه در شکمبه، B2: پروتئین حقیقی متوسط تجزیه، B3: پروتئین حقیقی کند تجزیه، C: پروتئین غیر قابل دسترس.

www.SID.ir

Archive of SID

درواقع بیشترین بخش B_2 مربوط به کنجاله سویا و کمترین مربوط به کنجاله پنبه دانه بود ($p<0/05$). MirzaiiAlamoti *et al.* (2005) مقدار پروتئین با قابلیت هضم سریع در شکمبه را برای کنجالهٔ پنبه دانه 40 درصد و کنجالهٔ سویا 72/7 درصد و Ghoorchi & Arbabi (2010) برای کنجالهٔ تخم پنبه دانه 12/29 و کنجالهٔ سویا 4/09 درصد از پروتئین خام گزارش کردند. چون این بخش از راه اختلاف محاسبه شده، لذا تمامی اشتباه های ناشی از اندازه گیری در این بخش جمع شده که احتمالاً یکی از دلایل اختلاف مقادیر گزارش شده توسط پژوهشگران مختلف می باشد. حرارت دادن مواد خوراکی پروتئین های B_2 را تخریب کرده و آن ها را نامحلول می سازد که در این شرایط بخش های B_3 و C افزایش می یابد (Arieli, 1998).

پروتئین با قابلیت هضم پایین در شکمبه (بخش B_3) برای کنجاله‌های کنجد، پنبه دانه و سویا به ترتیب 6/12، 3/06 و 9/08 درصد از پروتئین خام بود (جدول 1). در پژوهش حاضر بیشترین میزان بخش B_3 برای کنجاله سویا برآورد شد که حدود 1/5 تا 3 برابر بیشتر از بخش B_3 در کنجاله های کنجد و پنبه دانه به ترتیب بود ($p<0/05$). در پژوهشی MirzaiiAlamoti *et al* (2005) مقدار پروتئین با قابلیت هضم کند در شکمبه را برای کنجالهٔ پنبه دانه 10 درصد و کنجالهٔ سویا 0/8 درصد و Shannak *et al.* (2000) برای کنجاله سویا 1 درصد از پروتئین خام را به صورت بخش B_3 گزارش کردند. بخش B_3 پروتئین در اکثر مواد خوراکی بویژه پروتئین های گیاهی بسیار کم می باشد. این پروتئین ها به دیوارهٔ سلولی متصل شده و در شویندهٔ خشی نامحلول می باشند.

بخش C پروتئین، که در سیستم CNCPS غیرقابل تجزیه در شکمبه فرض می شود در کنجاله-های کنجد، پنبه دانه و سویا به ترتیب 14/56، 24/56 و 4/70 درصد از پروتئین خام بود. بیشترین بخش C مربوط به پروتئین خام کنجاله پنبه دانه و کمترین آن مربوط به پروتئین خام کنجاله سویا بود ($p<0/05$). MirzaiiAlamoti *et al* (2005) مقدار بخش C پروتئین خام را برای کنجاله پنبه دانه 12/7 درصد و برای کنجاله سویا 5 درصد گزارش نمودند، در حالی که در مطالعه Ghoorchi & Arbabi (2010) برای کنجاله پنبه دانه 12/29 درصد و برای کنجاله سویا 4/11 درصد از پروتئین خام ارائه شده است. بخش C رابطه بسیار قوی با نیتروژن غیرقابل هضم شکمبه ای مواد خوراکی داشته و لذا درجه حرارت مناسب و کنترل شده طی فرآیندهای حرارتی از اهمیت بسیار زیادی برخوردار می باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

وزن مولکولی زیر واحدهای پروتئینی

نتایج حاصل از الکتروفورز SDS-Page زیر واحدهای پروتئینی کنجاله های کنجد، سویا و پنبه دانه در شکل 1 نشان داده شده است. پروتئین های کنجد شامل گلوبولین (60 تا 70 درصد)، آلبومین (15 تا 25 درصد)، پرولامین (1/4 درصد)، گلوتلین (6/9 درصد) و اولئوسین (1/5 درصد) است (Achouri et *al.*, 2012). بر اساس شکل 1 در پژوهش حاضر، 11S گلوبولین از یک پلی پپتید اصلی اسیدی با وزن مولکولی 85/98 کیلودالتون و دو پلی پپتید بازی با دامنه وزن مولکولی 17/04 تا 28/87 کیلودالتون تشکیل شده است. همچنین زیر واحد پروتئینی 2S آلبومین در کنجد شامل دو زیر واحد با دامنه وزن مولکولی 9/5 تا 10/51 کیلودالتون بود. آلبومین و گلوبولین دو پروتئین عمده در کنجاله پنبه دانه می باشند. در پژوهش حاضر الگوی زیرواحدهای پروتئینی در کنجاله پنبه دانه نشان دهنده 4 زنجیره پلی پپتیدی بوده که مربوط به پروتئین های گلوبولین 9S با دو زیر واحد به وزن مولکولی 78/36 کیلودالتون و 71/10 کیلودالتون، گلوبولین 5S با یک زیر واحد به وزن مولکولی 25/47 کیلودالتون و آلبومین 2S با یک زیر واحد به وزن مولکولی 15/84 کیلودالتون می باشد. نتایج این مطالعه با نتایج (Reday-Helmsy *et al.*, 1995) همخوانی دارد. دلیل وجود تفاوت بین وزن مولکولی زیر واحدهای کنجاله پنبه دانه در مطالعات مختلف، شرایط الکتروفورز نمونه ها، غلظت ژل و وزن مولکولی مارکر پروتئینی است (Ovchinnikova *et al.*, 1975; Dieckert *et al.*, 1981). بر اساس مطالعات انجام گرفته (Zarins & Cherry, 1981) زیر واحدهای 10 کیلودالتونی کنجاله پنبه دانه در آب محلول است. تفاوت در میزان آب گریزی، شکل فضایی، ساختمان دوم و سوم، توالی و نوع اسیدهای آمینه علت متفاوت بودن تجزیه پذیری پروتئین های کنجاله پنبه دانه می باشد. در مطالعه حاضر دو نوع پروتئین عمده در کنجاله سویا شامل گلیسینین و بتاکنگلیسینین مشاهده شد. گلیسینین دارای دو زیرواحد اسیدی (عمدتاً دارای اسیدهای آمینه اسیدی) و بازی (دارای اسیدهای آمینه بازی) به ترتیب با وزن مولکولی 40 و 21/30 کیلودالتون بود. پروتئین بتاکنگلیسینین دارای سه زیرواحد α، ά و β با وزن مولکولی به ترتیب 91/83، 80/49 و 47/16 بود. این پروتئین بسته به نوع واریته و شرایط تغذیه ای گیاه سویا، زیرواحدهای متفاوتی دارد. مجموع دو پروتئین عمده کنجاله سویا، بتاکنگلیسینین (31 درصد) و گلیسینین (38/8 درصد) تقریبا 69/8 درصد کل پروتئین کنجاله سویا را شامل می شود که با نتایج Koshiyama (1983) همخوانی دارد. تفاوت های موجود بین وزن مولکولی زیرواحدهای کنجاله سویای مطالعه حاضر با سایر مطالعات احتمالا به دلیل هتروژنسیتی گیاه سویا و خصوصیت ذاتی پروتئین های عمده این گیاه و همچنین شرایط الکتروفورز نمونه ها، غلظت ژل و

www.SID.ir

Archive of SID

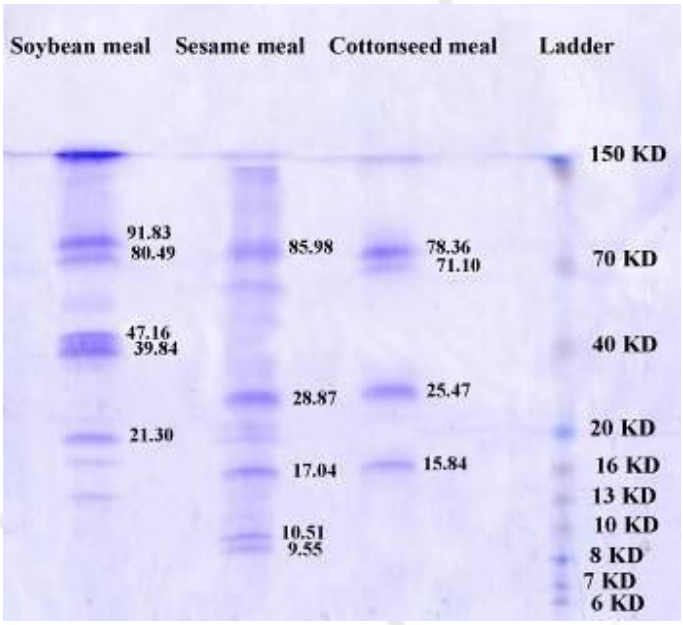
وزن مولکولی استاندارد (مارکر پروتئینی) می باشد (Hu & Esen, 1981). بر اساس مطالعات انجام گرفته، زیر واحد β پروتئین بتاکنگلیسینین به دلیل داشتن اسید آمینه لوسین در بخش N انتهایی خود دارای تجزیه پذیری کمتری نسبت به دو زیر واحد α و ά در شکمبه بوده و به این دلیل باکتری پریوتلا رومینوکولا توانایی تجزیه زیر واحد β پروتئین بتاکنگلیسینین در حضور اسید آمینه لوسین را ندارد. زیرواحد اسیدی و بازی گلیسینین نسبت به زیرواحدهای پروتئین بتاکنگلیسینین آهسته تر تجزیه می شود و قسمت عمده پروتئین عبوری کنجاله سویا را تشکیل می دهد (Wallace & McKain, 1991).

بر اساس نتایج برخی مطالعات (Barton *et al.*, 1982; Bradley *et al.*, 1975)، باکتری پریوتلا رومینوکولا، پروتئین های سویا با وزن مولکولی زیاد را نسبت به پروتئین های با وزن مولکولی کم سریعتر تجزیه می کند. آهسته تر تجزیه شدن گلیسینین به وسیله آنزیم های پروتئولیتیک میکروارگانیسم های شکمبه مربوط به باند دی سولفیدی آن است که سبب متصل شدن دو زیرواحد اسیدی و بازی می شود. پلی پپتید بازی گلیسینین نسبت به پلی پپتید اسیدی به تجزیه شدن مقاوم تر است. دلیل آن به آب گریزتر بودن پلی پپتید بازی نسبت به پلی پپتید اسیدی مربوط می شود. هرچه یک پلی پپتید آب گریزتر باشد، ساختار آن متراکم تر می شود و تجزیه شدن آن کاهش می یابد (Hu & Esen, 1981). از دلایل دیگر آهسته تر تجزیه شدن زیرواحد بازی، وجود اسیدهای انتهایی لیزین و آرژنین در قسمت N این پلی پپتید است. مشخص شده است که باکتری های پروتئولیتیک، به ویژه پریوتلا رومینوکولا دارای فعالیت سیستئین پروتئاز، دی پپتیدیل پپتیداز و گلی تامیل ترانسفراز می باشند و نمی توانند پپتیدهایی که در قسمت نیتروژن انتهایی، لیزین یا آرژنین دارند را تجزیه کنند. سایر آنزیم های پروتئولیتیک نیز چنین خصوصیتی را نشان می دهند (Wallace & McKain, 1991).

به طور کلی، بر اساس نتایج پژوهش حاضر کنجاله کنجد به عنوان یک محصول جانبی کشاورزی دارای ارزش تغذیه ای مناسب برای جایگزینی با کنجاله تخم پنبه در تغذیه دام و کاهش قیمت تولید محصولات پروتئینی در بخش دامپروری می باشد.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل 1- الگوی زیرواحدهای نشانگر پروتئینی، کنجاله های کنجد، پنبه دانه و سویا با روش الکتروفورز SDS-Page.

Figure 1. The pattern of protein subunits of Ladder, sesame, cottonseed and soybean meals with SDS- page electrophoresis.

منابع

Achouri A, Nail V, Boye, JI (2012). Sesame protein isolate: Fractionation, secondary structure and functional properties. Food Research International 46: 360–369

AOAC (2000). Official Methods of Analysis, 17th ed. Official Methods of Analysis of AOAC International, Gaithersburg, MD, USA. pp. 1000.

Arieli A (1998). Whole cottonseed in dairy cattle feeding: a review. Animal Feed Science and Technology 72: 97-110.

Barton KA, Thompson JF, Madison JT, Rosenthal R, Jarvis NP, Beachy RN (1982). The biosynthesis and processing of high molecular weight precursors of soybean glycinin sub-units. Journal of Biological Chemistry 257: 6089-6095.

Bradley RA, Atkinson D, Hauser HH, Oldani D, Green JP, Stubbs JM (1975). The structure, physical and chemical properties of the soybean protein glycinin. Biochimica et Biophysica Acta 412: 214-228.

Chalupa W, Sinffen CJ (1996). Protein and amino acid nutrition of lactating dairy cattle - today and tomarrow. Animal Feed Science and Technology 58: 65-75.

Dieckert JW, Wallace RW, Dieckert MC (1981). Chemistry and biology of the cottonseed globulines. Proceeding. Beltwide Cotton Production Research Conference p 351.

Ghoorchi T, Arbabi S (2010). Study of protein Characteristic of five feeds by CNCPS model. Asian journal of animal and veterinary advances 5: 584-591.

www.SID.ir

Archive of SID

Hu B, Esen A (1981). Heterogeneity of soybean seed proteins: One-dimensional electrophoretic profiles of six different solubility fractions. Journal of Agricultural Food Chemistry 29: 497-501.

Koshiyama I (1983). Storage proteins of soybean. In: Gottschak W, Muller HP (Eds.), Seed Proteins: Biochemistry, Genetics, and Nutritive Value. Junk W, The Hague, The Netherlands, p. 427-450.

Krishnamoorthy UC, Muscato TV, Sniffen CJ, Van Soet PJ (1982). Nitrogen fractions in selected feedstuffs. Journal of Dairy Scienc 65: 217-225.

Laemmli UK (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227: 680-685.

Licitra G, Hernandez TM, Van Soest PJ (1996). Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology 57: 347-358.

MirzaiiAlamoti HR, Amanloo H, Nikkhah A (2005). Protein and Carbohydrate Fractions of Common Feedstuffs in the Cornell Net Carbohydrate and Protein System. Iranian Journal of Agricultural Science 36: 409-414.

Ovchinnikova NK, Kuchenkova MA, Yuldashev PKH (1975). An investigation of the globulins of cottonseeds. Chemistery natural Compound 10:413.

Reday-Helmsy S, El-Shourbagy MN, Abo-Abasary AM (1995). Proteins of cottonseed. Extraction and Characterization by Electrophoresis. Qatar universal Science Journal 15:77-82.

SAS Institute Inc. (2000). SAS/STAT User's Guide: Version 8.1th edn. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.

Shannak S, SuÈdekum KH, Susenbeth A (2000). Estimating ruminal crude protein degradation with in situ and chemical fractionation procedures. Animal Feed Science and Technology 85: 195-214.

Sniffen CJJ, O'Connor D, Fox DG, Russell JB (1992). A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II.Carbohydrate and protein availability. Journal of Animal Science 70: 3562-3577.

Stern MD, Bach A, Calsamiglia S (1997). Alternative techniques for measuring nutrient digestion in ruminants. Journal of Animal Science 75: 2256-2276.

Tamminga S, Van Straalen W, Subnel AJP Meijer RGM, Steg A, Wever CJG, Blok MC (1994). The Dutch protein evaluation system: the DVE/OEB-system. Livestock Prodction Science 40: 139–155.

Van Soest PJ, Roberson JB, Lewis BA (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science 74, 3583–3597.

Wallace RJ, McKain N (1991). A survey of peptidase activity in rumen bacteria. Journal of General Microbiology 137:2259-2264.

Zarins ZM, Cherry JP (1981). Storage proteins of gladness cottonseed flour. Journal of Food Science 46: 1855-1859.

www.SID.ir

Archive of SID

مجله بیوتکنولوژی کشاورزی (دوره 5، شماره 1، بهار 1392)

Molecular and chemical analysis of the protein subunits and fractions of sesame meal in comparison to cottonseed meal and soybean meal using SDS-Page electrophoresis and CNCPS methods

Khezri A.[1]

1- Assistant Professor, Department of Animal Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

Abstract

In this research, two methods including SDS-Page electrophoresis and CNCPS were used to study the protein subunits and fractions of sesame meal in comparison to cottonseed meal and soybean meal. The results of protein fractions according to CNCPS showed a significant difference ($p<0.05$) among non-protein nitrogen (A), rapidly degradable true protein (B1), moderately degradable true protein (B2), slowly degradable true protein (B3) and undegradable true protein (C) fractions of sesame meal in comparison to cottonseed meal and soybean meal. In regards to SDS-Page electrophoresis results, protein of sesame meal were mainly composed of 11S globulins and 2S albumins. Protein 11S globulins contained one acidic polypeptide with estimated MWs of 85.96 kDa and two basic polypeptides with estimated MWs of 17.04 -28.87 kDa. Furthermore, protein 2S albumins of sesame meal contained two subunits with estimated MWs of 9.5 to 10.51 kDa. The pattern of protein subunits in cottonseed meal shows four major polypeptides including globulin 9S (with MWs of 78.36 and 71.10 kDa), globulin 5S (with MW of 25.47 kDa) and albumin 2S (with MW of 15.84 kDa). In this research, two major polypeptides including β-Conglycinin (three subunits, α, ά, β with MWs of 91.83, 80.49 and 47.16 respectively) and glycinin (two acidic and basic subunits with MWs of 40 and 21.30 kDa respectively) were observed in soybean meal. The results of the current study show that sesame meal has a good nutritive value and can be a good substitute for cottonseed meal in animal nutrition.

Key words: *Sesame meal, Protein subunits, SDS-Page electrophoresis, CNCPS.*

[1] Corresponding Author: Khezri A. Tel: 09133977126 Email: akhezri@mail.uk.ac.ir

www.SID.ir