Archive of SID

در
امور دام و آبزیان شماره ۷۸ بهار ۱۳۸۷
پژوهش و سازندگی

اثر عمل‌آوری میکروویو بر تجزیه‌پذیری 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 تجزیه‌پذیری پروتئین خام و تعیین نوع پروتئین عبوری کنجاله منداب عمل‌آوری نشده و عمل‌آوری 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 آکریلامید (SDS-PAGE) انجام شد. تفاوت معنی‌دار ($p<0/05$) بین فراسنجه‌های مختلف تجزیه‌پذیری و تجزیه‌پذیری مؤثر پروتئین خام کنجاله منداب عمل‌آوری نشده و عمل‌آوری شده مشاهده شد. تجزیه‌پذیری مؤثر پروتئین خام کنجاله منداب عمل‌آوری نشده در سرعت عبور ۵٪ در ساعت برابر ۶۵/۹٪ و برای کنجاله منداب عمل‌آوری 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 زیرواحد به وزن مولکولی ۸/۰ و ۹/۶ کیلودالتون و کروسیفرین با چهار زیرواحد 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 کنجالهٔ منداب بودند. زیر واحدهای ناپین کنجالهٔ منداب عمل‌آوری نشده طی ۲ ساعت و کنجالهٔ عمل‌آوری شده پس از ۱۲ ساعت انکوباسیون به طور کامل تجزیه شد. در کنجالهٔ عمل‌آوری شده با میکروویو به مدت ۲ و ۳ دقیقه، چهار زیرواحد پروتئین کروسیفرین پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در شکمبه تجزیه نشد. بین قابلیت هضم پروتئین خام کنجالهٔ منداب عمل‌آوری نشده و عمل‌آوری شده با میکروویو به مدت ۱، ۲ و ۳ دقیقه تفاوت معنی‌دار ($p<0/05$) وجود داشت. قابلیت هضم بعد شکمبه‌ای پروتئین خام کنجاله منداب ۷۲/۳ درصد و برای کنجاله منداب عمل‌آوری 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 عمل‌آوری کنجاله منداب با قدرت ۱۰۰۰ وات میکروویو به مدت ۳ دقیقه تجزیه‌پذیری پروتئین خام را در شکمبه کاهش و قابلیت هضم پروتئین خام را در روده افزایش می‌دهد.

کلمات کلیدی: کنجاله منداب، عمل‌آوری میکروویو، تجزیه‌پذیری پروتئین، الکتروفورز

www.SID.ir

Archive of SID

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 Shool, Nuclear Science and Technology Research Institute Karaj, Iran. A. Nikkhah 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 estinated 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

مقدمه

تجزیه‌پذیری پروتئین کنجاله منداب[1] 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 مکمل‌های پروتئینی در درجه ضعیف تا متوسط طبقه بندی می‌شود. روش‌های مختلفی برای کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین کنجاله منداب ارائه شده است(۱۰، ۱۱، ۱۳، ۱۷، ۱۹، ۲۰، ۲۲، ۲۴، ۲۸). یکی از روش‌های عمل‌آوری کنجاله‌ها که اخیراً مورد مطالعه قرار گرفته است استفاده از امواج کوتاه یا میکروویو می‌باشد (۲۳، ۲۴). میکروویو از جمله امواج الکترو مغناطیسی و یک عامل فیزیکی واسرشتی[2] پروتئین است. میکروویو با ایجاد چرخش و اصطکاک مولکول‌های دوقطبی و یون‌ها و افزایش برخورد مولکول‌ها به همدیگر تولید حرارت می‌کند و برخلاف روش‌های حرارت دادن معمولی که حرارت از سطح به درون موادخوراکی نفوذ می‌کند، حرارت به صورت یکسان در درون و سطح مواد خوراکی ایجاد می‌شود که از مهمترین مزایای عمل‌آوری با این روش است (۴). Sadeghi و Shawrang (۲۴) گزارش کردند که عمل‌آوری کنجاله منداب با میکروویو با قدرت ۸۰۰ وات به مدت ۲، ۴ و ۶ دقیقه سبب کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین خام به میزان ۲۵، ۳۳ و ۳۸ درصد نسبت به کنجاله عمل‌آوری نشده می‌شود.

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

مواد و روش‌ها

ترکیبات شیمیایی و نحوه عمل‌آوری 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. عمل‌آوری 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 کنجالهٔ

www.SID.ir

Archive of SID

منداب شـامل چربی خام، پروتئین خام و خاکسـتر به روشAOAC (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 هلشـتاین غیرشـیرده(با متوسط وزن زنده ۱۸ ± ۶۲۲ کیلوگرم) مجهز به فیسـتولای شکمبه و کانولای دوازدهه انجام شـد. حیوانات با جیره حاوی ۷۰ درصد علوفه (یونجه خشـک و ذرت سیلوشـده به نسـبت ۱:۱) و ۳۰ درصد کنسانتره (جو ۴۶٪، کنجاله منداب ۱۹٪، سـبوس گندم ۱۸/۵٪، ذرت ۱۵٪، دی کلسیم فسفات ۱/۱۵٪، نمک ۰/۲۵٪ و مکمـل مواد معدنی و ویتامینی ۰/۱٪) به مقدار ۱۳ کیلوگرم ماده خشـک در روز به صورت جیره کاملاً مخلـوط در دو نوبت صبح و عصر در سـاعات 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 نشـده یا عمل‌آوری شده با میکروویو(اندازه ذرات۲ میلی متر) به مدت صفر، ۲، ۴ ، ۸ ، ۱۲، ۱۶، ۲۴ و ۴۸ سـاعت در دو تکرار (دو کیسـه) برای هر زمان در شـکمبه هر گاو انکوباسیون شد. کیسه‌های مورد استفاده از جنس پلی استر[۴] و در ابعاد ۲۱ × ۹ سانتیمتر با قطر منافذ ۴۵ میکرومتر مطابق اسـتاندارد توصیه شده توسـط Hvelplund و Weisbjerg (۸) بود. پس از طی مدت انکوباسیون، کیسه‌های حاوی نمونه از شکمبه خارج و پس از شستشـو با آب سرد، خشک و سپس توزین شـد. تجزیه‌پذیری پروتئین خام کنجاله منداب عمل‌آوری نشـده یا عمل‌آوری شده در ساعات مختلف انکوباسیون شکمبه‌ای با توجه به اختلاف مقدار پروتئین خام نمونه‌ها قبل و بعد از انکوباسیون 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 شـد. به این منظور مقدار ۱ گرم باقیمانده نمونه کنجاله منداب عمل‌آوری نشده یا عمل‌آوری شده انکوباسیون شده در شکمبه به مدت ۱۶ سـاعت را در کیسه‌هایی (با همان مشـخصات روش کیسه‌های نایلونی) به ابعاد ۳×۴ ریخته و پس از انکوباسـیون در محلول اسید کلریدریک ۱ نرمال حاوی ۱ گرم در لیتر آنزیم پپسـین در دمای ۳۹ درجه سانتیگراد به مدت ۱۲ ساعت، تعداد ۱۲ کیسه حاوی نمونه انکوباسیون شده از طریق کانولای روده‌ای وارد دوازدهه ۳ رأس گاو شد. کیسه‌ها در مدت ۲۴ ساعت از طریق مدفوع گاوها بازیافت شـد. کیسه‌های جمع آوری شده با آب سرد شستشو و سـپس خشک و توزین شـد. قابلیت هضم بعد شـکمبه‌ای پروتئین خام کنجاله منداب عمل‌آوری نشده یا عمل‌آوری شده با توجه به اختلاف مقدار پروتئین خام نمونه‌ها قبل و بعد از انکوباسیون در روده محاسبه شد(۲۷).

الکتروفورز

الکتروفـورز پروتئین‌ها با اسـتفاده از تکنیـک SDS-PAGE به روش Laemmli (۱۲) انجام شـد. برای استخراج پروتئین جهت انجام الکتروفورز مقـداری از کنجاله منداب(اندازه ذرات ۰/۱ میلی متـر) که حاوی ۱ میلی گرم نیتروژن بود(تقریباً ۱۵ میلی گرم ماده خشک کنجاله منداب) به درون لوله‌های اپندرف منتقل شـد. ۷۵۰ میکرولیتر بافر استخراج[۵] SDS-PAGE حاوی ۰/۶۲۵ مولار تریس- اسیدکلریدریک[۶] (pH= ۶/۸)، ۱۰ درصد سدیم دودسـیل سـولفات[۷]، ۲/۵ درصد بتامرکاپتوانول[۸]، ۷ درصد گلیسرول و ۴ میلـی گـرم بروموفنل بلو[۹] اضافه شـد. پس از ۱۵ دقیقه هـم 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 شـده بالایی نمونه‌های انکوباسیون نشده و انکوباسـیون شده در شکمبه در ساعات مختلف به چاهک‌های الکتروفورز بـا 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 شیشـه‌های الکتروفورز با محلول حاوی ۰/۰۶۲۵ گرم رنگ کماسـی بریلینت بلو[۱۰]، ۷ درصد اسـید استیک گلیسـیال و ۲۰ درصد متانول به مدت ۱۲ سـاعت رنگ آمیزی و سپس با محلول حاوی ۷ درصد اسـید اسـتیک گلیسیال و ۵ درصد متانول به مدت ۱۲ سـاعت رنگبری شد. پس از چندبار شستشو با آب دوبار تقطیر در طول موج ۵۸۰ نانومتر دنسـیتومتر و با اسـکنر معمولی و دوربین تصویربرداری شد(۷).

تعیین وزن مولکولی زیرواحدها

از مارکر پروتئینی Fermentas با مشخصات پروتئینی بتاگالاکتوزیداز (۱۱۶ کیلودالتون)، آلبومین سـرم گاوی(۶۶/۲ کیلودالتون)، آلبومین(۴۵ کیلودالتـون)، لاکتـات دهیدروژنـاز (۳۵ کیلودالتـون)، آندونوکلئاز(۲۵ کیلودالتـون)، بتالاکتوگلوبولیـن(۱۸/۴ کیلودالتـون) و لیزوزیـم(۱۴/۴ کیلودالتـون) برای تعیین وزن مولکولی زیرواحدهای کنجاله مورد مطالعه اسـتفاده شد. حرکت نسبی هر پروتئین مارکر در ژل محاسبه و در مقابل لگاریتم وزن مولکولی آن خط اسـتاندارد رسم شـد. با قرار دادن حرکت نسـبی هر زیرواحد، لگاریتم وزن مولکولـی آن زیرواحد و با آنتی لگاریتم وزن مولکولی زیرواحد معین شـد (۷).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

با اسـتفاده از رابطه غیرخطی (رابطه ۱) Orskov و McDonald (۲۱) فراسـنجه‌های مختلـف تجزیه‌پذیـری و تجزیه‌پذیری مؤثـر پروتئین خام (رابطه ۲) محاسبه شد.

رابطـه ۱: $P= a + b (1 - e^{-ct})$

در ایـن رابطـه a بخش سـریع تجزیه، b بخـش کند تجزیـه، 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.

رابطه ۲ $ED = a + bc/(c+k)$

تجزیـه آماری داده‌های مربوط به فراسـنجه‌های مختلف تجزیه‌پذیری

www.SID.ir

Archive of SID

و تجزیه‌پذیری 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 شیمیائی کنجاله منداب

مقدار ماده خشک، پروتئین خام، عصاره اتری، خاکستر و ترکیبات دیواره سلولی کنجاله منداب بر اساس ماده خشک به ترتیب ۹۳/۰، 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 اقلیمی‌محل برداشت دانه روغنی و شرایط و نحوه روغن کشی آنها قرار دارد (۱۶).

تجزیه‌پذیری پروتئین خام کنجاله منداب عمل‌آوری نشده و عمل‌آوری شده

بنابر تجزیه واریانس داده‌های تجزیه‌پذیری، اثر حیوان بر فراسنجه‌های مختلف تجزیه‌پذیری و تجزیه‌پذیری مؤثر پروتئین خام کنجاله منداب معنی‌دار نبود($p<۰/۰۵$). تفاوت معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) بین میانگین فراسنجه‌های مختلف تجزیه‌پذیری و تجزیه‌پذیری مؤثر پروتئین خام کنجالهٔ منداب عمل‌آوری نشده و عمل‌آوری شده مشاهده شد (جدول ۱). تجزیه‌پذیری بالقوه(b+a) پروتئین کنجاله منداب عمل‌آوری نشده در این مطالعه ۹۵/۳٪ بود که بیانگر زیاد بودن تجزیه‌پذیری پروتئین خام کنجاله منداب در شکمبه است. تجزیه‌پذیری 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 ۷۷-۶۳ ٪ و بیشتر از مقادیر 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.

عمل‌آوری میکروویو سبب کاهش بخش سریع تجزیه(a)، افزایش بخش کند تجزیه (b)، کاهش ثابت نرخ تجزیه (c) و در نهایت کاهش تجزیه‌پذیری مؤثر در سرعت‌های عبور مختلف شد. در مطالعه Sadeghi و Shawrang (۲۴) عمل‌آوری با میکروویو اثرات مطلوبی بر کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین کنجاله منداب در شکمبه نشان داد. علت کاهش تجزیه‌پذیری 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 عمل‌آوری میکروویو با ایجاد تغییرات ساختمانی در پروتئین‌ها و افزایش آب گریزی سطح پروتئین به دلیل جدا شدن پیوندهای هیدروژنی و سایر پیوندهای ضعیف غیرکوالانسی و تغییر موقعیت اسیدهای آمینه و درنتیجه افزایش آب گریزی سطح مولکول پروتئین سبب تشکیل ژل پروتئینی می‌شود(۵) که به کاهش دردسترس بودن گروه‌های فعال شیمیایی مولکول‌های پروتئین و کاهش محلولیت و در نتیجه کاهش تجزیه‌پذیری مؤثر پروتئین در شکمبه منجر می‌شود.

براساس گزارش صادقی و شورنگ (۲۴) عمل‌آوری میکروویو کنجاله منداب با قدرت ۸۰۰ وات به مدت ۲، ۴ و ۶ دقیقه، تجزیه‌پذیری مؤثر پروتئین در سرعت عبور ۵ ٪ در ساعت را در شکمبه گاو نر اخته از ۶۸/۳٪ در کنجاله عمل‌آوری 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 S۱۲) با چهار زیرواحد و ناپین (آلبومین S۲) با دو زیرواحد و سه زنجیره پلی پپتیدی با وزن مولکولی بیشتر از کروسیفرین،

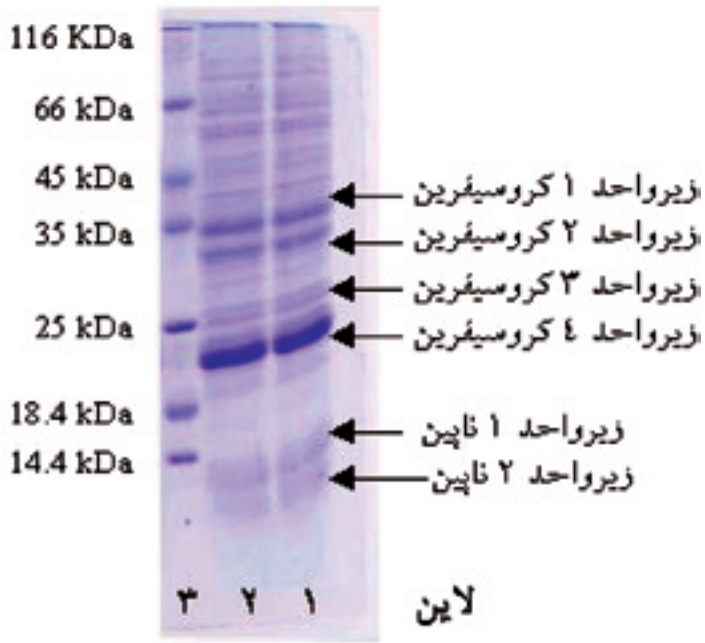
جدول۱- فراسنجه‌های مختلف تجزیه‌پذیری پروتئین خام کنجاله منداب عمل‌آوری نشده و عمل‌آوری شده با میکروویو

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

حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل۱- 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 کروسیفرین 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 Bhatty و همکاران (۳) نزدیک است. نتایج دنسیتومتری(شکل۳) نشان داد که آلبومین (ناپین) و گلوبولین(کروسیفرین) به ترتیب ۲۴ و ۵۱ ٪ کل پروتئین‌های کنجاله منداب را تشکیل می‌دهند. Mahajan و Dua (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 واریته منداب مربوط می‌شود. واریته منداب مطالعه Dua, Mahajan (۱۵)*B. napus* بود، در حالی که واریته 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 شکل۲ نشان داده شده است. در زمان صفر بخش عمده آلبومین (ناپین) کنجاله منداب ناپدید شد و چهار زیر واحد کروسیفرین (گلوبولین) و سه زنجیره پلی پپتیدی با وزن مولکولی بیشتر از کروسیفرین وجود داشت. این سه زنجیره پلی پپتیدی تا زمان ۴ انکوباسیون وجود داشت و در زمان‌های بعدی ناپدید شدند. زیرواحدهای ۱ و ۲ کروسیفرین نیز تا زمان ۱۲ انکوباسیون وجود داشت و در زمان ۲۴ و ۴۸ انکوباسیون زیرواحد ۲ به طور کامل ناپدید شد. در حالی که زیر واحد ۳ کروسیفرین تا زمان ۴۸ انکوباسیون وجود داشت و به طور کامل تجزیه نشد. زیر واحد ۴ کروسیفرین 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 کنجالهٔ 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 کروسیفرین تا زمان ۴۸ انکوباسیون شد. عمل‌آوری با میکروویو همچنین سبب پایداری زنجیره‌های پلی پپتیدی تا زمان ۱۲ انکوباسیون شد. زیرواحدهای پروتئین کروسیفرین 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.

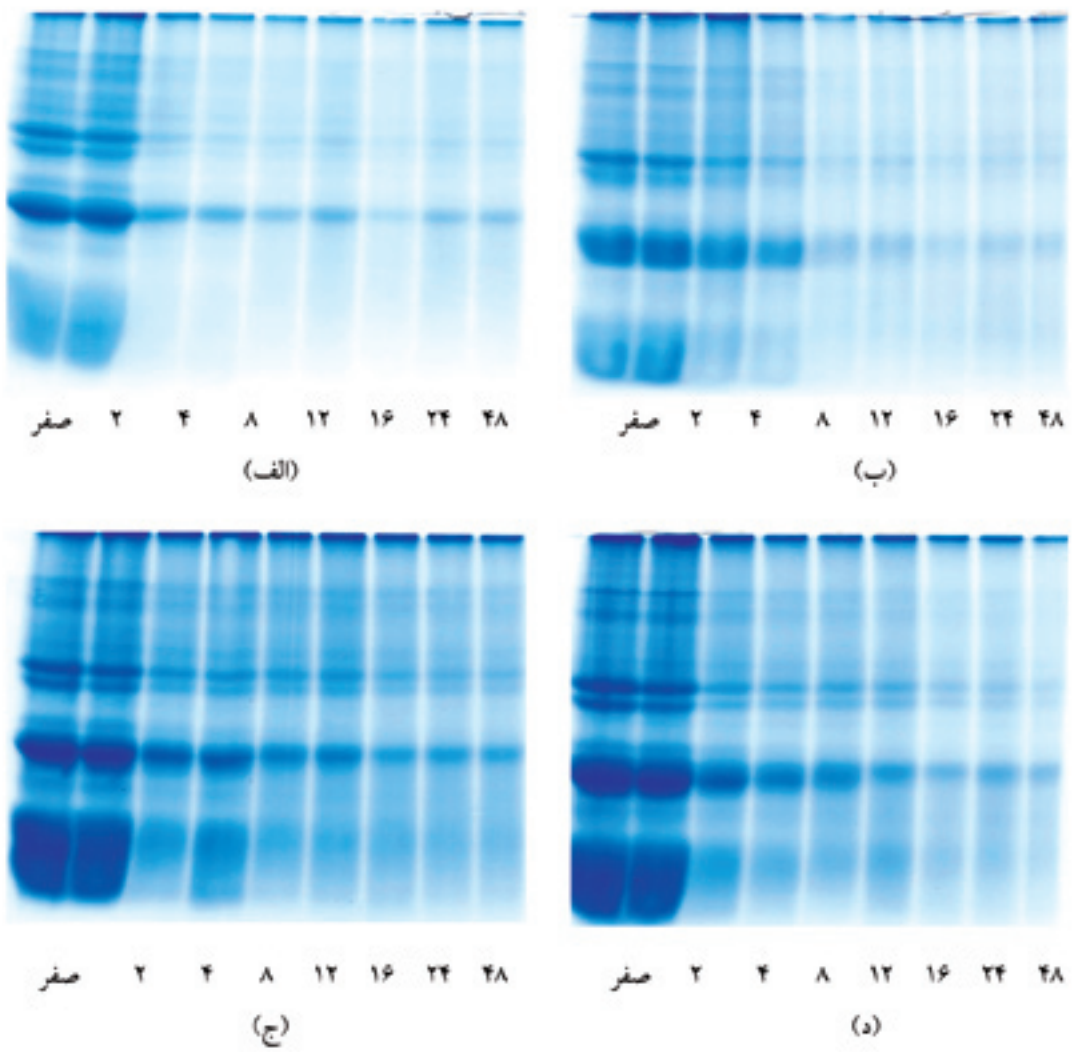
Sadeghi و Shawrang (۲۴) گزارش کردند که کنجاله منداب عمل‌آوری شده با میکروویو با قدرت ۸۰۰ وات به مدت ۲، ۴ و ۶ دقیقه در زمان صفر انکوباسیون پروتئین ناپین داشت و به ترتیب تا زمان ۸، ۸ و ۲۴ انکوباسیون تجزیه نشد. این عمل‌آوری‌ها همچنین سبب محافظت پروتئین کروسیفرین تا زمان ۴۸ انکوباسیون شد. نتایج این پژوهش 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٪ از پروتئین کنجاله منداب عمل‌آوری نشده و عمل‌آوری شده با قدرت ۱۰۰۰ وات میکروویو به مدت ۳ دقیقه که عمدتاً زیرواحدهای کروسیفرین است، از شکمبه می‌تواند عبور کند و در تأمین پروتئین قابل متابولیسم سهیم باشد.

قابلیت هضم بعدشکمبه‌ای

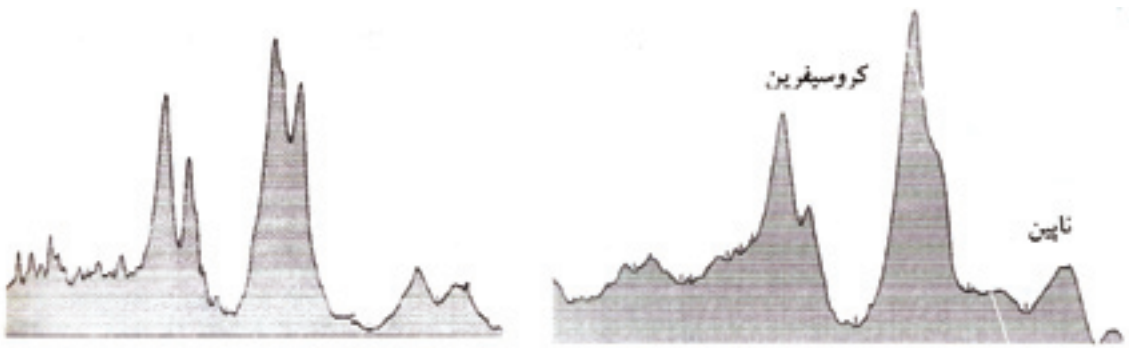
تجزیه واریانس نشان داد که اثر حیوان بر قابلیت هضم بعد شکمبه‌ای پروتئین خام کنجاله منداب معنی‌دار نیست ($p>0/05$). تفاوت معنی‌دار ($p<0/05$) بین قابلیت هضم بعدشکمبه‌ای پروتئین عبوری کنجاله منداب عمل‌آوری نشده و عمل‌آوری شده با میکروویو مشاهده شد. قابلیت هضم بعد شکمبه‌ای پروتئین خام کنجاله منداب ۷۲/۳ درصد 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 واریته

www.SID.ir

Archive of SID



شکل۲- الکتروفورز ژل پلی آکریلامید کنجاله منداب عمل‌آوری نشده(الف) و عمل‌آوری شده
با قدرت ۱۰۰۰وات میکروویو به مدت ۱، ۲ و ۳ دقیقه (به ترتیب ب،ج و د) انکوباسیون شده در شکمبه گاو(زمان انکوباسیون به ساعت).



شکل۳- دنسیتومتر ژل پلی آکریلامید در طول موج ۵۸۰ نانومتر در ساعات مختلف انکوباسیون.

www.SID.ir

Archive of SID

منداب و ترکیب پروتئین آن، محتوی عوامل ضدمغذی و شـرایط آزمایش علت تفاوت نتایج قابلیت هضم است.

Sadeghi و Shawrang (۲۴) گـزارش کردنـد که عمـل‌آوری کنجاله منـداب با میکروویو با قدرت ۸۰۰ وات به مدت ۲ و ۴ دقیقه قابلیت هضم پروتئین خام را در شـرایط درون شیشه ای (*in vitro*) افزایش و عمل‌آوری کنجاله منداب با میکروویو با قدرت ۸۰۰ وات به مدت ۶ دقیقه قابلیت هضم پروتئین خام را کاهش می‌دهد.

نتیجه کلی

نتایج پژوهش حاضر نشـان داد که تجزیه‌پذیری پروتئین خام کنجاله منداب در سـطح بالائی است و اسـتفاده از میکروویو راهبرد مناسبی برای افزایش بازدهـی مورد اسـتفاده قرارگرفتن پروتئین خام آن اسـت. نتایج تجزیه‌پذیری موثر، الکتروفورز، دنسیتومتری و قابلیت هضم کنجاله منداب عمل‌آوری نشده و عمل‌آوری شده نشان داد که عمل‌آوری میکروویو کنجاله منداب (با ۲۵ درصد رطوبت) با قدرت ۱۰۰۰ وات به مدت ۳ دقیقه سـبب عبوری شـدن پروتئین خام می‌شـود. همچنین نتایج تعیین قابلیت هضم بعدشـکمبه‌ای نشان داد که این عمل‌آوری اثر سـوئی بر قابلیت هضم بعد شـکمبه‌ای پروتئین عبوری از شـکمبه به روده ندارد. عمل‌آوری میکروویو به دلیل سـریع و کـم هزینه بودن روش مفیدی بـرای تغییر تجزیه‌پذیری پروتئین کنجاله دانه‌های 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 آزمایشگاه‌های 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 می‌شود.

پاورقی‌ها

۱ - واریته منداب مورد استفاده از نوع اصلاح شده است و با منداب بومی‌که حاوی مقادیر زیاد گلوکوسینولیت است فرق دارد.

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

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-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- Bhatty, 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 byproduct type and composition. Food Research International, 26, 89 –95.

5- Folawiyo Y. L. and R. K. O., Apenten. 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

www.SID.ir

Archive of SID

rapeseed proteins and ionizable groups. J. Agri. Food. Chem. 42: 1411-1414.

16- McDonald, P., R.A. Ewards, 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- Prestlœkken, 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.

www.SID.ir