



## تولیدات دامی

دوره ۱۷ ■ شماره ۱ ■ بهار و تابستان ۱۳۹۴

صفحه‌های ۹۳-۸۳

# ناپدید شدن شکمبه‌ای پروتئین و اسیدهای آمینه کنجاله کانولای عمل‌آوری نشده و عمل‌آوری شده با پرتوهای گاما و الکترون

فرزاد قنبری<sup>۱\*</sup>، تقی قورچی<sup>۲</sup>، پروین شورنگ<sup>۳</sup>، هرمز منصوری<sup>۴</sup>، نورمحمد تربتی‌نژاد<sup>۲</sup>

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

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۱۱/۱۱

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۳/۰۴/۰۴

### چکیده

این پژوهش به منظور بررسی تأثیر دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ کیلوگری پرتوهای یون‌ساز گاما و الکترون، بر ناپدید شدن شکمبه‌ای اسیدهای آمینه و زیرواحدهای پروتئین کنجاله 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 ناپدید شدن شکمبه‌ای زیرواحدهای پروتئین کنجاله کانولا، با تکنیک الکتروفورز ژل پلی‌آکریلامید در حضور سدیم دودسیل سولفات تعیین شد. پرتوتابی موجب کاهش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای اسیدهای آمینه شد ( $P < 0/05$ ). به جز در زمینه اسیدهای آمینه سرین، تیروزین، و گلوتامات، تأثیر پرتو گاما در کاهش تجزیه‌پذیری اسیدهای آمینه بیشتر از پرتو الکترون بود. تجزیه الکتروفورزی وجود پروتئین کروسیفرین با چهار زیرواحد را در کنجاله کانولا نشان داد. در کنجاله 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 به ترتیب تا زمان ۱۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت شدند. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که عمل‌آوری با پرتوهای یون‌ساز گاما و الکترون باعث کاهش تجزیه شکمبه‌ای زیرواحدهای پروتئین کروسیفرین و اسیدهای آمینه کنجاله کانولا می‌شود. توانایی پرتو گاما در کاهش تجزیه شکمبه‌ای پروتئین‌های کنجاله کانولا بیشتر از پرتو الکترون است.

**کلیدواژه‌ها:** الکتروفورز، پرتوهای یون‌ساز، تجزیه‌پذیری، کروسیفرین، کنجاله کانولا.

## مقدمه

کنجاله‌های دانه‌های روغنی از منابع ارزشمند پروتئینی در تغذیه‌ی نشخوارکنندگان هستند، اما بخش اعظمی از محتوای پروتئین آن‌ها، در شکمبه تجزیه می‌شود. تجزیه‌ی گسترده‌ی پروتئین‌های مفید به وسیله‌ی میکروارگانیسم‌های شکمبه، باعث ازدست رفتن نیتروژن به صورت اوره در ادرار می‌شود (۱۹، ۳۱). در طی چند دهه‌ی 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 فراورده‌ی نهایی تأثیر نامطلوب دارند (۳۴). پرتوتابی یکی از فرایندهایی است که به تازگی به آن توجه شده و روشی ایمن و اطمینان بخش برای بهبود ارزش تغذیه‌ای مواد خوراکی شناخته شده است (۱۳). پرتوتابی مواد خوراکی مستلزم استفاده‌ی 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). کنجاله‌ی کانولا به‌عنوان منبع پروتئینی ارزشمند، به‌طور گسترده‌ای در جیره‌ی نشخوارکنندگان استفاده می‌شود (۳۸). توازن اسیدهای آمینه در کنجاله‌ی 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 تجزیه‌ی گسترده‌ی پروتئین کنجاله‌ی کانولا در شکمبه، این کنجاله از نظر اسیدهای آمینه قابل متابولیسم فقیر است. (۱۷). درخصوص تأثیر پرتوهای یون‌ساز بر تجزیه‌پذیری

اسیدهای آمینه کنجاله‌ی کانولا گزارشی در منابع علمی یافت نشد.

و ن‌سوست بهترین ملاک ارزشیابی پروتئین مواد خوراکی در تغذیه‌ی نشخوارکنندگان را اندازه‌گیری کردن مقدار تجزیه‌پذیری پروتئین حقیقی شکمبه می‌داند (۳۳). تکنیک الکتروفورز ژل پلی‌آکرلامید و دنسیومتری، امکان مطالعه‌ی نوع پروتئین موجود در مواد خوراکی، تعداد زیرواحدهای هر پروتئین، و وزن مولکولی زیرواحدها را فراهم می‌کند. این تکنیک توانایی تعیین و جداسازی پروتئین‌های نمونه‌ی 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 کنجاله‌ی کانولا، وجود پروتئین کروسفرین با چهار زیرواحد را در آن مشخص کرده است (۳۴). دوزهای ۵۰ و ۷۵ کیلوگری اشعه‌ی گاما، سبب حفظ زیرواحدهای این پروتئین تا زمان ۴۸ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای می‌شوند. زیرواحدهای کروسفرین کنجاله‌ی کانولای پرتوتابی شده با دوزهای ۱۵ و ۳۰ کیلوگری پرتو الکترون، در مقایسه با نمونه‌های پرتوتابی نشده، به تجزیه‌ی شکمبه‌ای مقاوم‌تر بودند (۳۵). درخصوص تأثیر پرتوهای یون‌ساز بر تجزیه‌پذیری اسیدهای آمینه کنجاله‌ی کانولا گزارشی منتشر نشده است. هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تأثیر و مقایسه‌ی پرتوهای یون‌ساز گاما و الکترون بر ناپدیدشدن شکمبه‌ای پروتئین و اسیدهای آمینه کنجاله‌ی کانولا بود.

## مواد و روش‌ها

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

## تولیدات دامی

و ۴۸ ساعت به‌منظور انکوباسیون شکمبه‌ای کیسه‌های نایلونی حاوی نمونه‌ها در نظر گرفته شدند. پس از پایان یافتن هر زمان انکوباسیون، کیسه‌های حاوی مواد باقی‌مانده از طریق فستولا از شکمبه خارج شدند و به مدت ۳۰ دقیقه در ماشین لباسشویی با آب سرد شسته شدند. پس از شست و شو، کیسه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون ۶۵ درجه خشک شدند.

تجزیه‌پذیری اسیدهای آمینه در زمان ۱۶ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای و با تعیین مقدار اسیدهای آمینه موجود در نمونه اولیه و نمونه باقی‌مانده محاسبه شد (۲۶). اندازه‌گیری مقدار اسیدهای آمینه در آزمایشگاه گروه تولیدات دامی پژوهشکده 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 رویه GLM تجزیه و میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن مقایسه شدند.

الکتروفورز پروتئین نمونه‌های کنگاله کانولای عمل‌آوری‌نشده و عمل‌آوری‌شده با پرتوهای گاما و الکترون، با تکنیک الکتروفورز ژل پلی‌آکرلامید صورت گرفت (۲۲). در این پژوهش، از دستگاه الکتروفورز عمودی، ساخت شرکت پایاپژوهش استفاده شد. به‌منظور استخراج پروتئین برای انجام الکتروفورز، مقداری از کنگاله (اندازه ذرات ۰/۱ میلی‌متر و تقریباً ۱۵ میلی‌گرم ماده خشک کنگاله) به درون لوله‌های اپندرف منتقل شد. سپس ۷۵۰ میکرولیتر بافر استخراج نمونه حاوی ۰/۶۲۵ مولار تریس-اسیدکلریدریک (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 لوله اپندرف در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، پروتئین نمونه‌ها استخراج شد. سپس

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 چشمه پرتوزای گاما استفاده می‌شود. کیفیت پرتوتابی با به‌کارگیری سیستم دوزی متر شیمیایی مرجع فریک، براساس استاندارد ASTM E1026-95 کنترل شد (۴). پرتوتابی الکترونی کنگاله کانولا در مرکز پرتوفرآیند پژوهشکده کاربرد پرتوهای سازمان انرژی اتمی انجام گرفت. بدین‌منظور از شتاب دهنده الکترونی رودترون (مدل TT-2200، شرکت JBA، بلژیک) استفاده شد. نمونه‌های کنگاله با پرتو الکترونی ۱۰ مگا الکترون‌ولت و جریان باریکه 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 پلی‌استرین (دوزی‌متر مرجع) صورت گرفت.

آزمایش تجزیه‌پذیری با تکنیک کیسه‌های نایلونی انجام گرفت (۲۸). به‌این‌منظور، از سه رأس گاو نر تالشی (۱۰±۳۵۰ کیلوگرم) مجهز به فستولای شکمبه‌ای استفاده شد. دام‌ها در سطح نگهداری و با جیره براساس نسبت ۶۰ درصد علوفه و ۴۰ درصد کنسانتره تغذیه شدند. اجزای جیره شامل یونجه، کاه گندم، دانه ذرت، دانه جو، کنگاله سویا، کربنات کلسیم، و مکمل ویتامینی-معدنی به‌ترتیب به‌میزان ۵۴، ۵۴۳، ۴۳، ۳۰۱، ۵۲، ۲ و ۵ گرم در کیلوگرم ماده خشک بودند. خوراک به‌صورت روزانه و در دو وعده مساوی در اختیار دام‌ها قرار گرفت. نمونه‌های کنگاله 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 ۱۰×۲۱ سانتی‌متر، قطر منافذ ۴۵ میکرومتر) قرار داده شد. زمان‌های صفر، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۲۴،

## تولیدات دامی

تأثیر پرتو گاما در کاهش تجزیه 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 آمینه کنجاله کانولا گزارشی در منابع علمی یافت نشد. در گزارش منتشرشده‌ای از نگارندگان این مقاله، مشاهده شد که پرتوهای یون‌ساز، تجزیه بخش‌های پروتئین کنجاله کلزا با نرخ تجزیه سریع و ثابت را کاهش و تجزیه بخش پروتئینی با نرخ تجزیه کم را افزایش می‌دهند. همچنین تجزیه‌پذیری مؤثر پروتئین خام در سرعت‌های عبور شکمبه‌ای ۲، ۵ و ۸ درصد در ساعت نیز به وسیله عمل‌آوری پرتوتابی کاهش یافت. در پژوهشی مشاهده شد که دوزهای ۳۰ و ۴۵ کیلوگری پرتو الکترون تجزیه‌پذیری مؤثر پروتئین خام کنجاله کانولا را به ترتیب به میزان ۸/۲ و ۲۱ درصد در مقایسه با شاهد کاهش دادند (۳۵).

پرتو یون‌ساز همانند حرارت، از عوامل فیزیکی واسرشت‌کننده 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). بدین ترتیب 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 حل شدن پروتئین از طریق پیوند عرضی بین زنجیره‌ها و انباشتگی پروتئین می‌انجامد (۱۵، ۲۴). پرتوتابی که باعث به هم چسبیدن پروتئین‌ها می‌شود، محلولیت پروتئین را کاهش می‌دهد. (۲۳).

نمونه‌ها به مدت سه دقیقه در آب ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و در ادامه به مدت یک دقیقه سانتریفیوژ (۱۰۰۰۰ دور در دقیقه) شدند. سپس مایع بالایی به لوله‌های اپندرف منتقل و تا زمان انجام الکتروفورز در دمای ۲۰- درجه 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  $110 \times 140 \times 1$  میلی‌متر، زمان الکتروفورز سه ساعت، و شدت جریان ۳۰ میلی‌آمپر بود. پس از انجام الکتروفورز، ژل‌ها از شیشه 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 فرمتاز حاوی ۱۱۶ کیلودالتون بتاگالاکتوزیداز، ۶۶/۲ کیلودالتون آلبومین سرم گاوی، ۴۵ کیلودالتون آلبومین، ۳۵ کیلودالتون لاکتات دهیدروژناز، ۲۵ کیلودالتون آندونوکلئاز، ۱۸/۴ کیلودالتون بتالاکتوگلوبولین، و ۱۴/۴ کیلودالتون لیزوزیم و با نرم‌افزار آنالیزکننده ژل تعیین شد.

## نتایج و بحث

میزان تجزیه‌پذیری اسیدهای آمینه کنجاله کانولای عمل‌آوری‌نشده و عمل‌آوری‌شده با پرتوهای گاما و الکترون بعد از ۱۶ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای در جدول ۱ آمده است. در کنجاله کانولای عمل‌آوری‌نشده، تجزیه‌پذیری اسیدهای آمینه در دامنه بین ۴۱/۰۶ (تیروزین) و ۶۲/۲۱ درصد (گلوتامات) قرار داشت. پرتوتابی باعث کاهش تجزیه شکمبه‌ای اسیدهای آمینه شد ( $P < 0/05$ ).

## تولیدات دامی

نایدیدشدن شکمبه‌های پروتئین و اسیدهای آمینه کنگاله کانولای عمل‌آوری‌نشده و عمل‌آوری‌شده با پرتوهای گاما و الکترون

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

تایش الکترون	مقایسات گروهی		SEM		پرتو تابشی نشده در تابش الکترون		پرتو تابشی شده با تابش الکترون		تایش الکترون
	تایش الکترون	در برابر اشعه گاما	پرتو تابشی نشده در تابش الکترون	پرتو تابشی شده در تابش الکترون	پرتو تابشی نشده با تابش الکترون	پرتو تابشی شده با تابش الکترون	پرتو تابشی شده با اشعه گاما		
۰/۰۰۱۸	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۱/۰۳۰	۳۹/۴۹ <sup>d</sup>	۵۰/۲۵ <sup>c</sup>	۵۴/۸۹ <sup>b</sup>	۳۴/۸۷ <sup>c</sup>	۴۷/۸۹ <sup>c</sup>	۶۱/۳۳ <sup>a</sup>
۰/۰۰۰۲	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۲۳	۱/۰۹۱	۳۴/۹۸ <sup>cd</sup>	۳۸/۰۹ <sup>bc</sup>	۴۳/۸۲ <sup>a</sup>	۳۱/۳۲ <sup>d</sup>	۳۳/۸۹ <sup>d</sup>	۴۵/۶۱ <sup>a</sup>
۰/۰۰۳۱۸	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۲	۱/۶۳۲	۳۵/۹۴ <sup>de</sup>	۴۲/۵۶ <sup>bc</sup>	۴۶/۵۰ <sup>b</sup>	۳۱/۰۷ <sup>e</sup>	۳۹/۴۸ <sup>cd</sup>	۵۴/۸۸ <sup>a</sup>
۰/۰۰۵۴۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۸۷۴	۳۵/۸۵ <sup>e</sup>	۴۰/۹۴ <sup>cd</sup>	۴۴/۸۹ <sup>b</sup>	۳۵/۱۴ <sup>e</sup>	۳۹/۱۲ <sup>d</sup>	۵۱/۸۸ <sup>a</sup>
۰/۰۰۴۴۷	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۱/۳۸۳	۳۷/۰۷ <sup>e</sup>	۴۸/۲۰ <sup>b</sup>	۴۹/۲۹ <sup>b</sup>	۳۲/۳۲ <sup>d</sup>	۴۵/۰۵ <sup>c</sup>	۵۸/۳۸ <sup>a</sup>
۰/۰۰۴۷۷	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۱/۳۳۹	۳۰/۸۵ <sup>d</sup>	۳۸/۳۶ <sup>c</sup>	۴۶/۱۱ <sup>ab</sup>	۲۸/۵۷ <sup>d</sup>	۳۶/۱۱ <sup>c</sup>	۴۹/۶۶ <sup>a</sup>
۰/۰۰۴۷۷	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۱/۳۲۰	۲۶/۴۵ <sup>de</sup>	۳۰/۹۳ <sup>bcd</sup>	۳۵/۲۱ <sup>b</sup>	۲۶/۸۹ <sup>e</sup>	۲۹/۰۷ <sup>cd</sup>	۴۲/۹۹ <sup>a</sup>
۰/۰۰۲۷۵	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۱/۱۶۵	۲۰/۹۳ <sup>e</sup>	۳۱/۰۸ <sup>c</sup>	۳۵/۲۱ <sup>b</sup>	۱۸/۲۲ <sup>e</sup>	۲۶/۹۹ <sup>d</sup>	۴۲/۰۳ <sup>a</sup>
۰/۰۰۱۰۳	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۱/۱۷۰	۳۲/۸۹ <sup>d</sup>	۴۰/۹۴ <sup>bc</sup>	۴۴/۳۳ <sup>b</sup>	۲۷/۸۹ <sup>e</sup>	۳۹/۴۷ <sup>c</sup>	۵۲/۸۳ <sup>a</sup>
۰/۰۰۰۹	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۹۴۳	۴۱/۶۳ <sup>e</sup>	۴۹/۷۵ <sup>d</sup>	۵۴/۳۰ <sup>b</sup>	۳۵/۵۱ <sup>f</sup>	۴۷/۳۸ <sup>d</sup>	۶۰/۴۳ <sup>a</sup>
۰/۰۰۰۲۷	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۱/۱۷۰	۲۹/۸۱ <sup>e</sup>	۳۷/۸۱ <sup>c</sup>	۴۲/۸۸ <sup>b</sup>	۳۴/۲۰ <sup>f</sup>	۳۳/۸۵ <sup>d</sup>	۴۸/۶۸ <sup>a</sup>
۰/۰۰۱۰۳	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۱/۱۲۷	۲۹/۱۸ <sup>d</sup>	۳۸/۰۹ <sup>bc</sup>	۴۲/۲۳ <sup>b</sup>	۳۲/۸۷ <sup>e</sup>	۳۵/۶۸ <sup>c</sup>	۴۹/۱۹ <sup>a</sup>
۰/۰۰۴۹۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۲	۱/۳۶۳	۲۷/۸۶ <sup>d</sup>	۳۶/۳۰ <sup>c</sup>	۴۲/۲۰ <sup>ab</sup>	۳۲/۴۴ <sup>d</sup>	۳۳/۸۵ <sup>c</sup>	۴۷/۴۳ <sup>a</sup>
۰/۰۰۸۴۰	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۳	۱/۶۱۵	۲۵/۷۳ <sup>e</sup>	۳۵/۱۷ <sup>b</sup>	۳۶/۹۳ <sup>b</sup>	۲۱/۲۰ <sup>e</sup>	۳۲/۳۱ <sup>b</sup>	۴۴/۷۳ <sup>a</sup>
۰/۰۲۱۷۷	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۷	۱/۶۲۰	۲۵/۰۴ <sup>e</sup>	۳۱/۵۰ <sup>b</sup>	۳۴/۲۳ <sup>b</sup>	۲۰/۴۳ <sup>e</sup>	۳۰/۴۹ <sup>b</sup>	۴۱/۰۶ <sup>a</sup>
۰/۰۰۶۷	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۱۱	۱/۹۰۷	۴۶/۴۹ <sup>e</sup>	۵۶/۴۳ <sup>b</sup>	۶۰/۶۰ <sup>ab</sup>	۳۹/۲۵ <sup>d</sup>	۵۵/۷۷ <sup>b</sup>	۶۶/۲۱ <sup>a</sup>

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

تولیدات دامی

دوره ۱۷ ■ شماره ۱ ■ بهار و تابستان ۱۳۹۴

جدول ۲. وزن مولکولی زیرواحدهای پروتئین کروسیفیرین کنجاله 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

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 کروسیفیرین 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 اشعه گاما باعث حفظ زیرواحدهای پروتئین کروسیفیرین به ترتیب تا زمان ۱۶، ۲۴، و ۴۸ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای شدند (جدول ۵).

زیرواحدهای پروتئین کروسیفیرین کنجاله کانولای عمل‌آوری شده با پرتو الکترون و اشعه گاما، زمان بیشتری از تجزیه شکمبه‌ای در امان ماندند. پرتوهای گاما و الکترون در دوزهای ۲۵ و ۵۰ کیلوگری، تأثیر یکسانی در به تأخیر انداختن تجزیه پروتئین کروسیفیرین داشتند، اما در دوز ۷۵ کیلوگری، تأثیر اشعه گاما بیشتر از پرتو الکترون بود. به گونه‌ای که در این دوز، زیرواحدهای پروتئین کروسیفیرین در تیمارهای اشعه گاما و پرتو الکترون به ترتیب پس از ۴۸ و ۲۴ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای تجزیه شدند.

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

تجزیه الکتروفورزی کنجاله کانولا وجود پروتئین کروسیفیرین با چهار زیرواحد را نشان داد. دامنه وزن مولکولی زیرواحدهای یک، دو، سه، و چهار پروتئین کروسیفیرین به ترتیب در دامنه ۳۲/۷-۳۴/۳، ۲۶/۴-۲۹/۱، ۲۱/۸-۲۳/۶، و ۱۹/۲-۲۰/۳ کیلودالتون بود که با گزارش سایر پژوهشگران مطابقت داشت (۱، ۵، ۶، ۳۴، ۳۵) (جدول ۲). تفاوت‌های جزئی مشاهده شده در این گزارش‌ها (به‌عنوان مثال وزن مولکولی بالاتر زیرواحد یک کروسیفیرین 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 ناپدید شدن زیرواحدهای پروتئین کروسیفیرین کنجاله کانولای پرتوتابی نشده در شکمبه، در

## تولیدات دامی

ناپدید شدن شکمبه‌ای پروتئین و اسیدهای آمینه کنجاله کانونلای عمل‌آوری نشده و عمل‌آوری شده با پرتوهای گاما و الکترون

جدول ۳. ناپدید شدن زیرواحدهای پروتئین کروسیفیرین کنجاله کانونلای پرتوتابی نشده در زمان‌های گوناگون انکوباسیون در شکمبه

زیر واحد	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 زیر واحد در زمان انکوباسیون مشخص  
-: عدم حضور زیر واحد در زمان انکوباسیون مشخص

جدول ۴. ناپدید شدن زیرواحدهای پروتئین کروسیفیرین کنجاله کانونلای پرتوتابی شده با تابش الکترون در زمان‌های گوناگون انکوباسیون در شکمبه

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

+: حضور زیر واحد در زمان انکوباسیون مشخص  
-: عدم حضور زیر واحد در زمان انکوباسیون مشخص

## تولیدات دامی

دوره ۱۷ ■ شماره ۱ ■ بهار و تابستان ۱۳۹۴

جدول ۵. ناپدید شدن زیرواحدهای پروتئین کروسیفیرین کنجاله کانولای پرتوتابی شده با اشعه 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

درحالی که پرتوتابی با دوزهای ۳۰ و ۴۵ کیلوگری اشعه گاما، زیرواحدهای پروتئین مذکور را تا زمان ۲۴ ساعت در شکمبه حفظ کرد (۱۲). نتایج حاصل از پژوهشی نشان داد که زیرواحدهای کروسیفیرین کنجاله کانولای پرتوتابی شده با دوزهای ۱۵ و ۳۰ کیلوگری پرتو الکترون، در مقایسه با نمونه‌های پرتوتابی نشده، به تجزیه شکمبه‌ای مقاوم‌تر بودند (۳۵).

علت محافظت بیشتر زیرواحدهای پروتئین کروسیفیرین در مقابل تجزیه شدن، 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

در کنجاله کانولای پرتوتابی نشده، زیرواحدهای پروتئین کروسیفیرین پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای ناپدید می‌شوند، درحالی که پرتوتابی با دوزهای ۵۰ و ۷۵ کیلوگری اشعه گاما، زیرواحدهای این پروتئین را تا زمان ۴۸ ساعت از تجزیه شکمبه‌ای حفظ می‌کند (۳۴). در تحقیقی، پرتوتابی کنجاله کانولا با دوز ۶۳ کیلوگری پرتو الکترون، تأثیری بر تجزیه شکمبه‌ای زیرواحدهای پروتئین کروسیفیرین آن نداشته است (۱). در پژوهشی که با تکنیک الکتروفورز ژل پلی‌آکرلامید انجام گرفت، اثر دوزهای ۱۵، ۳۰ و ۴۵ کیلوگری پرتو گاما بر تجزیه پذیری شکمبه‌ای پروتئین دانه کانولا بررسی شد. در کنجاله کانولای پرتوتابی نشده، زیرواحدهای پروتئین کروسیفیرین پس از ۱۶ ساعت انکوباسیون در شکمبه ناپدید شدند،

## تولیدات دامی



مواد خوراکی با استفاده از تکنیک‌های کیسه‌های نایلونی و الکتروفورز ژل پلی‌آکرلامید، رساله 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, Gravius 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. Bhatti 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  $\alpha$ -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.

سطح مولکول پروتئین آب‌گریزتر و از حالت طبیعی خارج می‌شود (۲). کاهش تجزیه‌پذیری زیرواحدهای پروتئین کروسیفین احتمالاً به دلیل ایجاد پیوندهای عرضی، به هم چسبیدگی، و اکسیداسیون به وسیله رادیکال‌های اکسیژن تولید شده در اثر پرتوتابی است (۱۰). رادیکال‌های آنیونی هیدروکسیل و سوپراکسید تولید شده با پرتوتابی، می‌توانند ویژگی‌های مولکولی پروتئین‌ها را از طریق ایجاد پیوندهای عرضی تغییر دهند و باعث به هم چسبیدگی 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 تجزیه شکمبه‌ای اسیدهای آمینه کنجاله کانولا می‌شود. همچنین توانایی پرتو گاما در کاهش تجزیه شکمبه‌ای اسیدهای آمینه، بیشتر از تابش الکترون است. الگوی الکتروفورزی کنجاله کانولا وجود چهار زیرواحد را در آن نشان داد. زیرواحدهای پروتئین کروسیفین در کنجاله 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 کروسیفین در مقابل تجزیه میکروبی در شکمبه دارد.

## منابع

۱. جعفری‌فروشان م (۱۳۸۹) اثر پرتوتابی تابش الکترون بر تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام کنجاله‌های سویا و کانولا و عملکرد گاوهای شیری هلشتاین، پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه صنعتی اصفهان.
۲. شورنگ پ (۱۳۸۵) مطالعه اثرات پرتوتابی روی ناپدید شدن شکمبه‌ای و پس‌شکمبه‌ای پروتئین بعضی

## تولیدات دامی

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, Nikkiah A, Sadeghi AA and Raisali G (2009) Chemical composition, secondary 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, Nikkiah A, Sadeghi AA and Raisali G (2009) Chemical composition, secondary compounds, ruminal degradation and *in vitro* crude protein digestibility of gamma irradiated canola seed. *Anim Feed Science and Technology*. 151: 184-193.
14. European Commission (1998) Establishing community methods of analysis for the determination of amino acids, crude oils and fats, and olaquinox in feedingstuffs and amending directive 71/393/EEC. Commission 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. Kopečný 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,

- 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.