نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۵، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۲، ص. ۳۵۴-۳۴۴

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 5, No. 4, Winter 2014, p. 344-354

مقایسه تاثیر پرتوهای یون‌ساز گاما و الکترون بر کینتیک تجزیه شکمبه‌ای پروتئین و اسیدهای آمینه کنجاله سویا

فرزاد قنبری[1*]- تقی قورچی[2]- پروین شورنگ[3]- هرمز منصوری[4]- نورمحمد تربتی نژاد[5]

تاریخ دریافت:۱۳۹۲/۳/۱۰
تاریخ پذیرش:۱۳۹۲/۱۰/۱

چکیده

پژوهش حاضر به منظور مقایسه اثر دزهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ کیلوگری پرتوهای یون‌ساز گاما و الکترون، بر تجزیه پذیری شکمبه‌ای پروتئین و اسیدهای آمینه کنجاله سویا انجام گرفت. بدین منظور از تکنیک‌های کیسه نایلونی و الکتروفورز ژل پلی‌آکریلامید در حضور سدیم دودسیل سولفات استفاده شد. پرتوهای یون‌ساز باعث کاهش بخش‌های سریع تجزیه و ثابت نرخ تجزیه و افزایش بخش کند تجزیه پروتئین خام شدند. تاثیر اشعه گاما بر فراسنجه‌های تجزیه پذیری پروتئین خام بیشتر از پرتو الکترون بود. تجزیه پذیری موثر پروتئین خام تحت تاثیر پرتوهای یون‌ساز کاهش یافت. تاثیر اشعه گاما در کاهش تجزیه پذیری موثر پروتئین خام در سرعت‌های عبور ۵ و ۸ درصد در ساعت بیشتر از پرتو الکترون بود. پرتوهای یون‌ساز باعث کاهش تجزیه اسیدهای آمینه کنجاله سویا بعد از ۱۶ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای شدند. پرتو گاما توانایی بیشتری در کاهش تجزیه پذیری اسیدهای آمینه داشت. در کنجاله سویای پرتوتابی نشده، زیرواحدهای $\acute{\alpha}$، α و β پروتئین بتاکنگلیسینین پس از ۴ ساعت و زیرواحدهای اسیدی و بازی پروتئین گلیسینین پس از ۱۶ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای ناپدید شدند. دزهای ۵۰ و ۷۵ کیلوگری پرتو الکترون و اشعه گاما باعث حفظ زیرواحدهای بتاکنگلیسینین تا زمان ۱۶ ساعت و حفظ زیرواحدهای گلیسینین تا زمان ۴۸ ساعت شدند. نتایج این پژوهش نشان داد که هرچند تاثیر پرتو گاما در کاهش تجزیه شکمبه ای پروتئین خام و اسیدهای آمینه بیشتر از پرتو الکترون بود، اما ناپدید شدن شکمبه‌ای زیر واحدهای پروتئین کنجاله سویا به طور یکسانی تحت تاثیر این پرتوهای یون‌ساز قرار گرفت.

واژه‌های کلیدی: پرتوهای یون‌ساز، کنجاله سویا، تجزیه پذیری، الکتروفورز

مقدمه

کنجاله‌های دانه‌های روغنی به‌عنوان مکمل‌های پروتئینی در جیره نشخوارکنندگان استفاده می‌شوند. اما این منابع ارزشمند پروتئینی به‌طور گسترده‌ای توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه تجزیه می‌شوند (۳۹). بخش قابل توجهی از پروتئین در حین تجزیه در شکمبه، به پپتیدها، اسیدهای آمینه و در نهایت به آمونیاک تبدیل می‌شود. در این حالت شاخص‌های کیفیت پروتئین از جمله توازن اسیدهای آمینه و قابلیت هضم از بین می‌روند (۴۱).

روش‌های مختلف عمل‌آوری کنجاله‌ها به منظور کاهش تجزیه پذیری پروتئین در شکمبه مورد استفاده قرار گرفته که شامل روش‌های فیزیکی، شیمیایی و یا ترکیب آن‌ها می‌باشند (۲۹ و ۳۹). در عمل‌آوری‌های شیمیایی، از آلدهیدها، تانن‌ها، قلیاها، زایلوز، اسیدهای آلی و معدنی، لیگنوسولفونات‌ها و الکل استفاده می‌شود (۱۶، ۳۹ و ۴۰). اما بعضی از این ترکیات باعث آلودگی محیط زیست شده و در برخی موارد اثرات نامطلوب بر عملکرد دام برجای می‌گذارند (۲۶).

عمل‌آوری‌های فیزیکی که برای کاهش تجزیه پروتئین در شکمبه مورد استفاده قرار گرفته‌اند، شامل حرارت‌دهی خشک و مرطوب، پوشاندن پروتئین با یک فرآورده مقاوم به تجزیه (مانند خون)، عمل‌آوری با امواج کوتاه[6] و پرتوتابی می‌باشند (۴، ۱۲، ۲۶، ۲۷

۱- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس
(*- نویسنده مسئول: Email: farzadghanbari@yahoo.com)
۲ و ۵- استادان گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۳- استادیار پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، پژوهشکده کاربرد پرتوها
۴- استادیار موسسه تحقیقات علوم دامی کشور

6- Microwaves

و ۳۴). متداول‌ترین روش عمل‌آوری فیزیکی حرارت‌دهی است. حرارت باعث کاهش تجزیه پذیری پروتئین از طریق واسرشتی و یا ایجاد پیوندهای عرضی پروتئین-پروتئین و پروتئین- کربوهیدرات (واکنش قهوه‌ای شدن) می‌شود. اما حرارت زیادی باعث تخریب اسیدهای آمینه حساس به‌ویژه لیزین، سیستین و آرژنین می‌شود (۲۶).

از جمله روش‌های عمل‌آوری منابع پروتئینی که اخیراً مورد توجه قرار گرفته است، فرآیند پرتوتابی می‌باشد. پرتوتابی یک روش فیزیکی عمل‌آوری بوده که بدون ایجاد فعالیت رادیو اکتیو، بر ساختمان پروتئین تاثیر می‌گذارد. این فرآیند، احتمالاً باعث ایجاد پیوندهای عرضی و انبوهش پروتئین‌ها می‌شود. پرتوتابی پتانسیل بالایی برای جایگزینی با سایر روش‌های معمول عمل‌آوری خوراک داشته و بدون شک در آینده به‌طور وسیع‌تری مورد استفاده قرار خواهد گرفت (۲۴). منظور از عمل‌آوری خوراک به‌وسیله پرتوتابی، استفاده کنترل شده از پرتوهای یون‌ساز گاما (ساتع شده از کبالت ۶۰ یا سزیم ۱۳۷) و الکترون (تولید شده به‌وسیله شتاب دهنده الکترونی) می‌باشد (۱۱ و ۱۸). علیرغم اینکه ساز و کار تاثیر پرتوهای یون‌ساز گاما و الکترون بر مواد مشابه است، اما در هر حال اختلافاتی از لحاظ قدرت نفوذ و نحوه کاربرد بین آن‌ها وجود دارد. پرتو گاما قدرت نفوذ بیشتری داشته و خطای پرتوتابی کمتری ایجاد می‌کند. از طرفی هم به‌صورت مستقیم و هم به‌صورت غیرمستقیم بر ماده پرتوتابی شده اثر می‌گذارد (۷).

اخیراً فرآیند پرتوتابی در کاهش تجزیه پروتئین خام دانه‌ها و کنجاله‌های پروتئینی به‌وسیله میکروارگانیسم‌های شکمبه، موفق بوده است (۱۵). در میان کنجاله‌های دانه‌های روغنی، کنجاله سویا پرمصرف‌ترین آن‌ها در خوراک دام و طیور می‌باشد. با بررسی محتوی اسید آمینه کنجاله سویا، اهمیت آن در جیره‌های مخلوط به‌خوبی مشخص می‌شود. این ماده خوراکی کاملاً خوش‌خوراک بوده و دارای توازن خوب اسید آمینه با فرآهمی بالا می‌باشد (۳۲). شورنگ و همکاران (۳۵) گزارش کردند که پرتوتابی گامای کنجاله سویا با دزهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ کیلوگری، باعث کاهش تجزیه پذیری پروتئین خام آن از ۶۹/۷ درصد به‌ترتیب به ۵۷/۱، ۴۷/۹ و ۴۰/۲ درصد شد. برای دستیابی به اطلاعات بیشتر در خصوص پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه در کنجاله سویای عمل‌آوری نشده و کنجاله سویای عمل-آوری شده با تیمارهای مختلف، لازم است که تجزیه شکمبه‌ای و فرآهمی اسیدهای آمینه این خوراک مشخص شود. بیان شده است که عمل‌آوری کنجاله سویا می‌تواند با افزایش زیست فرآهمی اسیدهای آمینه در روده، باعث افزایش تولید شیر شود (۶). در خصوص تاثیر پرتوهای یون‌ساز بر تجزیه‌پذیری اسیدهای آمینه کنجاله سویا گزارشی در منابع علمی یافت نشد.

ون سوست بهترین ملاک ارزشیابی پروتئین مواد خوراکی در تغذیه نشخوارکنندگان را اندازه‌گیری مقدار تجزیه‌پذیری پروتئین حقیقی در شکمبه می‌داند (۳۵). تکنیک الکتروفورز ژل پلی‌آکریلامید و دنسیومتری، امکان مطالعه نوع پروتئین موجود در مواد خوراکی، تعداد زیرواحدهای هر پروتئین و وزن ملکولی زیرواحدها را فراهم می‌کند. این تکنیک توانایی تعیین و ایزوله کردن پروتئین‌های نمونه خوراک را داشته و اجازه می‌دهد که تجزیه‌پذیری زیرواحدها مستقیماً مورد بررسی قرار گیرد. بنابراین با استفاده از این تکنیک می‌توان نوع پروتئین‌های عبوری از شکمبه را تشخیص داد (۳۲). در پژوهش شورنگ و همکاران (۳۵)، الگوی الکتروفورزی کنجاله سویا، وجود دو پروتئین عمده به‌نام‌های بتاکنگلیسینین با ۳ زیرواحد $\acute{\alpha}$ ، α و β، و گلیسینین با دو زیرواحد اسیدی و بازی را در آن نشان داد. این محققین مشاهده کردند که عمل‌آوری کنجاله سویا با دزهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ کیلوگری پرتو گاما باعث کاهش تجزیه این زیرواحدها در شکمبه شد.

هدف از انجام این پژوهش بررسی و مقایسه تاثیر پرتوهای یون-ساز گاما و الکترون بر کینتیک تجزیه شکمبه‌ای پروتئین و اسیدهای آمینه کنجاله سویا بود.

مواد و روش‌ها

کنجاله سویا از شرکت تعاونی گاوداران و اسب‌داران استان گلستان تهیه شد. پرتوتابی گامای کنجاله سویا در پژوهشکده تحقیقات کشاورزی، پزشکی و صنعتی کرج، وابسته به پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای سازمان انرژی اتمی ایران انجام گرفت. قبل از انجام پرتوتابی، رطوبت نمونه ماده‌های خوراکی به ۲۵ درصد رسانده شده و سپس در دمای اتاق و اتمسفر هوا با دزهای ۲۵، ۵۰ و ۷۰ کیلوگری مورد پرتوتابی قرار گرفتند. پرتوتابی با نرخ متوسط ۰/۳۴ گری در ثانیه، با استفاده از سیستم پرتوتابی آزمایشگاهی مدل PX-30 انجام شد. در این سیستم پرتوتابی از کبالت ۶۰ به‌عنوان چشمه پرتوزای گاما استفاده می‌شود. کنترل کیفی پرتوتابی با به‌کارگیری سیستم دزی‌متر شیمیایی مرجع فریک، بر اساس استاندارد ASTM E1026-95 انجام شد (۵). پرتوتابی الکترونی کنجاله سویا در مرکز پرتوفرآیند یزد، وابسته به پژوهشکده کاربرد پرتوهای سازمان انرژی اتمی ایران انجام شد. شتاب‌دهنده الکترونی که در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت، رودوترون[1] بود. نمونه‌های کنجاله با پرتو الکترونی ۱۰ مگا الکترون‌ولت و جریان باریکه الکترونی ۶ میلی‌آمپر با دزهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ کیلوگری و با خطای کمتر از ۵ درصد پرتوتابی شدند. روش پرتوتابی به‌صورت یک‌طرفه بود. به‌منظور دقت در دز داده شده به نمونه‌ها، اندازه گیری دز با استفاده از کالری‌متر پلی‌استراین (دزی-متر مرجع) صورت گرفت.

آزمایش تجریه پذیری با استفاده از تکنیک کیسه‌های نایلونی

1- Rhodotron (Model TT-2200, IBA Co., Belgium)

انجام گرفت. بدین منظور از سه راس گاو نر بالغ تالشی (وزن زنده ۱۰±۳۵۰ کیلوگرم) دارای فیستولای شکمبه‌ای موجود در موسسه تحقیقات علوم‌دامی کشور استفاده شد. دام‌ها مطابق استاندارد تکنیک کیسه‌های نایلونی، در سطح نگهداری تغذیه شدند. جیره بر اساس نسبت ۶۰ درصد علوفه و ۴۰ درصد کنسانتره تنظیم شد. نمونه‌های کنجاله سویای عمل‌آوری نشده و عمل‌آوری شده با پرتوهای گاما و الکترون توسط آسیاب چکشی آزمایشگاهی دارای غربال ۲ میلی‌متری آسیاب شدند. سپس ۵ گرم از هر نمونه داخل کیسه‌های نایلونی از جنس داکرون (ابعاد ۲۰×۱۰ سانتی‌متر و قطر منافذ ۴۵ تا ۵۰ میکرون) قرار داده شد. زمان‌های ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت به‌منظور انکوباسیون شکمبه‌ای کیسه‌های نایلونی حاوی نمونه‌های مواد خوراکی در نظر گرفته شدند. در ضمن برای برآورد مقدار ناپدید شدن مواد خوراکی در زمان صفر، کیسه‌های حاوی نمونه‌های مواد خوراکی به‌مدت ۳۰ دقیقه توسط ماشین لباسشویی شستشو شدند. پس از پایان یافتن هر زمان انکوباسیون، کیسه‌های حاوی مواد باقی‌مانده از طریق فیستولا از شکمبه خارج شده و به‌مدت ۳۰ دقیقه در ماشین لباسشویی با آب سرد شسته شدند. پس از شستشو، کیسه‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت در آون ۶۵ درجه خشک شدند. در نهایت مقدار نمونه باقی‌مانده در کیسه‌ها تعیین شد. سپس محتوی پروتئین نمونه‌های باقی‌مانده در کیسه‌ها به‌منظور تعیین تجزیه پذیری شکمبه‌ای آن تعیین شد. اندازه‌گیری مقدار اسیدهای آمینه نمونه‌های کنجاله سویا به‌منظور تعیین تجزیه‌پذیری آن‌ها، در آزمایشگاه گروه تولیدات دامی پژوهشکده تحقیقات غذا و کشاورزی[1] کشور فنلاند انجام گرفت. روش اندازه‌گیری بر اساس دستور کار کمیسیون اروپایی و با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بسیار بالا[2] بود (۱۰). این دستگاه تمام ویژگی‌های کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا[3] را داشته، ضمن اینکه سرعت، حساسیت و قدرت تجزیه بالاتری دارد.

الکتروفورز پروتئین نمونه‌ها با استفاده از تکنیک الکتروفورز ژل پلی‌آکریلامید و بر اساس روش لاملی (۲۰) صورت گرفت. در این پژوهش از دستگاه الکتروفورز عمودی، ساخت شرکت پایا پژوهش استفاده شد. به‌منظور استخراج پروتئین برای انجام الکتروفورز، مقداری از کنجاله (اندازه ذرات ۰/۱ میلی‌متر و تقریباً ۱۵ میلی‌گرم ماده خشک کنجاله) به درون لوله‌های اپندرف منتقل شد. سپس ۷۵۰ میکرولیتر بافر استخراج نمونه حاوی ۰/۶۲۵ مولار تریس-اسیدکلریدریک[4] (اسیدیته ۶/۸)، ۱۰ درصد سدیم دودسیل سولفات[5]، ۲/۵ درصد بتامرکاپتواتانول[6]، ۷ درصد گلیسرول و ۴ میلی‌گرم برومونفل بلو[7] اضافه شد. پس از ۳۰ دقیقه هم‌زدن بر روی همزن مخصوص لوله اپندرف در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، پروتئین نمونه‌ها استخراج و پس از قرار دادن در آب ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳ دقیقه و سانتریفیوژ ۱۰۰۰۰ دور به‌مدت ۱ دقیقه، مایع صاف شده بالایی جدا شد. مایع بالایی به لوله‌های اپندرف منتقل شده 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 درصد آکریلامید- بیس آکریلامید و ژل پایینی حاوی ۱۴ درصد آکریلامید- بیس آکریلامید منتقل شد. ابعاد ژل ۱۴۰×۱۱۰×۱ میلی متر، زمان الکتروفورز ۳ ساعت و شدت جریان ۳۰ میلی‌آمپر بود. پس از انجام الکتروفورز، ژل‌ها از شیشه الکتروفورز جدا شده و به‌مدت یک روز در ظروف پلاستیکی حاوی مقدار کافی محلول رنگ‌آمیزی قرار داده شدند. سپس چند بار با آب مقطر شستشو شده و به آن‌ها مقدار کافی محلول رنگ‌بر اضافه شد. ژل‌ها تا حذف کامل رنگ زمینه و مشخص شدن باندهای پروتئین در محلول رنگ‌بر باقی ماندند. تعیین وزن مولکولی قطعات پروتئینی تفکیک شده بر روی ژل، با استفاده از مارکر استاندارد فرمنتاز[8] با مشخصات پروتئینی بتاگالاکتوزیداز (۱۱۶ کیلودالتون)، آلبومین سرم گاوی (۶۶/۲ کیلودالتون)، اُآلبومین (۴۵ کیلودالتون)، لاکتات دهیدروژناز (۳۵ کیلودالتون)، آندونوکلئاز (۲۵ کیلودالتون)، بتالاکتوگلوبولین (۱۸/۴ کیلودالتون) و لیزوزیم (۱۴/۴ کیلودالتون) انجام شد. بدین منظور از نرم‌افزار آنالیز کننده ژل[9] استفاده استفاده شد.

برآورد فرآسنجه‌های مختلف تجزیه‌پذیری و تجزیه‌پذیری موثر پروتئین خام و اسیدهای آمینه کنجاله سویا با استفاده از معادلات غیرخطی ارسکوف و مک دونالد (۳۰) انجام شد. بدین منظور از نرم‌افزار *Fit curve* استفاده شد. داده‌ها در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی، با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (۳۳) و رویه GLM تجزیه شدند. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد. به‌منظور تعیین ارتباط بین دز پرتوهای یون‌ساز و تجزیه‌پذیری موثر پروتئین خام کنجاله‌ها، از تجزیه رگرسیون خطی ساده (رویه Reg) استفاده شد.

1- MTT Agrifood Research Finland
2- MassTrak UPLC (Ultra performance liquid chromatography)
3- HPLC (High performance liquid chromatography)
4- Tris-Hcl
5- Sodium dodecyl sulfate (SDS)
6- β-mercaptoethanol
7- Bromophenol blue
8- Fermentas
9- Gel pro analyzer

جدول ۱- اثرات پرتوهای یون‌ساز گاما و الکترون بر فرآسنجه‌های مختلف تجزیه پذیری و تجزیه پذیری موثر پروتئین خام کنجاله سویا

	بخش سریع تجزیه (a) درصد	بخش کند تجزیه (b) درصد	پتانسیل تجزیه پذیری (a+b) درصد	ثابت نرخ تجزیه (c) درصد در ساعت	تجزیه پذیری مؤثر(درصد) در سرعت عبور (درصد در ساعت) ۲	۵	۸
کنجاله سویا (شاهد)	۲۰/۰۰^{a}	۷۱/۵۰^{c}	۹۱/۵۰^{a}	۰/۰۸۹^{a}	۷۸/۴۰^{a}	۶۵/۷۷^{a}	۵۷/۶۷^{a}
کنجاله سویا- ۲۵ کیلوگری گاما	۱۷/۵۷^{b}	۷۳/۲۳^{bc}	۹۰/۸۰^{a}	۰/۰۶۵^{b}	۷۳/۴۷^{bc}	۵۸/۸۷^{b}	۵۰/۳۰^{b}
کنجاله سویا- ۵۰ کیلوگری گاما	۱۱/۶۶^{c}	۷۶/۶۰^{ab}	۸۸/۲۵^{a}	۰/۰۶۲^{b}	۶۹/۴۰^{d}	۵۳/۸۷^{c}	۴۴/۸۷^{c}
کنجاله سویا- ۷۵ کیلوگری گاما	۷/۱۵^{d}	۷۹/۹۷^{a}	۸۷/۱۲^{ab}	۰/۰۳۳^{c}	۵۶/۶۳^{e}	۳۸/۷۳^{d}	۳۰/۳۷^{e}
کنجاله سویا- ۲۵ کیلوگری الکترون	۱۹/۶۸^{a}	۷۱/۸۵^{c}	۹۱/۵۳^{a}	۰/۰۶۷^{b}	۷۵/۱۷^{b}	۶۱/۰۰^{b}	۵۳/۶۳^{b}
کنجاله سویا- ۵۰ کیلوگری الکترون	۱۲/۷۹^{c}	۷۷/۳۶^{ab}	۹۰/۱۴^{a}	۰/۰۶۱^{b}	۷۰/۹۵^{cd}	۵۵/۱۵^{c}	۴۶/۱۰^{c}
کنجاله سویا- ۷۵ کیلوگری الکترون	۸/۷۷^{d}	۷۳/۹۱^{bc}	۸۲/۶۸^{b}	۰/۰۴۰^{c}	۵۸/۱۳^{e}	۴۱/۷۳^{d}	۳۳/۵۰^{d}
SEM	۰/۶۴۱	۱/۳۱۹	۱/۶۱۳	۰/۰۰۲۹	۰/۹۰۶	۰/۹۷۶	۰/۹۸۷
مقایسات گروهی							
شاهد در برابر پرتو	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۲۴۸	۰/۱۱۱۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱
شاهد در برابر الکترون	<۰/۰۰۰۱	۰/۱۱۲۲	۰/۰۹۲۷	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۲	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱
شاهد در برابر گاما	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۹۴	۰/۱۹۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۲	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱
الکترون در برابر گاما	۰/۰۰۴۹	۰/۰۸۴۸	۰/۶۷۳۴	۰/۳۶۱۴	۰/۰۶۷۴	۰/۰۳۶۵	۰/۰۲۹۴

میانگین های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند (P<۰/۰۵).

SEM = اشتباه معیار میانگین

نتایج و بحث

ناپدید شدن شکمبه‌ای پروتئین خام و اسیدهای آمینه کنجاله سویای عمل‌آوری نشده و عمل‌آوری شده با پرتوهای گاما و الکترون فرآسنجه‌های مختلف تجزیه پذیری و تجزیه پذیری موثر شکمبه‌ای پروتئین خام کنجاله سویای عمل‌آوری نشده (شاهد) و عمل‌آوری شده با پرتوهای یون‌ساز گاما و الکترون در جدول ۱ گزارش شده‌اند.

پرتوتابی مقادیر بخش‌های سریع تجزیه، کند تجزیه و ثابت نرخ تجزیه پروتئین خام را به‌ترتیب کاهش، افزایش و کاهش داد (P<۰/۰۵). تجزیه‌پذیری موثر پروتئین خام کنجاله سویا در سرعت‌های عبور ۲، ۵ و ۸ درصد در ساعت نیز تحت تاثیر فرآیند پرتوتابی کاهش یافت (P<۰/۰۵). اشعه گاما نسبت به پرتو الکترون، در کاهش بخش سریع تجزیه و تجزیه‌پذیری موثر (سرعت‌های عبور ۵ و ۸ درصد در ساعت) پروتئین خام کنجاله سویا قدرت بیشتری داشت (P<۰/۰۵).

در پژوهش حاضر، مقدار بخش سریع تجزیه پروتئین خام کنجاله سویای پرتوتابی نشده (شاهد) ۲۰ درصد به‌دست آمد. دز ۲۵ کیلوگری پرتو الکترون تاثیری بر این فرآسنجه نداشت (P>۰/۰۵). درحالی‌که دزهای ۵۰ و ۷۵ کیلوگری، باعث کاهش آن به‌میزان ۳۶/۰۵ و ۵۶/۱۵ درصد نسبت به شاهد شدند (P<۰/۰۵). از سوی دیگر دزهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ کیلوگری اشعه گاما باعث کاهش معنی‌دار فرآسنجه مذکور به‌ترتیب به‌میزان ۱۲/۱۵، ۴۱/۷ و ۶۴/۲۵ درصد شدند (P<۰/۰۵). بیشترین تاثیر بر کاهش بخش سریع تجزیه پروتئین خام کنجاله سویا در دز ۷۵ کیلوگری پرتوهای الکترون و گاما مشاهده شد.

مقدار بخش کند تجزیه پروتئین خام در کنجاله سویای شاهد ۷۱/۵ درصد به‌دست آمد. هرچند که عمل‌آوری کنجاله سویا توسط دزهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ کیلوگری پرتو الکترون مقدار این فرآسنجه را افزایش داد (به‌ترتیب ۰/۴۹ و ۸/۲۰ و ۳/۳۷ درصد)، اما از لحاظ آماری تنها دز ۵۰ کیلوگری باعث اختلاف معنی‌دار نسبت به شاهد شد (P<۰/۰۵). در ضمن اختلاف بین دزهای ۵۰ و ۷۵ کیلوگری الکترون معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). اشعه گاما نیز در دزهای ۵۰ و ۷۵ کیلوگری باعث کاهش (P<۰/۰۵) بخش کند تجزیه پروتئین خام نسبت به شاهد شد (به‌ترتیب ۷/۱۳ و ۱۱/۸۵ درصد). اما دز ۲۵ کیلوگری آن تاثیر معنی‌داری بر این فرآسنجه نداشت (P>۰/۰۵). به‌طور کلی دز ۷۵ کیلوگری پرتو گاما، بیشترین قدرت را در افزایش بخش کند تجزیه پروتئین خام کنجاله سویا داشت.

ثابت نرخ تجزیه پروتئین خام در کنجاله سویای پرتوتابی نشده ۰/۰۸۹ در ساعت به‌دست آمد. پرتو الکترون در دزهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ کیلوگری، مقدار این فرآسنجه را به‌ترتیب به‌میزان ۲۴/۷۲، ۳۱/۴۶ و ۵۵/۰۶ درصد کاهش داد (P<۰/۰۵). اشعه گاما نیز در دزهای مورد اشاره مقدار ثابت نرخ تجزیه را به‌ترتیب به‌میزان ۲۶/۹۷، ۳۰/۳۴ و

۶۲/۹۲ درصد کاهش داد (P<۰/۰۵). بیشترین کاهش در ثابت نرخ تجزیه در دز ۷۵ کیلوگری پرتوهای الکترون و گاما مشاهده شد.

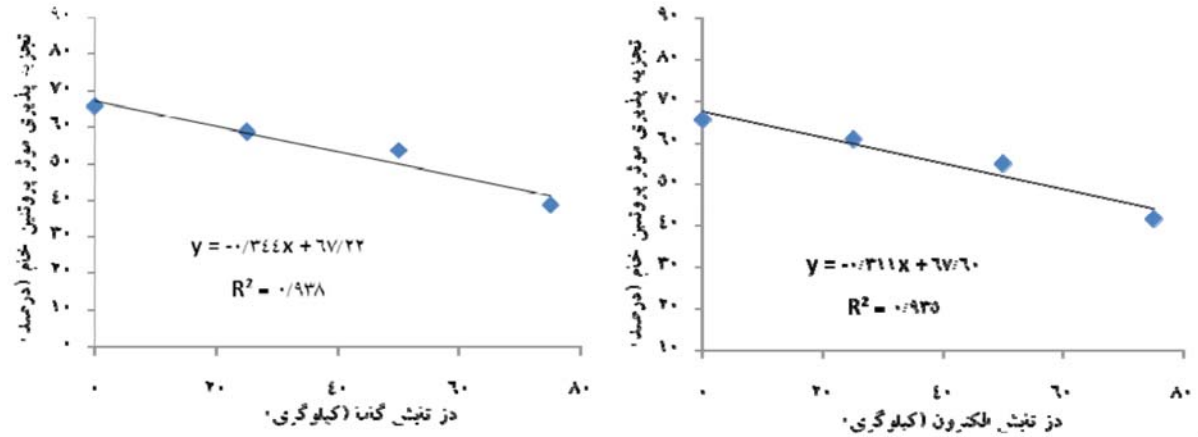
پرتو یون‌ساز باعث تغییر ساختار پروتئین می‌شود. مطالعات انجام گرفته به‌وسیله الکتروفورز ژل پلی‌آکریلامید نشان داده اند که پرتوتابی سبب متلاشی شدن زنجیره‌های پلی‌پپتیدی و متعاقب آن به هم چسبیده‌شدن آن‌ها می‌شود (۸ و ۲۲). جیانگ و همکاران (۱۹) گزارش کردند که تراکم پیوندهای عرضی غشای کلاژن با افزایش دز پرتو الکترون از ۵۰ تا ۱۰۰ کیلوگری، افزایش پیدا کرد. در اثر پرتوتابی، بین اسیدهای آمینه آزاد و پروتئین‌ها و نیز بین پپتیدها و پروتئین‌ها اتصال کوالانسی شکل می‌گیرد (۱۴). مجموع این عوامل باعث کاهش بخش سریع تجزیه (محلول) پروتئین خام می‌شوند.

تجزیه‌پذیری موثر پروتئین خام کنجاله سویا در سرعت عبور ۵ درصد در ساعت ۶۵/۷۷ درصد به‌دست آمد. دزهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ کیلوگری اشعه گاما مقدار این فرآسنجه را به‌ترتیب به‌میزان ۱۰/۴۹، ۱۸/۰۹ و ۴۱/۱۱ درصد کاهش دادند (P<۰/۰۵). تیمار الکترون نیز توسط دزهای مورد اشاره، مقدار آن را به‌ترتیب به‌میزان ۷/۲۵، ۱۶/۱۵ و ۳۶/۵۵ درصد نسبت به شاهد کاهش داد (P<۰/۰۵).

پرتوهای یون‌ساز گاما و الکترون سبب باز شدن تاخوردگی پروتئین و واسرشتی آن می‌شوند. به‌این طریق، سطح آب‌گریزی پروتئین از طریق در معرض قرار دادن گروه‌های غیر قطبی افزایش می‌یابد (۱۳). تغییر در ساختمان دوم و سوم پروتئین در اثر واسرشتی، ممکن است که باعث ایجاد اتصالات عرضی داخل پروتئین، برهم‌کنش‌های آب‌گریز و الکترواستاتیک و تشکیل پیوندهای دی‌سولفیدی شود (۲۱). هر اسید آمینه رادیکال تولید شده در یک زنجیره پلی‌پپتیدی می‌تواند از طریق پیوند عرضی به اسید آمینه رادیکال پروتئین دیگر پیوند یابد (۹). به‌این ترتیب پروتئین با وزن مولکولی بالا تشکیل و تجمع یافته و تجزیه پذیری آن در شکمبه کاهش می‌یابد (۳۴).

شورنگ و همکاران (۳۴) گزارش کردند که دزهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ کیلوگری اشعه گاما بخش‌های سریع تجزیه، کند تجزیه و ثابت نرخ تجزیه پروتئین خام کنجاله سویا را به‌ترتیب کاهش، افزایش و کاهش دادند. تجزیه پذیری موثر پروتئین خام نیز در سرعت عبور ۵ درصد در ساعت کاهش یافت. در این پژوهش بیشترین کاهش مربوط به دز ۷۵ کیلوگری بود. تقی‌نژاد رودبنه (۱) اثرات دزهای ۱۵، ۳۰ و ۴۵ کیلوگری اشعه گاما را بر تجزیه‌پذیری پروتئین خام دانه سویا مورد بررسی قرار داد. او گزارش کرد که دزهای ۳۰ و ۴۵ کیلوگری مقدار بخش سریع تجزیه پروتئین خام را کاهش، و مقدار بخش کند تجزیه آن را دادند. اما دز ۱۵ کیلوگری تاثیری بر این صفات نداشت. تجزیه پذیری موثر پروتئین خام توسط تمام دزهای مورد استفاده کاهش یافت. جعفری‌فروشانی (۲) گزارش کرد که دز ۶۳ کیلوگری پرتو الکترون قادر به کاهش تجزیه پذیری پروتئین خام کنجاله سویا نبود.

جدول ۲ مقایسه میانگین تجزیه اسیدهای آمینه کنجاله سویای پرتوتابی نشده و پرتوتابی شده با دزهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ کیلوگری اشعه گاما و تابش الکترون را بعد از ۱۶ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای نشان می‌دهد. مقدار تجزیه پذیری اسیدهای آمینه کنجاله سویای عمل‌آوری نشده در دامنه ۸۸/۵۳ درصد (ترئونین) تا ۹۶/۸۰ درصد (گلوتامات) بود. مطالعات انجام گرفته در خصوص تجزیه پذیری اسیدهای آمینه کنجاله سویا محدود می‌باشند. بروکی کاسترو و همکاران (۶) در بررسی تجزیه پذیری برخی از اسیدهای آمینه موجود در کنجاله سویا بعد از ۱۶ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای، گزارش کردند که بیشترین مقدار تجزیه پذیری مربوط به اسید آمینه لیزین (۸۰/۲۰ درصد) و کمترین آن مربوط به اسیدهای آمینه متیونین و ترئونین بود (۷۴/۹۰ و ۷۵/۸۰ درصد).



شکل ۱- ارتباط بین دز تابش پرتوهای یون‌ساز الکترون و گاما و تجزیه پذیری موثر پروتئین خام کنجاله سویا در سرعت عبور ۵ درصد در ساعت

جدول ۲- مقایسه میانگین درصد تجزیه پذیری اسیدهای آمینه کنجاله سویای پرتوتابی نشده و پرتوتابی شده بعد از ۱۶ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای

	پرتو تابی شده با اشعه گاما(کیلوگری)			پرتو تابی شده 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 دربرابر اشعه گاما	تابش الکترون دربرابر اشعه گاما
هیستیدین	۹۱/۱۴^{a}	۹۳/۱۳^{a}	۷۵/۴۸^{c}	۹۲/۵۲^{a}	۹۲/۰۰^{a}	۸۶/۴۵^{b}	۱/۲۳۳	۰/۰۰۱۳	۰/۰۱۱۵	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۴۹
ایزولوسین	۸۹/۰۷^{b}	۸۹/۳۳^{b}	۷۳/۷۷^{d}	۹۰/۹۶^{ab}	۹۰/۱۷^{ab}	۸۳/۳۸^{c}	۰/۲۳۵	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۲۳	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۲
لوسین	۸۸/۸۷^{a}	۸۸/۶۶^{a}	۷۳/۲۵^{c}	۹۰/۹۳^{a}	۸۸/۹۹^{a}	۸۲/۹۰^{b}	۱/۱۱۹	۰/۰۰۰۹	۰/۰۰۸۹	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۳۲
لیزین	۸۸/۲۳^{b}	۸۸/۶۳^{ab}	۷۷/۴۴^{d}	۹۰/۲۶^{ab}	۸۹/۵۶^{ab}	۸۲/۶۴^{c}	۰/۸۷۶	۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۶۲	۰/۰۰۰۳	<۰/۰۰۶۸
متیونین	۸۶/۹۰^{b}	۸۸/۳۹^{ab}	۷۲/۶۵^{d}	۸۹/۵۷^{a}	۸۹/۱۶^{ab}	۸۰/۸۰^{c}	۰/۶۳۴	۰/۰۰۲۶	۰/۰۳۲۶	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۰۳
فنیل آلانین	۸۸/۷۸^{ab}	۸۷/۱۶^{ab}	۷۲/۷۱^{c}	۹۰/۹۷^{ab}	۸۸/۰۰^{ab}	۸۳/۱۷^{b}	۲/۰۶۵	۰/۰۸۶۸	۰/۲۵۵۲	۰/۳۶۳	۰/۰۳۷۱
ترئونین	۸۵/۹۱^{c}	۸۶/۴۲^{bc}	۷۰/۷۷^{e}	۸۷/۹۱^{ab}	۸۸/۳۶^{ab}	۸۰/۳۳^{d}	۰/۵۱۸	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۹۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱
والین	۸۸/۴۳^{a}	۸۷/۷۱^{a}	۷۲/۳۴^{c}	۸۹/۹۴^{a}	۸۸/۷۹^{a}	۸۱/۵۶^{b}	۰/۹۹۹	۰/۰۱۱۰	۰/۰۶۹۶	۰/۰۰۳۰	۰/۰۰۲۹
آلانین	۸۷/۸۱^{a}	۸۷/۰۲^{a}	۷۴/۲۶^{b}	۸۸/۸۶^{a}	۸۸/۷۳^{a}	۷۸/۱۸^{b}	۱/۲۲۹	۰/۰۱۴۰	۰/۰۳۸۰	۰/۰۰۹۵	۰/۲۰۶۱
آرژنین	۹۵/۵۷^{a}	۹۴/۲۴^{a}	۸۵/۴۵^{b}	۹۵/۲۳^{a}	۹۴/۹۸^{a}	۸۷/۶۱^{b}	۱/۹۴۰	۰/۰۶۹۰	۰/۱۱۲۰	۰/۰۶۳۹	۰/۶۰۶۷
آسپارژین	۸۷/۵۹^{ab}	۸۵/۸۳^{b}	۷۴/۴۹^{c}	۸۹/۱۶^{ab}	۸۷/۷۳^{ab}	۸۶/۰۳^{b}	۲/۲۹۸	۰/۰۰۵۹	۰/۰۳۰۳	۰/۰۰۲۵	۰/۰۳۲۳
گلیسین	۸۳/۱۴^{bc}	۸۴/۳۲^{abc}	۷۳/۳۵^{d}	۸۵/۶۸^{ab}	۸۵/۵۷^{ab}	۷۹/۴۰^{c}	۱/۵۴۷	۰/۰۰۴۶	۰/۰۲۲۵۱	۰/۰۰۲۱	۰/۰۳۵۷
پرولین	۸۸/۶۶^{a}	۸۷/۱۳^{a}	۷۴/۱۸^{b}	۸۹/۵۹^{a}	۸۸/۴۳^{a}	۸۲/۹۳^{a}	۲/۲۰۵	۰/۱۱۰۴	۰/۲۵۴۷	۰/۰۵۷۲	۰/۰۸۷۸
سرین	۸۶/۰۰^{a}	۸۸/۳۹^{a}	۷۲/۳۷^{c}	۸۶/۶۰^{a}	۸۹/۱۶^{a}	۷۸/۹۷^{b}	۱/۱۴۴	۰/۰۱۲۳	۰/۰۳۸۲	۰/۰۵۹۱	۰/۰۲۹۴
تیروزین	۸۶/۹۷^{ab}	۸۶/۷۳^{ab}	۷۰/۹۰^{c}	۸۸/۷۴^{ab}	۸۶/۷۶^{c}	۸۱/۹۶^{b}	۱/۱۵۲	۰/۰۲۱۸	۰/۱۳۱۹	۰/۰۵۸۸	۰/۰۰۳۸
گلوتامات	۹۴/۲۶^{a}	۹۲/۳۷^{ab}	۸۰/۵۷^{c}	۹۵/۴۰^{a}	۹۵/۱۳^{a}	۸۷/۸۶^{b}	۱/۶۸۲	۰/۰۱۴۵	۰/۰۷۸۴	۰/۰۰۵۳	۰/۰۲۹۹

میانگین های هر ردیف با حروف غیرمشترک، دارای اختلاف معنی دار می باشند (P<۰/۰۵).
SEM = اشتباه معیار میانگین

ماکسین و همکاران (۲۵) تجزیه پذیری موثر اسیدهای آمینه ضروری کنجاله سویا را در سرعت عبور ۰/۰۸ در ساعت بررسی کرده و گزارش نمودند که ترئونین و هیستیدین به‌ترتیب بیشترین و کمترین مقاومت را به تجزیه شکمبه‌ای داشتند. در این پژوهش، پرتوهای یون‌ساز باعث کاهش درصد تجزیه پذیری اسیدهای آمینه نسبت به شاهد شدند (P<۰/۰۵). بجز در مورد اسیدهای آمینه آرژنین، آلانین و پرولین (P>۰/۰۵)، اشعه گاما نسبت به تابش الکترون توانایی بیشتری در کاهش تجزیه شکمبه‌ای اسیدهای آمینه کنجاله سویا داشت (P<۰/۰۵). در خصوص تاثیر پرتوهای یون‌ساز بر تجزیه پذیری اسیدهای آمینه گزارشی در منابع علمی یافت نشد.

ارتباط بین دز تابش پرتوهای یون‌ساز الکترون و گاما و تجزیه پذیری موثر پروتئین خام کنجاله سویا در سرعت عبور ۵ درصد در ساعت در نگاره ۱ نشان داده شده است. تجزیه رگرسیون حاکی از معنی‌دار بودن ارتباط خطی بین دز تابش پرتوهای الکترون و گاما و تجزیه پذیری موثر پروتئین خام بود (P<۰/۰۵). با افزایش هر کیلوگری افزایش دز تابش الکترون مقدار تجزیه پذیری موثر پروتئین خام ۳۱/۱ درصد کاهش پیدا کرد (R^2=۰/۹۳۵). به‌همین ترتیب با هر کیلوگری افزایش در دز اشعه گاما مقدار فرآسنجه مورد اشاره ۳۴/۴ درصد کاهش پیدا کرد (R^2=۰/۹۳۸). محققین بیان کرده اند که مقدار رادیکال‌های آزاد تولید شده در یک ماده تحت پرتو مستقیماً متناسب با دز پرتوتابی است. با افزایش در پرتو، اثرات آن روی فرآیند واسرشتی پروتئین بیشتر خواهد شد (۳۶). لی و همکاران (۲۳) نشان دادند که دزهای کم پرتو گاما اثر کمی بر تشکیل مولکول‌های پروتئین با وزن زیاد داشتند. اما با افزایش دز پرتو، تشکیل این مولکول‌ها افزایش یافت.

بررسی تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین‌های کنجاله سویای عمل‌آوری نشده و عمل‌آوری شده با پرتوهای الکترون و گاما با استفاده از تجزیه الکتروفورزی با توجه به وزن مولکولی زیرواحدهای تفکیک شده پروتئین‌های کنجاله سویا در اثر الکتروفورز، در این کنجاله پروتئینی دو پروتئین عمده به‌نام بتاکنگلیسینین با ۳ زیرواحد ά، α و β و گلیسینین با دو زیرواحد اسیدی و بازی تشخیص داده شد. وزن مولکولی زیرواحدهای ά، α و β بتاکنگلیسینین به‌ترتیب در دامنه ۹۲/۴-۸۹/۲، ۸۲/۵-۷۵/۵، ۶۶/۵-۶۲/۱ کیلودالتون قرار داشت. وزن مولکولی زیرواحدهای اسیدی و بازی گلیسینین هم به‌ترتیب در دامنه ۴۹-۳۳/۴ و ۳۰/۵-۲۳/۵ کیلودالتون قرار داشت (جدول۳).

تجزیه الگوی الکتروفورزی کنجاله سویای عمل‌آوری نشده نشان داد که زیرواحدهای ά، α و β پروتئین بتاکنگلیسینین این کنجاله بعد از ۴ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای تجزیه شدند. اما زیرواحدهای اسیدی و بازی گلیسینین تا زمان ۱۶ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای حضور داشته و پس از آن ناپدید شدند (جدول۳).

جدول ۴ حضور یا عدم حضور زیرواحدهای پروتئین‌های کنجاله سویای عمل‌آوری شده با دزهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ کیلوگری الکترون را در ساعت‌های مختلف انکوباسیون شکمبه‌ای نشان می‌دهد. در دز ۲۵ کیلوگری، زیرواحدهای ά، α و β پروتئین بتاکنگلیسینین پس از ۴ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای ناپدید شدند. اما زیرواحدهای اسیدی و بازی گلیسینین تا زمان ۲۴ ساعت در شکمبه حضور داشتند. دزهای ۵۰ و ۷۵ کیلوگری پرتو الکترون باعث محافظت زیرواحدهای ά، α و β پروتئین بتاکنگلیسینین تا زمان ۱۶ ساعت و محافظت زیرواحدهای اسیدی و بازی گلیسینین تا زمان ۴۸ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای شدند.

چگونگی ناپدید شدن زیرواحدهای پروتئین‌های کنجاله سویای عمل‌آوری شده با دزهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ کیلوگری اشعه گاما در جدول ۵ نشان داده شده است. در تیمار ۲۵ کیلوگری، زیرواحدهای ά، α و β پروتئین بتاکنگلیسینین تا زمان ۴ ساعت، و زیرواحدهای اسیدی و بازی گلیسینین تا زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای پدیدار بودند. زیرواحدهای ά، α و β پروتئین بتاکنگلیسینین توسط دزهای ۵۰ و ۷۵ کیلوگری اشعه گاما تا زمان ۱۶ ساعت از تجزیه میکروبی در امان ماندند. به‌همین ترتیب دزهای مذکور باعث محافظت زیرواحدهای اسیدی و بازی گلیسینین تا زمان ۴۸ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای شدند.

در این پژوهش الگوی زیرواحدهای پروتئین‌های کنجاله سویای پرتوتابی نشده نشان داد که زیرواحدهای ά، α و β پروتئین بتاکنگلیسینین تا زمان ۴ ساعت انکوباسیون در شکمبه حضور داشتند. زیرواحدهای بازی و اسیدی گلیسینین در مقابل تجزیه میکروبی نسبت به زیرواحدهای بتاکنگلیسینین مقاوم‌تر بودند. به‌طوری‌که بعد از ۱۶ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای ناپدید شدند.

شورنگ (۳) مشاهده کرد که زیر واحدهای ά و α پروتئین بتاکنگلیسینین کنجاله سویا پس از ۴ ساعت و زیرواحد β این پروتئین بعد از ۱۲ ساعت انکوباسیون به‌وسیلهٔ میکروارگانیسم های شکمبه تقریباً به‌طور کامل تجزیه شدند. زیرواحد اسیدی و بازی گلیسینین نسبت به زیرواحدهای پروتئین بتاکنگلیسینین آهسته‌تر تجزیه شده و قسمت عمده پروتئین عبوری کنجاله سویا و به عبارت دیگر پروتئین باقی مانده در کیسه‌ها را تشکیل دادند. زیرواحد اسیدی پروتئین گلیسینین تا زمان ۲۴ ساعت و زیرواحد بازی این پروتئین تا زمان ۴۸ ساعت انکوباسیون تجزیه نشدند. جعفری فروشانی (۲) از طریق تجزیه و تحلیل الکتروفورزی تجزیه پذیری پروتئین کنجاله سویای پرتوتابی نشده نشان داد که زیر واحدهای ά و α بتاکنگلیسینین پس از زمان ۱۲ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای ناپدید شدند. اما زیرواحد β پروتئین بتاکنگلیسینین و زیرواحدهای گلیسینین تا زمان ۴۸ ساعت همچنان وجود داشتند. زیرواحدهای گلیسینین نسبت به زیرواحدهای

بتاکنگلیسینین آهسته‌تر تجزیه شده و قسمت عمده پروتئین عبوری کنجاله سویا را تشکیل می‌دادند. تقی‌نژاد و همکاران (۳۸) با آنالیز الکتروفورزی پروتئین دانه سویای عمل‌آوری نشده نشان دادند که زیرواحدهای $\acute{\alpha}$ و α پروتئین بتاکنگلیسینین پس از ۲ ساعت و زیرواحد β این پروتئین بعد از ۴ ساعت انکوباسیون به‌وسیله میکروارگانیسم‌های شکمبه تقریباً به‌طور کامل تجزیه شدند. زیرواحدهای اسیدی و بازی گلیسینین نسبت به زیرواحدهای پروتئین بتاکنگلیسینین آهسته‌تر تجزیه شده و قسمت عمده پروتئین عبوری دانه سویا را تشکیل دادند. زیرواحد اسیدی پروتئین گلیسینین تا زمان ۸ ساعت و زیرواحد بازی این پروتئین تا زمان ۱۶ ساعت انکوباسیون تجزیه نشدند. در زمان ۸ ساعت انکوباسیون، قسمت عمده زیرواحدهای پروتئین بتاکنگلیسینین و بخش عمده پلی‌پپتیدهای اسیدی و بازی گلیسینین هنوز در ژل مشاهده می‌شد که بیان‌گر تجزیه نشدن آن‌ها در شکمبه بود. چنین نتیجه گرفته شد که هنگامی‌که دانه سویا به‌عنوان مکمل پروتئینی به جیره نشخوارکنندگان استفاده می‌شود، زیرواحدهای اسیدی و بازی پروتئین گلیسینین بخش قابل ملاحظه‌ای از پروتئین قابل متابولیسم را تشکیل می‌دهد.

آهسته‌تر تجزیه شدن گلیسینین نسبت به بتاکنگلیسینین به‌وسیله میکروارگانیسم‌های تجزیه کننده پروتئین در شکمبه، به‌وجود پیوند دی‌سولفیدی و آب‌گریزی این پروتئین مربوط می‌شود (۳۵). اگرچه وجود پیوندهای دی‌سولفیدی سبب کاهش سرعت تجزیه پروتئین می‌شود، ولی وسعت تجزیه شدن آن تحت تاثیر میزان آب‌گریزی پروتئین است. بیان شده است که مقاوم بودن گلیسینین در مقابل تجزیه آنزیمی با ساختمان شیمیایی و فیزیکی آن در ارتباط است. زیرواحدهای اسیدی و بازی گلیسینین با پیوندهای دی‌سولفیدی بین مولکولی به‌هم متصل می‌شوند. علاوه بر این، ارتباطات آب‌گریز درون مولکول و نیز الکترواستاتیک به‌دلیل وجود اسیدهای آمینه اسیدی و بازی سبب پایداری ساختمان و شکل فضایی گلیسینین می‌شوند. دلیل تجزیه شدن سریع پروتئین بتاکنگلیسینین علاوه بر محلول بودن، عدم وجود پیوندهای دی‌سولفیدی در ساختمان این پروتئین است (۱۷ و ۲۸).

در مطالعه حاضر، پرتوهای یون‌ساز گاما و الکترون ناپدید شدن زیرواحدهای پروتئین‌های کنجاله سویا را به تاخیر انداختند. رفتار اشعه گاما و پرتو الکترون در این خصوص مشابه بود. به این ترتیب که در کنجاله سویای عمل‌آوری شده با دز ۲۵ کیلوگری پرتوهای الکترون و گاما، زیرواحدهای پروتئین گلیسینین پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای تجزیه شدند. دزهای ۵۰ و ۷۵ کیلوگری این پرتوها باعث حفظ زیرواحدهای پروتئین بتاکنگلیسینین تا زمان ۱۶ ساعت و حفظ زیرواحدهای گلیسینین تا ۴۸ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای شدند.

شورنگ (۳) مشاهد کرد که در کنجاله سویای عمل آوری شده با دزهای ۲۵، ۵۰ و۷۵ کیلوگری پرتو گاما، زیرواحدهای $\acute{\alpha}$ و α پروتئین بتاکنگلیسینین به ترتیب تا زمان ۸، ۸ و ۱۲ ساعت انکوباسیون و زیرواحد β این پروتئین به ترتیب تا ۱۶، ۴۸ و ۴۸ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای محافظت شدند. همچنین زیرواحدهای اسیدی و بازی پروتئین گلیسینین به طور قابل ملاحظه تحت تأثیر عمل‌آوری پرتوتابی گاما تا زمان ۴۸ انکوباسیون قابل تشخیص بودند. جعفری فروشانی (۲) مشاهده کرد که زیرواحدهای اسیدی و بازی پروتئین گلیسینین کنجاله سویا به‌طور قابل ملاحظه‌ای تحت تاثیر پرتوتابی الکترون تا زمان ۴۸ ساعت، قابل تشخیص بودند که این نسبت به کنجاله سویای پرتوتابی نشده روند بهتری داشت. تقی‌نژاد و همکاران (۳۸) با بررسی الگوی زیرواحدهای پروتئین‌های دانه سویای عمل-آوری شده با دزهای ۱۵، ۳۰ و ۴۵ کیلوگری پرتو گاما نشان داد که زیرواحد β پروتئین کنگلیسینین به‌ترتیب تا ۴، ۴ و ۸ ساعت انکوباسیون محافظت شده در حالی‌که زیرواحدهای $\acute{\alpha}$ و α آن تحت تاثیر پرتوتابی با گاما قرار نگرفته و بعد از ۲ ساعت انکوباسیون ناپدید شدند. پرتوتابی گاما سبب محافظت قابل ملاحظه زیرواحدهای اسیدی و بازی پروتئین گلیسینین شد.

جدول ۳- ناپدید شدن زیرواحدهای پروتئین‌های کنجاله سویای عمل‌آوری نشده در زمان‌های مختلف انکوباسیون شکمبه‌ای

پروتئین	زیرواحد	وزن مولکولی	زمان انکوباسیون (ساعت)						
			۰	۲	٤	۸	١٦	٢٤	٤٨
بتاکنگلیسینین									
	$\acute{\alpha}$	۸۹/۲-۹۲/۴	+	+	+	-	-	-	-
	α	۷۵/۵-۸۲/۵	+	+	+	-	-	-	-
	β	۶۲/۱-۶۶/۵	+	+	+	-	-	-	-
گلیسینین									
	اسیدی	۳۳/۴-۴۹	+	+	+	+	+	-	-
	بازی	۲۳/۵-۳۰/۵	+	+	+	+	+	-	-

+: حضور زیرواحد در زمان انکوباسیون مشخص

-: عدم حضور زیرواحد در زمان انکوباسیون مشخص

جدول ٤- ناپدید شدن زیرواحدهای پروتئین‌های کنجاله سویای عمل‌آوری شده با پرتو الکترون در زمان‌های مختلف انکوباسیون شکمبه‌ای

پروتئین	دز پرتو (کیلوگری)	زیرواحد	زمان انکوباسیون (ساعت)						
			۰	۲	٤	۸	۱٦	۲٤	٤۸
بتاکنگلیسینین									
	۲۵	ά	+	+	+	−	−	−	−
		α	+	+	+	−	−	−	−
		β	+	+	+	−	−	−	−
	۵۰	ά	+	+	+	+	+	−	−
		α	+	+	+	+	+	−	−
		β	+	+	+	+	+	−	−
	۷۵	ά	+	+	+	+	+	−	−
		α	+	+	+	+	+	−	−
		β	+	+	+	+	+	−	−
گلیسینین									
	۲۵	اسیدی	+	+	+	+	+	+	−
		بازی	+	+	+	+	+	+	−
	۵۰	اسیدی	+	+	+	+	+	+	+
		بازی	+	+	+	+	+	+	+
	۷۵	اسیدی	+	+	+	+	+	+	+
		بازی	+	+	+	+	+	+	+

+: حضور زیرواحد در زمان انکوباسیون مشخص

−: عدم حضور زیرواحد در زمان انکوباسیون مشخص

جدول ۵- ناپدید شدن زیرواحدهای پروتئین‌های کنجاله سویای عمل‌آوری شده با پرتو گاما در زمان‌های مختلف انکوباسیون شکمبه‌ای

پروتئین	دز پرتو (کیلوگری)	زیرواحد	زمان انکوباسیون (ساعت)						
			۰	۲	٤	۸	۱٦	۲٤	٤۸
بتاکنگلیسینین									
	۲۵	ά	+	+	+	−	−	−	−
		α	+	+	+	−	−	−	−
		β	+	+	+	−	−	−	−
	۵۰	ά	+	+	+	+	+	−	−
		α	+	+	+	+	+	−	−
		β	+	+	+	+	+	−	−
	۷۵	ά	+	+	+	+	+	−	−
		α	+	+	+	+	+	−	−
		β	+	+	+	+	+	−	−
گلیسینین									
	۲۵	اسیدی	+	+	+	+	+	+	−
		بازی	+	+	+	+	+	+	−
	۵۰	اسیدی	+	+	+	+	+	+	+
		بازی	+	+	+	+	+	+	+
	۷۵	اسیدی	+	+	+	+	+	+	+
		بازی	+	+	+	+	+	+	+

+: حضور زیرواحد در زمان انکوباسیون مشخص

−: عدم حضور زیرواحد در زمان انکوباسیون مشخص

پرتوهای یون‌ساز باعث متراکم شدن و به‌هم چسبیده‌شدن پروتئین‌ها می‌شوند (۸). رسوانی و همکاران (۳۱) نشان دادند که پرتوتابی گامای پروتئین سویا در دز ۳۲ کیلوگری، وزن مولکولی پروتئین را از ۶۰ به ۲۰۰۰ کیلودالتون افزایش داد. پیوند عرضی منجر به تشکیل پیوندهای شیمیایی بین دو مولکول پروتئین همجوار می‌شود. در این حالت اثر متقابل پروتئین–پروتئین افزایش یافته و در مقابل واکنش بین آب با مولکول پروتئین کاهش می‌یابد. پروتئین‌های با پیوند عرضی آب‌گریز بوده که این باعث می‌شود از شکمبه عبور کرده و وارد روده شوند (۳۷).

نتیجه گیری

پرتوتابی باعث کاهش تجزیه شکمبه‌ای پروتئین کنجاله سویا شد. توانایی اشعه گاما در کاهش تجزیه پذیری پروتئین خام و اسیدهای آمینه بیشتر از پرتو الکترون بود. الگوی الکتروفورزی کنجاله سویای پرتوتابی نشده نشان داد که زیرواحدهای پروتئین بتاکنگلیسینین این کنجاله پروتئینی نسبت به زیرواحدهای گلیسینین آن با سرعت بیشتری در شکمبه تجزیه می‌شوند. به‌عبارت دیگر بخش بیشتر پروتئین عبوری کنجاله سویا را گلیسینین تشکیل داده است. عمل‌آوری پرتوتابی در کاهش تجزیه پذیری زیرواحدهای پروتئین بتاکنگلیسینین موفق بود.

منابع

۱- تقی‌نژاد رودبنه، م. ۱۳۸۸. مطالعه اثرات فرآیندهای فیزیکی (پرتوتابی گاما، میکروویو و تف دادن) بر روند تجزیه‌پذیری و قابلیت هضم پروتئین دانه سویا و پنبه‌دانه. رساله دکتری علوم دامی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات. ۱۲۶ صفحه.

۲- جعفری‌فروشانی، م. ۱۳۸۹. اثر پرتوتابی تابش الکترون بر تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام کنجاله‌های سویا و کانولا و عملکرد گاوهای شیری هلشتاین. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه صنعتی اصفهان. ۷۰ صفحه.

۳- شورنگ، پ. ۱۳۸۵. مطالعه اثرات پرتوتابی روی ناپدید شدن شکمبه‌ای و پس‌شکمبه‌ای پروتئین بعضی مواد خوراکی با استفاده از تکنیک‌های کیسه‌های نایلونی و الکتروفورز ژل پلی‌آکریلامید. رساله دکتری عاوم دامی دانشگاه تهران. ۱۶۴ صفحه.

4- Alobeid, H., C. Dragomir, I. Stoica, and P. Smaranda. 2008. Effect of heat treatment duration on ruminal degradation and digestibility of whole nonlinted cottonseeds. Archiva Zootechnica. 11: 41-48.

5- ASTM. 1984. Method for using the Fricke dosimeter to measure absorbed dose in water. ASTM Standard E 1026.

6- Borucki Castro, S. I., L. E. Phillip, H. Lapierre, P. W. Jardon, and R. Berthiaume. 2007. Ruminal degradability and intestinal digestibility of protein and amino acids in treated soybean meal products. J. Dairy Sci. 90: 810-822.

7- Choi, J. I., J. H. Kim, K. W. Lee, B. S. Song, Y. Yoon, M. W. Byun, and J. W. Lee. 2009. Comparison of gamma ray and electron beam irradiations on the degradation of carboxymethylcellulose. Korean J. Chem. Eng. 26: 1825-1828.

8- Ciesla, K., Y. Roos, and W. Gluszewski. 2000. Denaturation processes in gamma irradiated proteins studied by differential scanning calorimetry. Radiat. Phys. Chem. 58: 233-243.

9- Ebrahimi, S. R., A. Nikkhah, A. A. Sadeghi, and G. Raisali. 2009. Chemical composition, secondry compounds, ruminal degradation and in vitro crude protein digestibility of gamma irradiated canola seed. Anim. Feed Sci. Technol. 151: 184-193.

10- 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.

11- Farkas, J. 1998. Irradiation as a method for decontaminating food. A review. Int. J. Food Microbiol. 44: 189-204.

12- Fathi Nasri, M. H., J. France, M. Danesh Mesgaran, and E. Kebreab. 2008. Effect of heat processing on ruminal degradability and intestinal disappearance of nitrogen and amino acids in Iranian whole soybean. Livest Sci. 113: 43-51.

13- Gaber, M. H. 2005. Effect of g-irradiation on the molecular properties of bovine serum albumin. J. Biosci. Bioeng. 100: 203-206.

14- Garrison, W. M. 1987. Reaction mechanism in the radiolysis of peptides, polypeptides, and proteins. Chem. Rev. 87: 381-398.

15- Ghanbari, F., T. Ghoorchi, P. Shawrang, H. Mansouri, and N. M. Torbati-Nejad. 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. Radiat. Phys. Chem. 81: 572-578.

16- Gulati, S. K., M. R. Garg, and T. W. Scott. 2005. Rumen protected protein and fat produced from oilseeds and/or meals by formaldehyde treatment; their role in ruminant production and product quality; a review. Aust. J. Exp. Agr. 45: 1189-1203.

17- Hill, J. E. and R. W. Breidenbach. 2003. Proteins of soybean seeds. Accumulation of the major protein components during seed development and maturation. Plant Physiol. 53:, 742-746.
18- Hyun-Joo, K., H. Jun-Sang, L. Ju-Woon, K. Keehyuk, H. Sang-Do, and J. Cheorun. 2010. Effects of gamma and electron beam irradiation on the survival of pathogens inoculated into sliced and pizza cheeses. Radiat. Phys. Chem. 79: 731-734.
19- Jiang, B., Z. Wu, H. Zhao, F. Tang, J. Lu, Q. Wei, and X. Zhang. 2006. Electron beam irradiation modification of collagen membrane. Biomater. 27: 15-23.
20- Laemmli, U. K. 1970. Cleavage structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature. 227: 680-688.
21- Lee Maire, M., L. Thauvette, B. De Foresta, A. Viel, G. Beauregard, and M. Potier. 1990. Effects of ionizing radiations on proteins. Biochem. J. 267: 431-439.
22- Lee, J. W., J. H. Kim, H. S. Yook, K. O. Kang, S. Y. Lee, H. J. Hwang, and M. W. Byun. 2001. Effect of gamma irradiation on the allergenic and antigenic properties of milk proteins. J. Food Prot. 64: 272-276.
23- Lee, S. L., M. S. Lee, and K. B. Song. 2005. Effect of gamma-irradiation on the physicochemical properties of gluten films. Food Chem. 92: 621-625.
24- Mani, V. and P. Chandra. 2003. Effect of feeding irradiated soybean on nutrient intake, digestibility and N-balance in goats. Small. Rum. Res. 48: 77-81.
25- Maxin, G., D. R. Ouellet, and H. Lapierre. 2013. Ruminal degradability of dry matter, crude protein, and amino acids in soybean meal, canola meal, corn, and wheat dried distillers grains. J. Dairy Sci. 96: 5151-5160.
26- Moshtaghi Nia, S. A. and J. R. Ingalls. 1995. Influence of moist heat treatment on ruminal and intestinal disappearance of amino acid from canola meal. J. Dairy Sci. 78: 1552-1560.
27- Mostafa, M. M. 1987. Nutritional aspects of thermal and irradiation processing of peanut kernels and their oil. Food Chem. 26: 31-45.
28- Mujoo, R. and D. Trinh. 2003. Characterization of storage proteins in different soybean varieties and their relationship to tofu yield and texture. Food Chem. 82: 265-273.
29- National Research Council. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle, seventh revised ed. National Academy of Sciences, Washington, D.C.
30- Orskov, E. R., and I. McDonald.1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rumenrate of passage. J. Agric. Sci. Camb. 92: 499-503.
31- Ressouany, M., C. Vachon, and M. Lacroix. 1998. Irradiation dose and calcium effect on the mechanical properties of cross-linked caseinate films. J. Agric. Food Chem.46: 1618-1623.
32- Sadeghi, A. A., A. Nikkhah, P. Shawrang, and M. M. Shahrebabak. 2006. Protein degradation kinetics of untreated and treated soybean meal using SDS-PAGE. Anim. Feed Sci. Technol. 126: 121-133.
33- SAS. 2003. SAS User's Guide: Statistics, Version 9.1 Edition.SAS Institute, Cary, NC, USA.
34- Shawrang, P., A. Nikkhah, A. Zare-Shahneh, A. A. Sadeghi, G. Raisali, G. and M. M. Moradi-Shahrbabak. 2008. Effects of gamma irradiation on chemical composition and ruminal protein degradation of canola meal. Radiat. Phys. Chem. 77: 918-922.
35- Shawrang, P., A. Nikkhah, A. Zare-Shahneh, A. A. Sadeghi, G. Raisali, and M. M. Moradi-Shahrbabak. 2007. Effects of gamma irradiation on protein degradation of soybean meal in the rumen. Anim. Feed Sci. Technol. 134: 140-151.
36- Siddhuraju, P., H. P. S. Makkar, and K. Becker. 2002. The effect of ionizing radiation on antinutritional factors and the nutritional value of plant materials with reference to human and animal food. Food Chem. 78: 187-205.
37- Taghinejad- Roudbaneh, M., S. R. Ebrahimi, S Azizi, and P. Shawrang. 2010. Effect of electron beam irradiation on chemical composition, antinutritional factors, ruminal degradation and in vitro protein digestibility of canola meal. Radiat. Phys. Chem. 79: 1264-1269.
38- Taghinejad, M., A. Nikkhah, A. A. Sadeghi, G. Raisali, and M. Chamani. 2009. Effects of gamma irradiation on chemical composition, antinutritional factors, ruminal degradation and *in vitro* protein degradability of full-fat soybean. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 22: 534-541.
39- Tuncer, S. D and P. Sacakli. 2003. Rumen degradability characteristics of xylose treated canola and soybean meals. Anim. Feed Sci. Technol. 107: 211-218.
40- Wright, C. F., M. A. G. Von Keyserlingk, M. L. Swift, and L. J. Fisher. 2005. Heat and lignosulfonate-treated canola meal as a source of ruminal undegradable protein for lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 88: 238-243.
41- Yoruk, M. A., T. Aksu, M. Gul, and D. Bolat. 2006. The effect of soybean meal treated with formaldehyde on amount of protein in the rumen and absorption of amino acid from small intestines. Turk. J. Vet. Anim. Sci. 30: 457-463.