

ترکیبات ضد تغذیه‌ای و تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام دانه منداب بومی عمل‌آوری شده با پرتو گاما و میکروویو

سیدروح اله ابراهیمی محمودآباد^{1*} - علی نیکخواه² - علی اصغر صادقی³

تاریخ دریافت: 1394/3/10

تاریخ پذیرش: 1394/7/21

چکیده

این آزمایش به منظور مطالعه و مقایسه اثرات پرتو گاما (15، 30 و 45 کیلوگری) و میکروویو (2، 4 و 6 دقیقه با قدرت 800 وات) بر گلوکوسینولات‌ها، اسید فایتیک، ترکیبات شیمیایی، تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک و پروتئین خام و قابلیت هضم برون‌تنی پروتئین خام دانه منداب بومی انجام شد. میزان تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام به روش کیسه‌های نایلونی با استفاده از سه رأس گاو نر تالشی اندازه‌گیری شد. قابلیت هضم برون‌تنی پروتئین خام به روش آنزیمی سه مرحله‌ای و اثرات پرتو گاما و میکروویو بر نحوه تجزیه شدن پروتئین حقیقی در زمان‌های مختلف انکوباسیون در شکمبه با روش الکتروفورز تعیین شد. عمل‌آوری با پرتو گاما و میکروویو سبب کاهش اسید فایتیک و گلوکوسینولات‌ها، کاهش بخش سریع تجزیه، نرخ ثابت تجزیه و تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک و افزایش بخش کند تجزیه ماده خشک و پروتئین خام دانه منداب بومی گردید. پرتوتابی در دزهای 30 و 45 کیلوگری سبب افزایش قابلیت هضم برون‌تنی پروتئین خام شد. الکتروفورز پروتئین‌های دانه منداب بومی نشان داد که عمده پروتئین در آنها شامل ناپین با دو زیر واحد و کروسیفیرین با چهار زیر واحد بود. تجزیه‌های الکتروفورز پروتئین نشان دادند که عمل‌آوری شده با پرتو گاما و میکروویو سبب افزایش پروتئین عبوری دانه منداب بومی شد. نتایج این پژوهش نشان داد که پرتو گاما در دزهای بیشتر از 15 کیلوگری و عمل‌آوری با میکروویو بیش از 2 دقیقه سبب کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین خام، افزایش قابلیت هضم برون‌تنی پروتئین خام و کاهش مقدار اسید فایتیک و گلوکوسینولات‌های دانه منداب بومی شد.

واژه‌های کلیدی: پرتو گاما، پرتو میکروویو، تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای، دانه منداب، مواد ضد تغذیه‌ای.

مقدمه

گلوکوسینولات‌ها، ترکیبات حاوی گوگرد، نوعی متابولیت ثانویه گیاهان بوده و از نظر بیولوژیکی غیر فعال بوده ولی محصولات حاصل از تجزیه آنزیمی آنها فعالیت بیولوژیکی دارند. مصرف این ترکیبات سبب کاهش مصرف خوراک، کاهش باروری و کاهش تولید شیر در گاوهای شیری (1) و کاهش وزن میش‌های شیری در زمان آبستنی (35) می‌شود. اسید فایتیک، هگزا فسفات میو اینوزیتول، با عناصر دو و سه ظرفیتی مانند کلسیم، منیزیم، روی، مس و آهن پیوند داده و فراهمی آنها را در روده کوچک کاهش می‌دهد. همچنین، اسید فایتیک با اسیدهای آمینه پیوند داده و با تشکیل ترکیبات نامحلول قابلیت هضم اسیدهای آمینه را در روده کوچک کاهش می‌دهد (4، 49 و 57).

از روش‌های حرارتی برای کاهش مواد ضد تغذیه‌ای و تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین خام مواد خوراکی استفاده شده است (6، 14، 20، 21 و 40). متأسفانه با استفاده از دماهای بالا در روش‌های حرارتی کمپلکس پروتئین-کربوهیدرات و کمپلکس پروتئین-پروتئین

منداب بومی از دانه‌های روغنی است که در برخی نقاط ایران به دلیل شرایط اقلیمی و مقاومت در برابر آفات کشت می‌شود. این دانه دارای مواد ضد تغذیه‌ای مانند گلوکوسینولات‌ها و اسید فایتیک است که سبب محدودیت مصرف آن در جیره دام و طیور می‌شوند (21 و 57). همچنین، این دانه علی‌رغم ترکیب اسیدهای آمینه مناسب، به جهت تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای زیاد، بخش زیادی از پروتئین آن در شکمبه تجزیه شده و ارزش غذایی آن کاهش می‌یابد. بنابراین افزایش پروتئین عبوری این دانه روغنی از اهمیت ویژه‌ای در گاوهای شیری پرتولید برخوردار است.

1 - گروه علوم دامی، واحد شهرقدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران،
2 و 3 - استاد و دانشیار گروه علوم دامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
* - نویسنده مسئول: (Email: ebrahimiyaad@yahoo.com)

عمل‌آوری با پرتو گاما و میکروویو

پس از تعیین ماده خشک، رطوبت ماده خوراکی به 25 درصد رسانده شد. نمونه‌های ماده خوراکی در پژوهش‌کده کاربرد پرتوها وابسته به سازمان انرژی اتمی، با دزهای 15، 30 و 45 کیلوگری در معرض پرتو گاما قرار گرفتند. پرتو گاما با آهنگ متوسط 0/36 گری در ثانیه در دمای 20 درجه سانتی‌گراد توسط پرتودهنده تحقیقاتی گاما سل 220 به نمونه‌ها تابانده شد. برای تعیین زمان پرتودهی و دز جذب شده ماده مورد پرتودهی، تنظیم زمان پرتودهی در اتاقک با به کارگیری سیستم دزیمتر شیمیایی مرجع فریک، بر اساس استاندارد ASTM E1026-95 انجام شد. با توجه به توزیع دز در میدان پرتودهی و تضعیف پرتوها در داخل نمونه، شرایط پرتودهی به گونه‌ای تنظیم شد تا دقت دز داده شده به نمونه‌ها همواره با خطای کمتر از 10 درصد باشد. مقدار 500 گرم نمونه از ماده خوراکی با استفاده از دستگاه میکروویو خانگی با قدرت 800 وات به مدت 2، 4 و 6 دقیقه در معرض امواج میکروویو قرار گرفتند. نمونه‌های مواد خوراکی از میکروویو خارج و در سینی قرار داده شد تا پس از خشک شدن به کیسه‌های پلاستیکی منتقل شوند.

تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام

تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین با استفاده از روش ارسکوف و مکدونالد (43) اندازه‌گیری شد. در این روش، ابتدا دانه‌ها با الک 2 میلی‌متری آسیاب شدند. مقدار 6 گرم نمونه ماده خوراکی عمل‌آوری شده با دزهای مختلف به مدت صفر، 2، 4، 8، 16، 24 و 48 ساعت در شکمبه سه رأس گاو نر نژاد تالشی دارای فیستولای شکمبه با میانگین وزن 416 ± 18 کیلوگرم شکمبه گذاری شد. گاوها با جیره حاوی 70 درصد علوفه (یونجه خشک و کاه گندم به نسبت 70 به 30) و 30 درصد کنسانتره (53 درصد آرد جو، 13 درصد کنجاله کانولا، 16 درصد دانه منداب بومی، 4 درصد کنجاله پنبه دانه، 12 درصد سبوس گندم، 1 درصد کربنات کلسیم و 1 درصد مکمل مواد معدنی و ویتامینی) به مقدار 8 کیلوگرم ماده خشک در روز به صورت جیره کاملاً مخلوط در دو نوبت صبح و عصر دو هفته قبل و طی دوره آزمایش تغذیه شدند. گاوها در جایگاه‌های انفرادی نگهداری و دسترسی آزاد به آب و بلوک‌های لیسیدنی نمک داشتند. پس از سپری شدن زمان انکوباسیون، کیسه‌های حاوی مواد باقیمانده از داخل شکمبه خارج و بلافاصله با آب شستشو داده شدند. پس از خشک کردن، اختلاف وزن محتویات کیسه‌ها قبل و بعد از شستشو به عنوان مقدار ناپدید شدن ماده خشک در زمان صفر در نظر گرفته شد. مقدار پروتئین خام و ماده خشک باقیمانده‌های داخل کیسه‌ها برای تعیین روند تجزیه‌پذیری ماده خوراکی اندازه‌گیری شد.

(واکنش میلارد) تشکیل شده و قابلیت هضم پروتئین در روده کوچک کاهش می‌یابد. همچنین روش‌های حرارتی سبب از بین رفتن برخی از اسیدهای آمینه خوراک می‌شوند (14، 20، 39 و 57). سایر روش‌های عمل‌آوری مواد خوراکی شامل پرتو گاما و میکروویو هستند که اخیراً مورد توجه قرار گرفته‌اند (9، 18، 47 و 52).

پرتو گاما از جمله پرتوهای یون ساز است، به نحوی که عمل‌آوری مواد خوراکی با این پرتو بدون افزایش دما، آسیب به مواد غذایی مثل پروتئین‌ها و ایجاد فرآورده‌های غیر قابل هضم مانند فرآورده‌های میلارد و حذف آلودگی‌های قارچی و باکتریایی صورت می‌گیرد (34).

امواج کوتاه مانند امواج نور یا امواج رادیویی، قسمتی از طیف الکترومغناطیس انرژی است که دو میدان الکتریکی و مغناطیسی دارند و به آنها اجازه اعمال فشار بر بارهای الکتریکی و قطب‌های مغناطیسی به طور همزمان می‌دهد. هر چه طول موج کمتر باشد انرژی بیشتری توسط موج منتقل می‌شود (19 و 42). میکروویو فرکانس مناسبی برای واکنش نشان دادن با مولکول‌های آب و گرم کردن مواد خوراکی دارد. آب به دلیل داشتن طبیعت دوقطبی، مولکول اصلی تحت تأثیر امواج الکترومغناطیس است. وقتی امواج الکترومغناطیس به ماده خوراکی یا غذا برخورد می‌کند، مولکول‌های آب به شدت شروع به چرخیدن می‌کند که سبب زیاد شدن برخورد مولکول‌ها و تولید گرما در سطح و درون غذا به صورت یکسان می‌شود. این امواج به درون ماده خوراکی نفوذ می‌کند و سبب گرم شدن یکنواخت مواد غذایی می‌شوند. در این فرآیند زمان لازم برای عمل‌آوری مواد خوراکی نسبت به روش‌های دیگر که گرما از سطح به درون غذا باید نفوذ کند، کمتر است (36). به دلیل تبدیل شدن کامل انرژی الکترومغناطیس به حرارت، بازده این روش نزدیک به 100 درصد است (42).

تاکنون اثرات عمل‌آوری با پرتو گاما و میکروویو بر مواد ضد تغذیه‌ای (گلوکوسینولات‌ها و اسید فایتیک)، ترکیبات شیمیایی و روند تجزیه‌پذیری دانه منداب بومی مطالعه نشده است؛ بنابراین اهداف این آزمایش بررسی اثرات عمل‌آوری با پرتو گاما و میکروویو بر مقدار اسید فایتیک، گلوکوسینولات‌ها، ترکیبات شیمیایی، تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام، قابلیت هضم برون‌تنی پروتئین خام و نحوه تجزیه شدن خام دانه منداب بومی در شکمبه با روش الکتروفورز¹ SDS-PAGE بود.

مواد و روش‌ها

1-Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis

قابلیت هضم برون‌تنی پروتئین خام

قابلیت هضم برون‌تنی پروتئین به روش سه مرحله‌ای کالسامیگیا و استرن (10) اندازه‌گیری شد. کیسه‌های حاوی نمونه‌های ماده خوراکی به مدت 16 ساعت در شکمبه نگهداری و باقیمانده هضم نشده شکمبه‌ای (تقریباً حاوی 15 میلی‌گرم نیتروژن) به مدت 1 ساعت در 10 میلی‌لیتر محلول اسید کلریدریک 0/1 نرمال که حاوی 1 گرم پپسین در هر لیتر بود، انکوباسیون شد. سپس pH مخلوط با 0/5 میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم 1 نرمال و 13/5 میلی‌لیتر بافر فسفات با pH 7/8 خنثی شد. سپس 37/5 میلی‌گرم پانکراتین به مخلوط اضافه و به مدت 24 ساعت در دمای 38 درجه سانتی‌گراد انکوباسیون شد. سپس پروتئین‌های هضم نشده با محلول اسید تری کلرو استیک رسوب داده شد. مخلوط به مدت 15 دقیقه (10000 × g) در دمای اتاق سانتریفیوژ شد و محلول بالائی برای تجزیه نیتروژن جدا شد. قابلیت هضم پروتئین به صورت نیتروژن محلول در اسید تری کلرو استیک تقسیم بر مقدار نیتروژن در نمونه (مواد باقیمانده در کیسه‌های نایلونی) اندازه‌گیری شد (10).

ترکیبات شیمیایی، اسید فایتیک و گلوکوسینولات‌ها

ترکیبات شیمیایی ماده خوراکی شامل ماده خشک، پروتئین خام، عصاره اتری و خاکستر با روش‌های استاندارد آزمایشگاهی (5) و ایف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی طبق روش ون سوئست و همکاران (56) تعیین شد. اسید فایتیک با استفاده از روش دبولند و همکاران (15) اندازه‌گیری شد. گلوکوسینولات‌ها به روش اسپکتروفوتومتری اندازه‌گیری شد (13).

الکتروفورز پروتئین

برای تعیین وضعیت زیر واحدهای پروتئین ماده خوراکی، از تکنیک الکتروفورز ژل پلی‌اکریلامید به روش لاملی (30) استفاده شد. برای استخراج پروتئین حقیقی مقدار 15 میلی‌گرم نمونه‌های عمل‌آوری نشده، پرتوتابی و یا انکوباسیون شده در ساعات مختلف در شکمبه به درون لوله‌های ایندورف منتقل شد. سپس 750 میکرولیتر بافر استخراج حاوی 0/625 مولار Tris-HCl (pH=6/8)، 10 درصد سدیم دودسیل سولفات (SDS)، 2/5 درصد بتا مرکاپتو اتانول، 7 درصد گلیسرول، 4 میلی‌گرم بروموفنل بلو اضافه شد. پس از 30 دقیقه به هم زدن بر روی همزن مخصوص لوله ایندورف در دمای 4 درجه سانتی‌گراد، پروتئین نمونه‌ها استخراج و پس از قرار دادن در آب 95 درجه سانتی‌گراد به مدت 3 دقیقه و سانتریفیوژ در دمای اتاق به مدت 1 دقیقه (10000 × g) مایع صاف شده بالائی جدا شد. مایع بالائی به لوله‌های ایندورف منتقل و برای انجام الکتروفورز استفاده شد (لاملی، 1970). از دستگاه الکتروفورز عمودی مدل TV400 برای

الکتروفورز استفاده شد. از مارکر پروتئینی فرمنتاز¹ حاوی بتاگلوکوزیداز (116 کیلودالتون)، آلبومین سرم گاوی (66/0 کیلودالتون)، آلبومین (45 کیلودالتون)، لاکتات دهیدروژناز (35 کیلودالتون)، آندونوکلئاز (25 کیلودالتون)، بتالاکتوگلوبولین (18/4 کیلودالتون) و لیزوزیم (14/4 کیلودالتون) برای تعیین وزن مولکولی زیرواحدهای پروتئین ماده خوراکی استفاده شد. برای تعیین وزن مولکولی زیر واحدهای پروتئینی از نرم افزار Phopto Capture (44) استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

فراسنجه‌های مختلف تجزیه‌پذیری و تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک و پروتئین خام با استفاده از بسته نرم افزاری Fit Curve و رابطه (1) محاسبه شد.

$$ED = a + b / (c + k) \quad (1)$$

در این دو رابطه a بخش سریع تجزیه، b بخش کند تجزیه، c نرخ ثابت تجزیه در واحد زمان، k سرعت عبور و ED تجزیه‌پذیری مؤثر است. با به کار بردن رابطه 1 تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک و پروتئین خام در نرخ‌های عبور 2، 5 و 8 درصد در ساعت محاسبه شد. آزمایش تجزیه‌پذیری و قابلیت هضم در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی با شش تکرار (سه حیوان × دو کیسه برای هر زمان انکوباسیون در هر گاو) انجام شد. به منظور تعیین اثر دزهای مختلف پرتو گاما و میکروویو بر مواد ضد تغذیه‌ای (گلوکوسینولات و اسید فایتیک) و ترکیبات شیمیایی ماده خوراکی آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS (46) و رویه GLM صورت گرفت. میانگین‌ها با آزمون کم‌ترین اختلاف معنی‌دار مقایسه شدند.

نتایج و بحث

اثرات پرتو گاما و میکروویو بر ترکیبات شیمیایی و مواد ضد تغذیه‌ای دانه منداب

اثرات پرتو گاما و میکروویو بر ترکیبات شیمیایی و مواد ضد تغذیه‌ای دانه منداب در جدول 1 نشان داده شده است. عمل‌آوری با پرتو گاما و میکروویو اثر معنی‌داری بر ترکیبات شیمیایی دانه منداب بومی نداشت که با نتایج آزمایش‌های سایر محققین هماهنگی دارد (18، 47 و 51). پرتو گاما و میکروویو سبب کاهش اسید فایتیک و مقدار گلوکوسینولات‌های دانه منداب بومی شد ($P < 0/05$). پرتو گاما در کاهش اسید فایتیک دانه منداب موثرتر از پرتو میکروویو بود. پرتوتابی گاما سبب کاهش اسید فایتیک به میزان 33، 86 و 88 درصد

میزان 55 و 59 درصد نسبت به دانه عمل آوری نشده شد. اهلیین و همکاران (1) گزارش که مصرف زیاد کنجاله منداب با مقدار کم گلوکوسینولات در جیره گاو شیری سبب کاهش مصرف خوراک، کاهش تولید شیر، کاهش باروری و اختلال در غده تیروئید شد. جیره دارای گلوکوسینولات به مقدار 31 میکرومول در هر گرم ماده خشک جیره و یا مصرف روزانه 44 میلی‌مول گلوکوسینولات به ازای هر گاو شیری سبب اختلال در غده تیروئید شد که کاهش باروری، افزایش روزهای باز، افزایش فاصله گوساله‌زائی، افزایش تعداد تلقیح به ازای هر آبستنی و افزایش تعداد تخمدان‌های کیستی را به دنبال داشت. بنابراین، دانه منداب عمل آوری شده با پرتو گاما و میکروویو را می‌توان با مقادیر بالاتری در جیره گاو شیری استفاده کرد. هرچند نحوه کاهش گلوکوسینولات‌ها با پرتو دهی مشخص نشده است؛ اما به نظر می‌رسد پرتو گاما با تجزیه گلوکوسینولات‌ها به ویژه پروگوتیرین (57) و عمل آوری با میکروویو با تجزیه گلوکوسینولات‌ها و حذف محصولات حاصل از تجزیه آنها بویژه ایزوتیوسیانات‌ها و اسکازولیدین تیون (29 و 41) سبب کاهش گلوکوسینولات‌ها شدند.

اثرات پرتو گاما و میکروویو بر فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری و قابلیت هضم پروتئین خام

اثرات پرتو گاما و میکروویو بر فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام دانه منداب بومی در جدول 2 گزارش شده است. تجزیه‌پذیری بالقوه ($a+b$) ماده خشک و پروتئین خام دانه منداب بومی عمل آوری نشده در مطالعه حاضر به ترتیب 887 و 948 گرم در کیلوگرم بود که بیانگر زیاد بودن تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای دانه منداب بومی است. مقادیر تجزیه‌پذیری مؤثر پروتئین خام در سرعت عبور 5 و 8 درصد در ساعت برابر با 735 و 667 گرم در کیلوگرم بود که با نتایج آزمایش‌های گونزالز و همکاران (28) هماهنگی دارد؛ ولی مقدار بخش سریع تجزیه پروتئین خام گزارش شده در آزمایش حاضر زیادتر از مقدار گزارش شده توسط آذرفر و همکاران (6) است که می‌توان به اندازه کمتر منافذ کیسه‌ها (40 میکرومتر) و اندازه بزرگ‌تر نمونه‌ها (3 میلی‌متر) در آزمایش آنها ارتباط داد. مقایسه بین فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام دانه کانولا (17) و بومی نشان می‌دهد که نرخ ثابت تجزیه بخش کند تجزیه ماده خشک دانه منداب بومی کمتر از نرخ ثابت تجزیه بخش کند تجزیه ماده خشک دانه کانولا بود که به میزان فیبر بالاتر در دانه منداب بومی ارتباط پیدا می‌کند.

پرتو گاما تا دز 15 کیلوگری اثر معنی‌داری بر بخش سریع تجزیه و بخش کند تجزیه ماده خشک و پروتئین خام نداشت؛ ولی پرتوتابی در دزهای بالاتر سبب کاهش بخش سریع تجزیه و افزایش بخش کند تجزیه ماده خشک و پروتئین خام شد ($P<0/05$) که با نتایج آزمایش‌های ابراهیمی و همکاران (17) هماهنگی دارد.

به ترتیب در دزهای 15، 30 و 45 کیلوگری شد که با نتایج آزمایش‌های بات و همکاران (9) و ابراهیمی و همکاران (17) هماهنگی دارد؛ ولی درصد کاهش اسید فایتیک دانه منداب بومی عمل آوری شده با پرتو گاما بیشتر از مقادیر گزارش شده توسط الکیسی و همکاران (3) بود. این تفاوت بین نتایج پژوهش حاضر و سایر مطالعات به متفاوت بودن دز پرتو دهی، درصد رطوبت نمونه‌ها و شرایط پرتو دهی مربوط است.

عمل آوری با میکروویو به مدت 2، 4 و 6 دقیقه سبب کاهش اسید فایتیک دانه منداب به ترتیب به میزان 21، 49 و 62 درصد نسبت به دانه عمل آوری نشده شد ($P<0/05$). ابراهیمی و همکاران (18) گزارش کردند که عمل آوری با میکروویو به مدت 4 و 6 دقیقه سبب کاهش اسید فایتیک دانه کانولا به میزان 28 و 49 درصد نسبت به دانه عمل آوری نشده شد. همچنین، مبارک (37) گزارش کرد که عمل آوری لوبیا با میکروویو به مدت 15 دقیقه با قدرت 2450 مگاواتر، سبب کاهش مقدار اسید فایتیک لوبیا شد.

اسید فایتیک با مواد معدنی و اسیدهای آمینه پیوند داده و با تشکیل ترکیبات نامحلول، زیست‌فراهمی مواد معدنی کم‌نیاز و قابلیت هضم اسیدهای آمینه را در روده کوچک کاهش می‌دهد (3 و 49). پرتوتابی با تجزیه شیمیایی فیتات به اینوزیتول فسفات‌های با گروه‌های فسفر کمتر و یا با شکاف حلقه فیتات سبب کاهش مقدار اسید فایتیک می‌شود (11، 16 و 49).

پرتوتابی گاما تا 30 کیلوگری به طور معنی‌دار سبب کاهش ($P<0/05$) گلوکوسینولات‌های دانه منداب بومی شده با دزهای 15، 30 و 45 کیلوگری به ترتیب به میزان 32، 51 و 58 درصد نسبت به دانه منداب بومی عمل آوری نشده کاهش یافت. کاهش در مقدار گلوکوسینولات‌های دانه منداب بومی پس از عمل آوری با پرتو گاما بیشتر از مطالعه زب (57) و کمتر از مطالعه قره‌خوانی و همکاران (27) است که این تفاوت به دز پرتو دهی، روش اندازه‌گیری گلوکوسینولات و میزان رطوبت ماده خوراکی مربوط می‌باشد. عمل آوری با میکروویو به مدت 2، 4 و 6 دقیقه سبب کاهش مقدار گلوکوسینولات‌های دانه منداب به ترتیب به میزان 35، 52 و 64 درصد نسبت به دانه عمل آوری نشده شد که با نتایج مطالعه‌های والجو و همکاران (54) و ابراهیمی و همکاران (18) هماهنگی دارد. تجزیه گلوکوسینولات‌ها با افزایش مدت زمان عمل آوری با میکروویو کاهش یافت. والجو و همکاران (54) گزارش کردند که عمل آوری کلم (15 درصد رطوبت) با میکروویو به مدت 5 دقیقه با قدرت 1000 وات سبب تجزیه گلوکوسینولات‌ها به میزان 74 درصد شد. همچنین ابراهیمی و همکاران (18) گزارش کردند که عمل آوری با میکروویو به مدت 4 و 6 دقیقه سبب کاهش گلوکوسینولات‌های دانه کانولا به ترتیب به

جدول ۱- اثر پرتو گاما و میکروویو بر میانگین ترکیبات شیمیایی و مواد ضدتغذیه‌ای دانه منداب بومی^۱
Table 1- Effects of gamma and microwave irradiation on chemical composition and anti-nutritional factors of native rapeseed¹

ترکیبات شیمیایی و مواد ضدتغذیه‌ای Chemical composition and anti-nutritional factors	دانه عمل‌آوری نشده Untreated NRS			دانه پرتوتابی شده با گاما Gamma-irradiated NRS			دانه پرتوتابی شده با میکروویو Microwave irradiated NRS			Orthogonal contrasts		
	15kGy	30kGy	45kGy	2 min	4 min	6 min	Untreated vs. irradiated	GR vs. MI	Untreated vs. GR	Untreated vs. MI	SEM	
											GR vs. MI	Untreated vs. GR
ماده خشک Dry matter (g/kg)	910	899	903	906	903	902	3.8	0.0916	0.1071	0.1206		
پروتئین خام Crude protein (g/kg)	218	215	218	219	219	215	2.7	0.7733	0.9857	0.6029		
عصاره اتری Ether extract (g/kg)	356	358	360	361	362	361	5.1	0.4013	0.3671	0.5036		
الیاف نامحلول در شوینده خنثی Neutral Detergent Fiber (g/kg)	216	216	216	200	206	206	6.0	0.3124	0.0822	0.8986		
لیاف نامحلول در شوینده اسیدی Acid Detergent Fiber (g/kg)	133	135	133	126	131	131	4.6	0.6916	0.4165	0.9416		
خاکستر Ash (g/kg)	44.0	44.0	45.3	44.5	43.8	44.5	1.31	0.8282	0.8538	0.8250		
اسید فالییک Phytic acid (g/kg)	25.5 ^a	17.0 ^{bc}	3.5 ^e	20.2 ^b	13.0 ^{cd}	9.8 ^d	1.43	0.0001	0.0001	0.0001		
گلوکوسینولات Glucosinolate (μmol/g)	122.8 ^a	82.9 ^b	59.7 ^c	79.5 ^b	59.0 ^c	44.7 ^d	2.76	0.0001	0.1035	0.0001		

^۱Means in the same row with different letters are different (P<0.05).

MI, microwave irradiation; GR, gamma ray.

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<0.05).

جدول ۲- اثر عمل آوری‌های مختلف بر میانگین فراسججهای تجزیه‌پذیری ماده خشک، پروتئین خام و قابلیت هضم پروتئین خام دانه منداب بومی^۱
 Table 2- Effects of gamma and microwave irradiations on rumen degradation parameters of dry matter and crude protein of NRS¹

فراسججهای Parameters	Untreated NRS دانه منداب عمل آوری نشده		Gamma-irradiated NRS دانه پروتئینی شده با گاما				Microwave irradiated NRS دانه پروتئینی شده با میکروویو				SEM			Orthogonal contrasts			
			15kGy	30kGy	45kGy	2min	4 min	6 min				Untreated vs. irradiated	GR vs. MI	Untreated vs. GR	Untreated d vs. MI		
Dry matter																	
a(g/kg)	285 ^a	267 ^a	203 ^b	145 ^c	268 ^a	216 ^b	136 ^c	11.56	0.0001	0.4496	0.0001	0.0001	0.0001	0.0004			
b(g/kg)	601 ^d	609 ^d	668 ^{bc}	726 ^a	619 ^{cd}	675 ^{ab}	702 ^{ab}	18.66	0.0078	0.4449	0.0078	0.0078	0.0063	0.0233			
a+b(g/kg)	887 ^a	877 ^b	873 ^{ab}	871 ^{ab}	887 ^a	891 ^a	841 ^b	12.88	0.9000	0.7024	0.9000	0.7024	0.9851	0.8013			
c/h	0.080 ^a	0.076 ^a	0.051 ^b	0.049 ^b	0.071 ^a	0.058 ^b	0.048 ^b	0.004	0.0011	0.1447	0.0011	0.1447	0.0005	0.0080			
Effective rumen degradation (g/kg)																	
0.02/h	764 ^a	748 ^a	681 ^c	661 ^{cd}	750 ^a	713 ^b	634 ^d	10.41	0.0001	0.7818	0.0001	0.7818	0.0001	0.0001			
0.05/h	653 ^a	633 ^a	539 ^c	505 ^d	631 ^a	574 ^b	483 ^d	10.54	0.0001	0.9988	0.0001	0.9988	0.0001	0.0001			
0.08/h	584 ^a	562 ^a	463 ^c	422 ^d	558 ^a	494 ^b	404 ^d	10.34	0.8510	0.7469	0.8510	0.7469	0.9576	0.7784			
Crude protein																	
a(g/kg)	346 ^a	327 ^a	247 ^b	196 ^c	246 ^b	207 ^c	129 ^d	11.51	0.0002	0.4538	0.0002	0.4538	0.0002	0.0007			
b(g/kg)	602 ^d	613 ^d	683 ^c	749 ^{ab}	702 ^{bc}	742 ^{ab}	784 ^a	15.99	0.0001	0.1863	0.0001	0.1863	0.0001	0.0001			
a+b(g/kg)	948 ^a	940 ^{ab}	931 ^{ab}	939 ^{ab}	948 ^a	949 ^a	913 ^b	9.80	0.0001	0.1380	0.0001	0.1380	0.0001	0.0001			
c/h	0.093 ^a	0.075 ^{bc}	0.074 ^{bc}	0.062 ^{acd}	0.088 ^{ab}	0.066 ^{cd}	0.053 ^d	0.005	0.0008	0.3617	0.0008	0.3617	0.0036	0.0006			
Effective rumen degradation (g/kg)																	
0.02/h	839 ^a	808 ^{bc}	783 ^{cd}	729 ^e	817 ^{ab}	772 ^d	698 ^f	8.90	0.0001	0.3916	0.0001	0.3916	0.0001	0.0001			
0.05/h	735 ^a	692 ^b	653 ^c	571 ^d	692 ^b	625 ^c	533 ^e	10.12	0.0001	0.3500	0.0001	0.3500	0.0001	0.0001			
0.08/h	667 ^a	621 ^b	547 ^c	612 ^b	612 ^b	539 ^d	443 ^f	10.56	0.0001	0.3976	0.0001	0.3976	0.0001	0.0001			
In vitro crude protein digestibility (g/kg)	652 ^d	668 ^{cd}	708 ^b	688 ^{bc}	688 ^{bc}	735 ^a	725 ^{ab}	6.83	0.0001	0.3216	0.0001	0.3216	0.0001	0.0001			

^۱میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<0.05).

^۱Means in the same row with different letters are different (P<0.05).

a, the washout fraction; b, the potentially degradable fraction; c, the rate of degradation .MI, Microwave irradiation; GR, gamma ray.

و کاهش شکمبه‌ای پروتئین خام شد.

پروتئینی در دزهای 30 و 45 کیلوگرمی و عمل‌آوری با میکروویو سبب افزایش قابلیت هضم برون‌تنی پروتئین خام دانه منداب بومی شد ($P < 0/05$). افزایش قابلیت هضم پروتئین خام و ماده آلی کنجاله کانولا پس از عمل‌آوری با پرتو گاما و الکترون توسط سایر محققین (47 و 50) نیز گزارش شده است. همچنین، قنبری و همکاران (26) گزارش کردند که پرتو گاما و الکترون سبب افزایش قابلیت هضم برون‌تنی ماده خشک و آلی کنجاله آفتابگردان شد. پرتو گاما با باز کردن و واسرشتی پروتئین و در سطح قرار گرفتن اسیدهای آمینه آب‌گریز (بوژه آروماتیک‌ها) که گروه‌های موقعیتی برای جایگاه فعال آنزیم‌های پیپسین و تریپسین هستند (38)، سبب افزایش قابلیت هضم پروتئین می‌شود. همچنین، فومبک و همکاران (23) گزارش کردند که با تغییر در ساختمان دوم و سوم پروتئین، باندهای پپتیدی زیادتری در معرض آنزیم‌های پروتئولیتیک در روده قرار می‌گیرد و از این طریق نیز ممکن است سبب افزایش قابلیت هضم پروتئین شود.

عمل‌آوری با میکروویو به مدت 6 دقیقه سبب افزایش قابلیت هضم برون‌تنی پروتئین خام دانه منداب نسبت به قابلیت هضم پروتئین خام دانه منداب بومی عمل‌آوری نشده گردید. ولی اختلاف معنی‌دار با قابلیت هضم پروتئین خام دانه منداب پس از 4 دقیقه عمل‌آوری با میکروویو نداشت. قابلیت هضم پروتئین خام دانه منداب بومی عمل‌آوری شده با میکروویو به مدت 2، 4 و 6 دقیقه به ترتیب در حد 5، 11 و 10 درصد افزایش یافت که با نتایج آزمایش‌های ابراهیمی و همکاران (18) افزایش قابلیت هضم برون‌تنی پروتئین خام دانه کانولا را با پرتو تابی میکروویو گزارش کردند. همچنین، ماهری سیس و همکاران (33) افزایش قابلیت هضم ماده آلی کنجاله آفتابگردان را به میزان 4 درصد نسبت به کنجاله عمل‌آوری نشده پس از عمل‌آوری با پرتو میکروویو گزارش کردند. واسرشتی پروتئین پس از عمل‌آوری با میکروویو سبب افزایش قابلیت هضم پروتئین می‌شود (4).

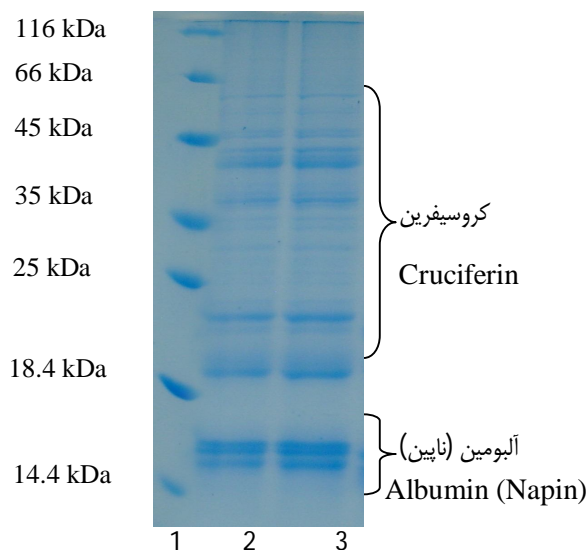
الگوی زیرواحدهای پروتئین و اثرات پرتو گاما بر زیرواحدهای پروتئین دانه منداب بومی

الگوی زیر واحدهای پروتئین دانه منداب بومی و مارکر پروتئینی در شکل 1 نشان داده شده است. الکتروفورز پروتئین دانه منداب بومی نیز نشان داد که عمده پروتئین در دانه منداب بومی شامل آلبومین 2S (ناپین) با دو زیر واحد به وزن مولکولی 15/9 و 15/2 کیلودالتون و کروسفرین (گلوبولین 12S) با چهار زیر واحد به وزن مولکولی 42/2، 36/4، 22/8 و 18/7 کیلودالتون بود.

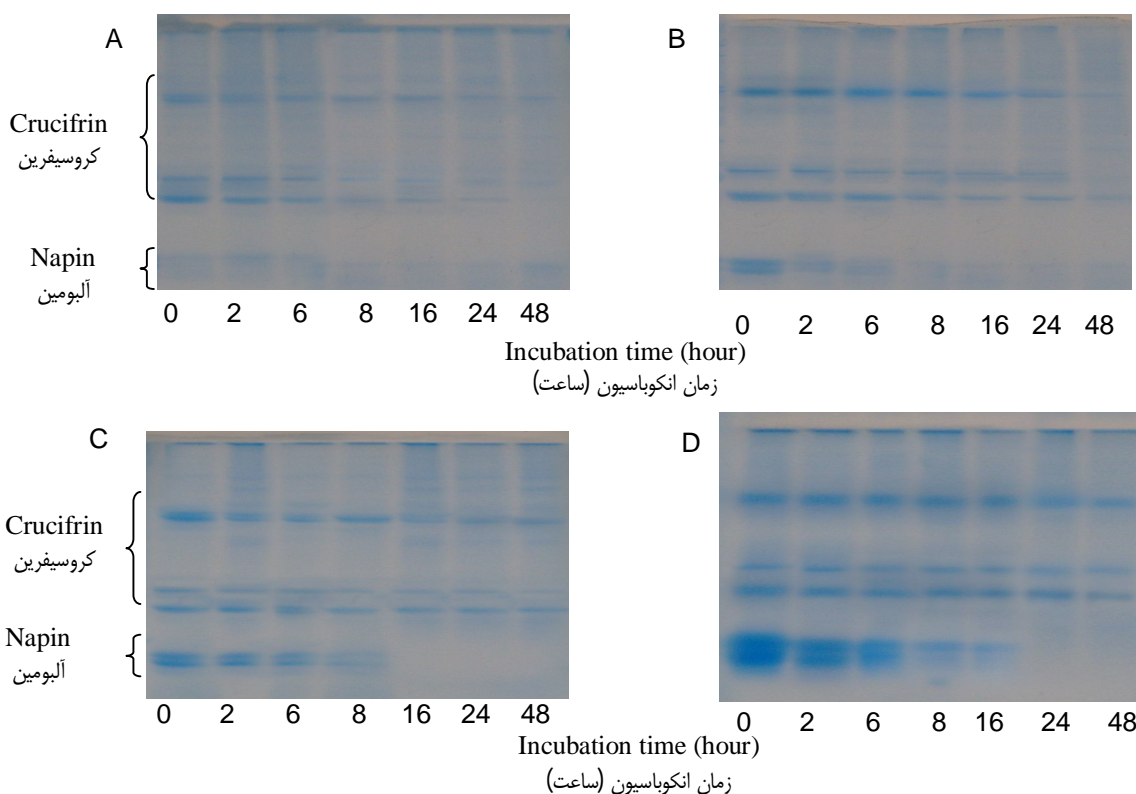
همچنین قنبری و همکاران (25) نشان دادند که پرتو گاما و الکترون در دزهای 25، 50 و 75 کیلوگرمی سبب کاهش بخش سریع تجزیه و افزایش بخش کند تجزیه پروتئین خام کنجاله پنبه دانه شد. ولی اکبریان و همکاران (2) گزارش کردند که پرتو بیم الکترون در دز 60 کیلوگرمی سبب افزایش بخش سریع تجزیه دانه سویا به میزان 64 درصد نسبت به دانه عمل‌آوری نشده شد. پرتو گاما سبب کاهش بخش سریع تجزیه پروتئین خام به میزان 29 و 43 درصد و افزایش بخش کند تجزیه پروتئین خام به میزان 12 و 20 درصد به ترتیب در دزهای 30 و 45 کیلوگرمی نسبت به دانه عمل‌آوری نشده گردید. پرتو گاما تجزیه‌پذیری مؤثر پروتئین خام را 6، 11 و 22 درصد به ترتیب در دزهای 15، 30 و 45 کیلوگرمی در سرعت عبور 5 درصد نسبت به دانه منداب بومی عمل‌آوری نشده کاهش داد. کاهش تجزیه‌پذیری مؤثر پروتئین خام پس از عمل‌آوری سبب افزایش پروتئین عبوری می‌شود که از نظر تغذیه ای برای گاوهای شیری پرتولید و گوساله‌های در حال رشد مفید است (40). عمل‌آوری دانه منداب بومی با میکروویو بیش از 2 دقیقه، سبب کاهش بخش سریع تجزیه و افزایش بخش کند تجزیه ماده خشک شد ($P < 0/05$) که با نتایج آزمایش‌های سایر محققین (17 و 35) هماهنگی دارد.

عمل‌آوری با میکروویو به مدت 4 و 6 دقیقه بخش سریع تجزیه ماده خشک را به ترتیب در حد 24 و 53 درصد کاهش و بخش کند تجزیه ماده خشک را به ترتیب 11 و 14 درصد نسبت به دانه منداب بومی عمل‌آوری نشده کاهش داد. بیشترین اثر در کاهش بخش سریع تجزیه و افزایش بخش کند تجزیه پروتئین خام دانه منداب بومی با استفاده از عمل‌آوری با میکروویو به مدت 6 دقیقه به دست آمد. عمل‌آوری با میکروویو به مدت 2، 4 و 6 دقیقه بخش سریع تجزیه پروتئین خام را در حد 29، 40 و 63 درصد نسبت به دانه عمل‌آوری نشده کاهش داد. عمل‌آوری دانه منداب بومی با میکروویو سبب افزایش بخش کند تجزیه پروتئین خام شد؛ ولی تجزیه‌پذیری بالقوه پروتئین خام پس از عمل‌آوری با میکروویو به مدت 6 دقیقه کاهش یافت.

کاهش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین پس از عمل‌آوری با پرتو گاما به دلیل واسرشتی پروتئین پس از پرتو دهی است. پرتو گاما با ایجاد پیوند عرضی، انباشتگی و اکسیداسیون به وسیله رادیکال آزاد (24) سبب واسرشتی پروتئین می‌شود. پروتئین‌های واسرشت شده نسبت به تجزیه شکمبه ای مقاوم بوده و از شکمبه عبور کرده و پروتئین عبوری را تشکیل می‌دهند. همچنین، عمل‌آوری با میکروویو سبب باز کردن تا خوردگی پروتئین‌ها، واسرشتی آنها و عرضه گروه‌های غیر قطبی اسیدهای آمینه موجود در ساختار گلوبولی پروتئین شده و در نتیجه سبب افزایش آب‌گریزی پروتئین (22 و 48)



شکل 1- زیر واحدهای پروتئین استاندارد (1) و زیر واحدهای پروتئین دانه منداب بومی (2 و 3)
Figure 1- Standard protein subunits (line 1) and canola seed protein subunits (lines 2 and 3)



شکل 2- الکتروفورز پروتئین دانه منداب عمل‌آوری نشده (A)، دانه منداب پرتوتابی شده با دز 15 کیلوگری (B)، دانه منداب پرتوتابی شده با دز 30 کیلوگری (C) و دانه منداب پرتوتابی شده با دز 45 کیلوگری (D)

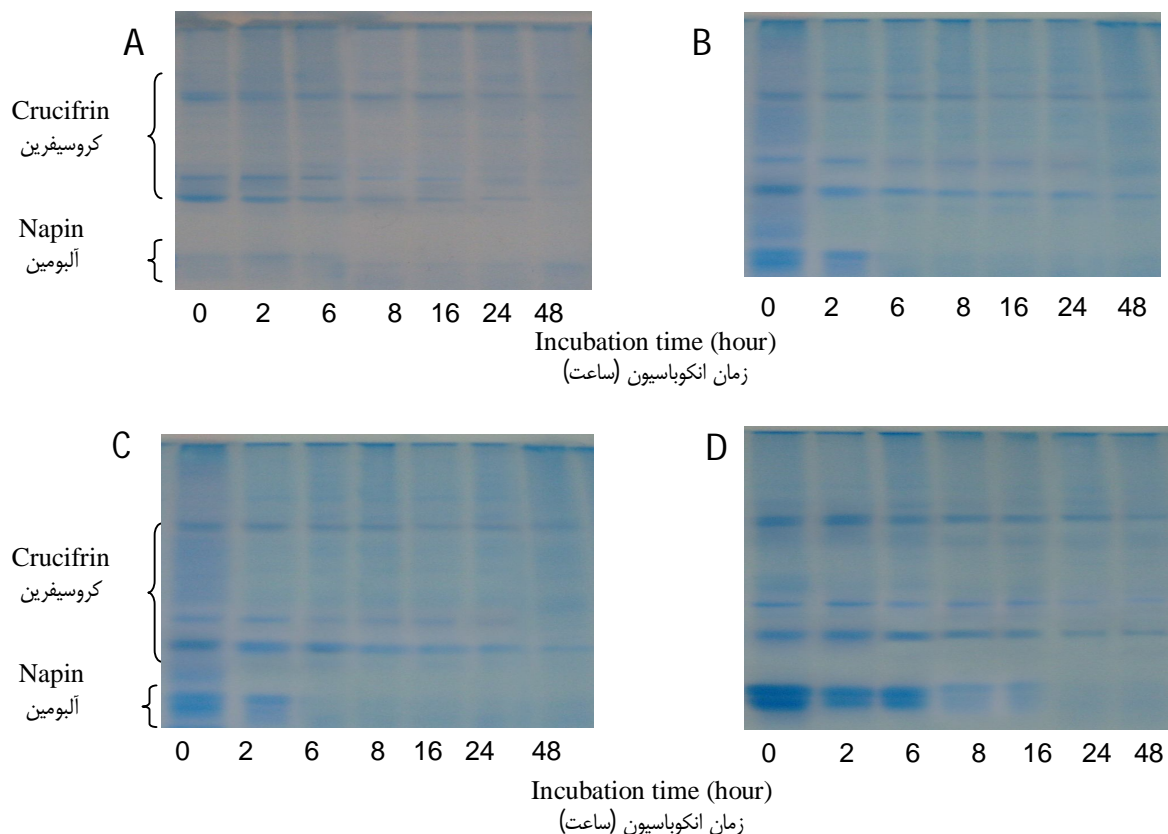
Figure 2- Protein electrophoresis of untreated rapeseed (A), 15 kGy gamma irradiated rapeseed (B), 30 kGy gamma irradiated rapeseed (C) and 45 kGy gamma irradiated rapeseed (D)

شرایط انجام الکتروفورز نمونه‌ها و غلظت ژل مربوط می‌شود. الگوی زیر واحدهای دانه منداب بومی عمل‌آوری نشده و پرتوتابی شده در

تفاوت در تخمین وزن مولکولی زیر واحدهای پروتئین در این مطالعه و آزمایش افرر و همکاران (7) به عواملی چون وارپته منداب،

الکتروفورز پروتئین نشان داد که دزهای پائین پرتو گاما (کمتر از 15 کیلوگری) اثر کمی بر واسرشتی پروتئین و تشکیل مولکول‌های پروتئینی با وزن زیاد (12) و به دنبال آن تجزیه‌پذیری شکمبه ای پروتئین داشت. همانطور که در شکل های 2C و 2D مشاهده می شود پرتو گاما سبب تشکیل مولکول‌های پروتئینی با وزن زیاد شدند که قادر به نفوذ در ژل پائینی نبودند. پوچالا و شسلر (45) نیز گزارش کرد که در دزهای بالای 35 کیلوگری مولکول‌های پروتئین تجزیه شده با برخی مولکول‌های دیگر به هم چسبیده و به توده‌های با وزن مولکولی بالاتر تبدیل می‌شوند و نمی‌توانند در ژل پائین نفوذ کنند. تجزیه الکتروفورز پروتئین دانه منداب بومی عمل‌آوری نشده و عمل‌آوری شده با میکروویو در شکل 3 آمده است. تجزیه الکتروفورز پروتئین دانه عمل‌آوری شده با میکروویو به مدت 4 دقیقه (شکل 3C) و دانه عمل‌آوری شده با میکروویو به مدت 6 دقیقه (شکل 3D) نشان دادند که یک زیر واحد از کروسیفرین در زمان صفر انکوباسیون ناپدید شد؛ اما زیر واحدهای دیگر کروسیفرین تا 48 ساعت انکوباسیون در ترتیب شکمبه مقاوم به تجزیه بودند. همچنین، زیر واحدهای ناپین به ترتیب پس از 2 و 4 ساعت انکوباسیون در شکمبه تجزیه شدند.

دزهای 15، 30 و 45 کیلوگری در زمان‌های مختلف انکوباسیون در شکمبه (صفر، 2، 4، 8، 16، 24 و 48 ساعت) در شکل 2 آمده است. تجزیه الکتروفورز پروتئین دانه منداب بومی عمل‌آوری نشده در شکمبه نشان داد که یک زیر واحد از کروسیفرین و زیر واحدهای آلبومین (ناپین) در زمان صفر انکوباسیون ناپدید شد؛ زیرواحدهای دیگر کروسیفرین پس از 24 ساعت انکوباسیون در شکمبه تجزیه شدند. ناپین در دانه منداب عمل‌آوری نشده در زمان صفر ناپدید شد؛ ولی کروسیفرین نسبت به تجزیه مقاوم تر بود. ناپین، پروتئین محلولی است که دارای مقادیر زیادی اسیدهای آمینه آب دوست شامل اسید گلوتامیک و سیستئین است (22 و 32). در نتیجه، تجزیه‌پذیری ناپین از کروسیفرین (پروتئین با مقادیر زیاد اسیدهای آمینه آب‌گریز مانند متیونین) زیادتر بود. این نتیجه با یافته‌های آزمایش‌های فتوحی نصری و همکاران (20) هماهنگ است که نشان دادند که اسیدهای آمینه آب‌گریز مانند لوسین، ایزولوسین، فنیل‌آلانین، متیونین، والین، و ترئونین به مقدار کمتری نسبت به اسیدهای آمینه آب‌دوست مانند هیستیدین، آرژنین، لیزین، سیستئین، اسید گلوتامیک و سرین در شکمبه تجزیه شدند.



شکل 3- الکتروفورز پروتئین دانه منداب عمل‌آوری نشده (A)، دانه منداب عمل‌آوری شده با میکروویو به مدت 2 دقیقه (B)، دانه منداب عمل‌آوری شده با میکروویو به مدت 4 دقیقه (C) و دانه منداب عمل‌آوری شده با میکروویو به مدت 6 دقیقه

Figure 2- Protein electrophoresis of untreated rapeseed (A), 2 min microwave irradiated rapeseed (B), 4 min microwave irradiated rapeseed (C) and 6 min microwave irradiated rapeseed (D)

مولکول‌های با وزن زیاد تبدیل شود (24 و 31) و از این رو تجزیه‌پذیری پروتئین خام در شکمبه کاهش یافت.

نتیجه گیری کلی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که عمل‌آوری دانه منداب با پرتو گاما و میکروویو نه تنها سبب کاهش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین خام آن شد؛ بلکه سبب افزایش قابلیت هضم برون‌تنی پروتئین خام و کاهش اسید فایتیک و گلوکوسینولات‌های آن شد. با توجه به نتایج تجزیه‌پذیری مؤثر، الکتروفورز و قابلیت هضم برون‌تنی پروتئین خام، پرتو گاما در دزهای بیشتر از 15 کیلوگری و پرتو میکروویو بیش از 2 دقیقه در بهبود ارزش غذایی دانه منداب بومی مؤثر بود. پیشنهاد می‌شود آزمایش‌های *in vivo* انجام شود تا اثرات مصرف دانه منداب عمل‌آوری شده با پرتوگاما و میکروویو بر عملکرد تولیدی گاوهای شیری مورد بررسی قرار گیرد.

سپاسگزاری

از همکاری و مساعدت مؤسسه تحقیقات علوم دامی و آقای دکتر احمد میرهادی که امکان انجام آزمایش *in situ* فراهم نمودند و سازمان انرژی اتمی به جهت پرتودهی نمونه‌ها تشکر و قدردانی می‌شود.

در کل تجزیه الکتروفورز پروتئین دانه منداب بومی عمل‌آوری شده با میکروویو در شکمبه نشان داد که عمل‌آوری با میکروویو سبب کاهش تجزیه‌پذیری زیر واحدهای کروسیفیرین و ناپین در شکمبه شد. حرارت با تشکیل مجموعه‌های بهم چسبیده پروتئینی (ژل) و ایجاد اتصالات عرضی بین پروتئین‌ها سبب کاهش دسترسی آنزیم‌های پروتئولیتیک میکروبی و در نهایت کاهش سرعت و میزان تجزیه میکروبی پروتئین‌ها در شکمبه شد (53 و 56). از طرفی عمل‌آوری حرارتی سبب ایجاد تغییرات ساختمانی در پروتئین‌ها و افزایش آب‌گریزی در سطح پروتئین می‌شود. افزایش آب‌گریزی سطح پروتئین به دلیل جدا شدن پیوندهای هیدروژنی و سایر پیوندهای ضعیف غیرکوالانسی و در نتیجه تغییر ساختمان پروتئین (دنا توره شدن) و تغییر موقعیت اسیدهای آمینه است. انتقال اسیدهای آمینه آب‌گریز از درون به سطح مولکول سبب آب‌گریزی سطح مولکول پروتئین و کاهش در دسترس بودن آن برای آنزیم‌های پروتئولیتیک می‌شود (22 و 56). بنابراین تجزیه‌پذیری زیرواحدهای کروسیفیرین و ناپین در شکمبه کاهش یافت. ولی بنیک و همکاران (8) گزارش کردند که اثرات غیر حرارتی میکروویو نیز سبب تغییر در ساختمان پروتئین شده و پیشنهاد کردند که میکروویو سبب افزایش شتاب یون‌ها شده و برخورد آنها با سایر مولکول‌ها می‌شوند و در نتیجه ساختمان دوم و سوم پروتئین تغییر می‌کند. در نتیجه پروتئین ممکن است به دلیل واکنش‌های عرضی بین پروتئین، برهم‌کنش‌های هیدروفوبیک و الکترواستاتیک و تشکیل باندهای دی سولفیدی به

منابع

- 1-Ahlin, K. A., M. Emmanuelson., and H.Wiktorsson. 1994. Rapeseed products from double cultivars as feed for dairy cow: effects of long term feeding on thyroid function, fertility and animal health. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 35: 37-53.
- 2-Akbarian, A., M. Khorvash, G. R. Ghorbani, E. Ghasemi, M. Dehghan-Banadaky, P. Shawrang., and M. Hosseini Ghaffari. 2014. Effects of roasting and electron beam irradiating on protein characteristics, ruminal degradability and intestinal digestibility of soybean and the performance of dairy cows. *Livestock Science*, 168: 45-52.
- 3-Al-Kaiesy, M. T., H. A. Abdul-Kader, M. H. Mohammad., and A. H. Saeed. 2003. Effect of gamma irradiation on antinutritional factors in broad bean. *Radiation. Physics and Chemistry*, 67: 493-496.
- 4-Alajaji, S. A., and T. A. El-Adawy. 2006. Nutritional composition of chickpea (*Cicer arietinum L.*) as affected by microwave cooking and other traditional cooking methods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 806-812.
- 5-AOAC. 1995. Official Methods of Analysis, 16th Ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA.
- 6-Azarfar, A., C. S. Ferreira J. O. Goelema., and A. F. B. Van Der Poel. 2008. Effect of pressure toasting on *in situ* degradability and intestinal protein and protein-free organic matter digestibility of rapeseed. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88: 1380-1384.
- 7-Aufrere, J., D. Graviou, C. Demarquilly, R. Verite, B. Michalet-Doreau., and Chapoutot. P. 1991. Predicting *in situ* degradability of feed proteins in the rumen by two laboratory methods (solubility and enzymatic degradation). *Animal Feed Science and Technology*, 33: 97-116.
- 8-Banik, S., S. Bandyopadhyay., and S. Ganguly. 2003. Bio effects of microwave-a brief review. *Bioresource Technology*, 87: 155-159.
- 9-Bhat, R., K.R. Sridhar., and K. T. Yokotani. 2007. Effect of ionizing radiation on antinutritional features of velvet

- seed bean (*Mucuna pruriens*). Food Chemistry, 103: 860-866.
- 10-Calsamiglia, S., and M. D. Stern 1995. A three-step *in vitro* procedure for estimating intestinal digestion of protein in ruminants. Journal of Animal Science, 73: 1459-1465.
- 11-Chen, Q. C., and W. L. Betty. 2003. Separation of phytic acid and other related inositol phosphates by high-performance ion chromatography and its applications. Journal of Chromatography A, 1018: 41-52.
- 12-Cho, Y., and K. B. Song. 2000. Effect of γ - irradiation on molecular properties of BSA and β -lactoglobulin. Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 33: 133-137.
- 13-Clifford, A., and D. V. Smith. 1987. Rapid method for determining total glucosinolates in rapeseed by enzymatically released glucose. Journal of the Science of Food and Agriculture, 38: 141-150.
- 14-Deacon, M.A., G. de Boer., and J. J. Kennelly. 1988. Influence of jet-sploding and extrusion on ruminal and intestinal disappearance of canola and soybeans. Journal of Dairy Science, 71: 745-753.
- 15-De Boland, A. R., G. B. Garner., and B. L. O Dell. 1975. Identification and properties of phytate in cereal grains and oilseed products. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 23: 1186- 1189.
- 16-Duodu K. G., A. Minnaar., and J. R. N. Taylor. 1999. Effect of cooking and irradiation on the labile vitamins and antinutrient content of a traditional African sorghum porridge and spinach relish.). Food Chemistry, 66: 21-27.
- 17-Ebrahimi, S. R., A. Nikkiah, A. A. Sadeghi., and G. Raisali. 2009. Chemical composition, secondary compounds, ruminal degradation and *in vitro* crude protein digestibility of gamma irradiated canola seed. Animal Feed Science and Technology, 151: 184-193.
- 18-Ebrahimi, S. R., A. Nikkiah., and A. A. Sadeghi. 2010. Changes in nutritive value and digestion kinetics of canola seed due to microwave irradiation. Asian-Australasian Journal of Animal Science, 27: 347-354.
- 19-Fakhouri, M. O., and H. S. Ramaswamy. 1993. Temperature uniformity of microwave heated food as influenced byproduct type and composition. Food Research International, 26: 89-95.
- 20-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. Livestock Science, 113: 43 -51.
- 21-Fenwick G. R., E. A. Spinks A. P, Wilkinson, R. K. Heaney., and M. A. Legoy. 1986. Effect of processing on the antinutrient content of rapeseed. Journal of the Science of Food and Agriculture, 37: 735-741.
- 22-Folawiyo, Y. L., and R. K. O. Apenten. 1997. The effect of heat and acid treatment on the structure of rapeseed albumin (napin). Food Chem. 58: 237-243.
- 23-Fombang, E. N., J. R. N. Taylor, C. M. F. Mbofung., and A. Minnaar. 2005. Use of γ -irradiation to alleviate the protein poor digestibility of sorghum porridge. Food Chemistry, 91: 695-703.
- 24-Gaber, M. H. 2005. Effect of γ -irradiation on molecular properties of bovine serum albumin. Journal of Bioscience and Bioengineering, 100: 203-206.
- 25-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. Radiation. Physics and Chemistry, 81: 672-678.
- 26-Ghanbari, F., T. Ghoorchi, P. Shawrang, H. Mansouri., and N. M. Torbati-Nejad. 2015. Improving the nutritional value of sunflower meal by electron and gamma ray irradiations. Iranian Journal of Applied Animal Science, 5 (1): 21-28.
- 27-Gharaghani, H., M. Zaghri, G. Shahhosseini., and H. Moravej. 2008. Effect of gamma irradiation on antinutritional factors and nutrition value of canola meal for broiler chickens. Asian-Australasian Journal of Animal Science, 21: 1479-1485.
- 28-Gonzalez, J., J. Faria-Marmol. B. Matesanz, C. A. Rodriguez., and M.R. Alvir. 2003. *In situ* intestinal digestibility of dry matter and crude protein of cereal grains and rapeseed in sheep. Reproduction Nutrition Development, 43: 29-40.
- 29-Huang, S., M. Liang, G. Lardy, H. E. Huff, M. S. Kerley., and F. Hsieh. 1995. Extrusion process of rapeseed meal for reducing glucosinolates. Animal Feed Science and Technology, 56: 1-9.
- 30-Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of head of bacteriophage T4. Nature, 227: 680-685.
- 31-Lee, S. L., M. S. Lee., and K. B. Song. 2005. Effect of γ -irradiation on the physicochemical properties of gluten films. Food Chemistry, 92: 621-625.
- 32-Mahajan, A., and S. Dua. 1994. Physicochemical properties of rapeseed proteins and ionizable groups. J. of Agric. Food Chemistry, 42: 1411-1414.
- 33-Maheri-Sis, N., A. R. Baradaran-Hasanzadeh, R. Salamatdoust, O. Khosravifar, A. Agaajanzadeh-Golshani., and J. Dolgari-Sharaf. 2011. Effect of microwave irradiation on nutritive value of sunflower meal for ruminants using *in vitro* gas production technique. The Journal of Animal and Plant Sciences, 21 (2): 126-131.
- 34- Majd, F. and M. R. Ardakani. 2001. Atomic Technique in Agriculture Science. 2nd Edition. Tehran Press. Pp 230. (in Persian).
- 35-Mandiki, S. N. M., G. Derycke, J. L. Bister, N. Mabon, J. P. Wathélet, M. Marlier., and R. Paquay, 2002. Chemical

- changes and influence of rapeseed antinutritional factor on gestating and lactating ewes. Part 1. Animal performances and plasma hormones and glucose. *Animal Feed Science and Technology*, 98: 25–35.
- 36-Mermelstein, N. H. 1997. How food technology covered microwaves over the years. *Food Technology*, 51: 82–84.
- 37-Mubarak, A. E. 2005. Nutritional composition and antinutritional factors of mung bean seeds (*Phaseolus aureus*) as affected by some home traditional processes. *Food Chemistry*, 89: 489-495.
- 38-Murray, R.K., D.K. Granner, P.A. Mayes., and V.W. Rodwell. 2003. *Harper's Biochemistry*, 26th Ed. McGraw-Hill, New York, NY, USA.
- 39-Mustafa, A. F., Y. P. Chouinard, D. R. Ouellet, 3 and H. Soita. 2003. Effects of moist heat treatment on ruminal nutrient degradability of sunflower seed. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83: 1059–1064.
- 40-National Research Council, 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th Ed. National Academy of Sciences, Washington, DC. Anonymous.
- 41-Oerlemans, K., D. M. Barrett, C.B. Suades, R.Verkerk., and M. Dekker. 2006. Thermal degradation of glucosinolates in red cabbage. *Food Chemistry*, 95: 19–29.
- 42-Oliveira, M. E. C., and A. S. Franca. 2002. Microwave heating of foodstuffs. *Journal of Food Engineering*, 53: 347-359.
- 43-Ørskov, E. R., and I. McDonald 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation weighed according to rate of passage. *Journal of Agriculture Science (Camb.)*, 92: 499-503.
- 44-PHOTO-CAPT. 1999. V. 99. B.P. 66 TORCY. <http://www.vilber.com>
- 45-Puchala, M., and H. Schessler. 1993. Oxygen effect in the radiolysis of proteins. *International Journal of Radiation Biology*, 64: 149-156.
- 46-SAS, 1996. *Statistical Analysis System*. SAS Intit. Inc., Cary, NC, USA.
- 47-Shawrang, P., A. Nikkhah, A. Zare-Shahneh, A. A. Sadeghi, G. Raisali., and M. Moradi-Shahrehabak. 2008. Effects of γ -irradiation on chemical composition and ruminal protein degradation of canola meal. *Radiation. Physics and Chemistry*, 77: 918-922.
- 48-Shih, F. F., and A. D. Kalmar. 1987. SDS-catalyzed deamination of oilseed proteins. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 35: 672-675.
- 49-Siddhuraju, P., H. P. S. Makkar, and K. Becker. 2002. The effect of ionising radiation on antinutritional factors and the nutritional value of plant materials with reference to human and animal food. *Food Chemistry*, 78: 187-205.
- 50-Taghinejad-Roudbaneh, M., S. R. Ebrahimi, S. Azizi, and P. Shawrang, 2010. Effects 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.
- 51-Tahan, G., M. H. Fathi Nasri, A. Riasi, M. Behgar, Farhang Far, H. 2012. Effect of electron beam irradiation on degradability parameters and ruminal digestibility and post-ruminal digestibility of dry matter and crude protein of some plant protein feedstuff. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 3 (4): 422-434. (In Persian).
- 52-Tang, S. X., K.Q. Wang, Z. H. Cong, M. Wang, X.F. Han, C.S. Zhou, Z.L. Tan and Z.H. Sun. 2012. Changes in chemical composition and *in vitro* fermentation characters of rice straw due to gamma irradiation. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 10 (2): 459-462.
- 53-Utsumi, S., and J.E. Kinsella. 1985. Structure function relationship in food proteins: Subunit interactions in heat induced gelation of 7S, 11S and soy isolate proteins. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 33: 297–303.
- 54-Vallejo, F., F. A. Tomas-Barbern, and C. Garcia-Viguera. 2002. Glucosinolate and vitamin C contents in edible parts of broccoli florets after domestic cooking. *European Food Research and Technology*, 215: 310-316.
- 55-Van Soest, P. J. 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminants*. 2nd Edition. Cornell University Press. NY. USA.
- 56-Van Soest, P.J., Robertson, J.B., 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.
- 57-Zeb, A. 1998. Possibilities and limitations of feeding rapeseed meal to broiler chicks. Ph.D thesis., Georg-August University Gottingen, Germany.

Anti-nutritional Factors and Ruminal Dry Matter and Crude Protein Degradability of Gamma and Microwave Irradiated Native Rapeseed

S. R. Ebrahimi Mahmoudabad^{1*} - A. Nikkhah² - A. A. Sadeghi³

Received: 31-05-2015

Accepted: 13-10-2015

Introduction Native rapeseed (NRS) is planted in some parts of Iran because of climatic condition. The consumption of NRS in animal nutrition is limited by anti-nutritional such as phytic acid and glucosinolate. Moreover, the protein of NRS is highly degraded by rumen microorganisms. Several processing methods have been used to enhance the nutritive value of whole oilseeds, including extrusion, roasting, toasting and Jet-Sploding. However, most heat processing methods adversely affect protein digestibility in the small intestine. Recently, other processing methods such as processing by gamma and microwave irradiation have been noticed. Therefore, this research was carried out to evaluate the effects of gamma irradiation (15, 30 and 45 kGy) and microwave irradiation (800 W) for 2, 4 and 6 min on ruminal dry matter (DM) and crude protein (CP) degradability, *in vitro* CP digestibility, anti-nutritional factors (glucosinolate and phytic acid) and chemical composition of NRS.

Materials and Methods Chemical composition (DM, CP, EE and Ash) of untreated and irradiated NRS was determined by AOAC methods. Then, sufficient water was added to the sample to increase the moisture content to 250 g/kg. Gamma irradiation was completed by using a cobalt-60 irradiator at 20 °C. The dose rate determined by Fricke dosimetry was 0.36 Gy/s. Another three samples (500 g each) were subjected to microwave irradiation at a power of 800 W for 2, 4 and 6 min. Phytic acid and glucosinolate contents of untreated and irradiated samples were determined by standard methods. Degradation kinetics of DM or CP were determined according to *in situ* procedure. Six grams of untreated or irradiated NRS were incubated in the rumen of three ruminally fistulated Taleshi bulls for 0, 2, 4, 8, 16, 24 and 48 h. Bags were placed in the rumen just before the bulls were offered their first meal. After retrieval from the rumen, bags were thoroughly washed with tap water until the rinsing water was clear. The same procedure was applied to two bags to obtain the 0 h value. The residues were dried and analyzed for DM and CP to determine degradation kinetics of NRS. Digestibility of rumen undegraded CP was estimated using the three-step *in vitro* procedure. Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) was used to monitor protein subfractions and the fate of true proteins of untreated and irradiated NRS in the rumen.

Results and Discussion Irradiation had no significant effect on chemical composition, but decreased the total glucosinolate and phytic acid of NRS. This elimination of phytic acid by irradiation is probably due to chemical degradation of phytate to lower inositol phosphates and inositol, by the action of free radicals, which have lower chelating power, or cleavage of the phytate ring itself. The glucosinolate content of untreated NRS in this study, 122.8 mol/g, was reduced up to 30 kGy, but further irradiation had no effect. Major deleterious effects of glucosinolate ingestion in animals include: reduced palatability, decreased growth and reduced production. However, according to our study, gamma and microwave irradiated NRS may be fed to dairy cows at high levels without glucosinolate induced detrimental effects. Gamma and microwave irradiation decreased the washout fraction, degradation rate and effective degradability (ED) of DM and CP and increased potentially degradable fraction of DM and CP of NRS. Decreasing CP degradability as a result of irradiation is due to the occurrence of cross-linking of polypeptide chains, denaturation and protein aggregation. Gamma irradiation at doses of 30 and 45 kGy and microwave irradiation increased *in vitro* CP digestibility of NRS. Irradiation may induce unfolding of the protein and its denaturation, thereby exposing hydrophobic amino acids (especially aromatics) that are positional groups for the active sites of pepsin and trypsin enzymes. Moreover, the improvement in CP digestibility may be attributed to reduction of phytic acid. Electrophoresis results indicated that major proteins of NRS were cruciferin (globulin 12S) and napin (Albumin 2S). Electrophoresis results indicated that in untreated NRS, three subunits of cruciferin and in gamma and microwave irradiated NRS, three subunits of cruciferin and two subunits of napin consisted of bypass proteins.

1-Department of Animal Science, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran,

2, 3- Professor and Associate Professor of Department of Animal Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran.

(*-Corresponding author email: ebrahimiyazd@yahoo.com)

Conclusion In conclusion, gamma irradiation at doses of higher than 15 kGy and microwave irradiation more than 2 min reduced ruminal degradability of CP, increased *in vitro* CP digestibility and reduced anti-nutritional factors of NRS. Subsequently, *in vivo* studies are required to investigate effect of feeding irradiated feedstuff on lactation performance of dairy cows.

Keywords: Anti-nutritional factors, Gamma irradiation, Microwave irradiation, Rapeseed, Ruminant degradability.