



## اثرات تفت دادن پنبه دانه بر محتوی گوسیپول، روند تجزیه پذیری و قابلیت هضم پروتئین آن

مهدی تقی نژاد رودبند<sup>۱</sup> و سید روح الله ابراهیمی<sup>۲</sup>

### چکیده

این آزمایش با هدف مطالعه اثرات عمل آوری تفت دادن (در دمای ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه) بر محتوی گوسیپول آزاد، قابلیت هضم پروتئین، تجزیه پذیری ماده‌ی خشک و پروتئین خام و همچنین تعیین نوع پروتئین عبوری پنبه دانه، انجام شد. مقدار تجزیه پذیری ماده‌ی خشک و پروتئین به روش کیسه‌های نایلونی و با استفاده از سه رأس گاو نر تالشی اندازه گیری شد. تفت دادن در دمای ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه سبب کاهش مقدار گوسیپول آزاد موجود در پنبه دانه به میزان ۱۷/۵ و ۲۱/۳ درصد شد ( $P < 0/05$ ). تفت دادن اثر معنی داری بر قابلیت هضم آزمایشگاهی پنبه دانه نداشت ( $P > 0/05$ ). اگرچه تفت دادن سبب کاهش نرخ ثابت تجزیه پروتئین پنبه دانه گردید ( $P < 0/05$ )، اما این عمل آوری اثر معنی داری ( $P > 0/05$ ) بر تجزیه پذیری موثر پروتئین پنبه دانه عمل آوری شده در مقایسه با پنبه دانه عمل آوری نشده، نداشته است ( $P > 0/05$ ). آنالیز الکتروفورزی زیر واحدهای پروتئینی در این مطالعه نشان داد که عمل آوری تفت دادن در دمای ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه تغییر محسوسی در الگوی ناپدید شدن زیر واحدهای پروتئینی پنبه دانه در زمان‌های مختلف انکوباسیون ایجاد نکرد. در این مطالعه اگرچه عمل آوری تفت دادن به مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه سبب کاهش گوسیپول پنبه دانه شد ولی در کاهش تجزیه پذیری پروتئین پنبه دانه موثر نبود.

**واژگان کلیدی:** الکتروفورز، تجزیه پذیری شکمبه‌ای، تفت دادن، پنبه دانه، گوسیپول.

## مقدمه

پروتئین جیره‌ی غذایی یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر عملکرد تولیدی و تولید مثلی دام‌ها است. برای تأمین احتیاجات پروتئینی نشخوارکنندگانی که سرعت رشد زیادی دارند و یا شیر زیادی تولید می‌کنند در نظر گرفتن مقدار کافی پروتئین عبوری (اسیدهای آمینه‌ی ضروری) برای عملکرد قابل قبول حیوان، ضروری است (۱۰). دانه‌های روغنی حاوی مقدار زیادی انرژی و پروتئین بوده و استفاده از آن‌ها در تغذیه‌ی نشخوارکنندگان، به ویژه در تغذیه‌ی گاوهای شیرده پرتولید به طور روزافزونی در حال افزایش است. دانه‌های روغنی مانند پنبه‌دانه به دلیل داشتن مقدار زیادی پروتئین (۲۳/۵ درصد) و چربی (۱۹/۳ درصد) ارزش غذایی زیادی برای نشخوارکنندگان پرتولید دارند. با این وجود، پروتئین آنها به دلیل حل شدن زیاد در شکمبه به سرعت تجزیه شده و در نتیجه بازدهی استفاده از پروتئین آن‌ها برای نشخوارکنندگان پرتولید کاهش می‌یابد. مقدار پروتئین پنبه‌دانه که از تخمیر شکمبه‌ای فرار می‌کنند، ۲۰/۳ درصد از پروتئین خام را شامل می‌شود (۱۰). بنابراین، افزایش دادن پروتئین عبوری این دانه‌ی روغنی یا به عبارتی کاهش تجزیه‌ی پروتئین آن در شکمبه از اهمیت ویژه‌ای در تغذیه‌ی نشخوارکنندگان پرتولید برخوردار است. از طرفی، پنبه‌دانه حاوی رنگدانه سمّی گوسیپول است که استفاده از پنبه‌دانه را در سطوح بالا برای نشخوارکنندگان پرتولید محدود کرده و همچنین نباید از آن‌ها در جیره‌ی نشخوارکنندگان جوان استفاده کرد (۳).

تاکنون مطالعات زیادی در ارتباط با میزان مؤثر بودن روش‌های مختلف عمل‌آوری که بتواند تجزیه‌پذیری پروتئین مواد خوراکی را در شکمبه کاهش و عوامل ضدتغذیه‌ای موجود در آن‌ها را از بین ببرد، انجام گرفته است. در بین عمل‌آوری‌های شیمیایی و فیزیکی، عمل‌آوری حرارتی متداول‌ترین روش است (۱۰). حرارت دادن انجام واکنش قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی (میلارد) را تسهیل و سبب تشکیل کمپلکس آمینو- قند می‌شود که در مقابل تجزیه‌ی میکروبی در شکمبه مقاوم بوده ولی اسیدهای آمینه‌ی موجود در آن در روده‌ی باریک قابل هضم و جذب هستند. شایان ذکر است که افزایش پروتئین عبوری جیره زمانی سودمند واقع می‌شود که اولاً در مقابل کاهش تولید پروتئین میکروبی در شکمبه قرار نگیرد، ثانیاً در روده قابل هضم باشد. تقی‌نژاد و همکاران (۱) گزارش کردند، تفت دادن دانه‌ی سویا در دمای ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس و مدت ۳۰ دقیقه، سبب افزایش عبوری شدن و قابلیت هضم پروتئین خام و کاهش فعالیت مهارکننده‌ی تریپسین آن می‌شود.

در پژوهش حاضر اثرات تفت دادن در دمای ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس و مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه بر محتوی گوسیپول، روند تجزیه‌پذیری و قابلیت هضم پروتئین پنبه‌دانه مورد مطالعه قرار گرفته است.

## مواد و روش‌ها

### عمل‌آوری

در این تحقیق پنبه‌دانه‌ی رقم ورامین از مرکز تحقیقات پنبه ورامین تهیه شد. سپس،

روش گوسیپول با استفاده از آلانین تبدیل به گوسیپول دی آلانین شده و جذب نیز در حداکثر جذب بین ۴۳۵ و ۴۴۵ نانومتر صورت قرائت شد (۹).

### اندازه‌گیری تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای

برای اندازه‌گیری تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده‌ی خشک و پروتئین از معادلات ارسکوف و مک‌دونالد (۱۲) استفاده شد. مقدار ۶ گرم نمونه‌ی مواد خوراکی عمل‌آوری نشده و عمل‌آوری شده به روش‌های مختلف، به مدت صفر، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت در شکمبه سه راس گاو نر نژاد تالشی (میانگین وزن ۴۱۶ کیلوگرم) دارای فیستولای شکمبه در مؤسسه‌ی تحقیقات علوم دامی کشور انکوباسیون شد. گاوها با جیره‌ی حاوی ۷۰ درصد علوفه (یونجه‌ی خشک و کاه گندم به نسبت ۷۰ به ۳۰) و ۳۰ درصد کنسانتره (۳۵ درصد آرد جو، ۱۷ درصد کنجاله سویا، ۲۵ درصد پنبه دانه، ۲۰ درصد سبوس گندم، ۱ درصد کربنات کلسیم و ۲ درصد مکمل مواد معدنی و ویتامینی) به مقدار ۸ کیلوگرم ماده‌ی خشک در روز به صورت جیره‌ی کاملاً مخلوط در دو نوبت صبح و عصر در ساعت‌های ۸ و ۱۶ دو هفته قبل و طی دوره‌ی آزمایش تغذیه شدند.

### الکتروفورز

از تکنیک الکتروفورز ژل پلی‌آکرلامید به روش لاملی (۸) برای تعیین وضعیت زیر واحدهای پروتئین مواد خوراکی، انجام شد. در این پژوهش از دستگاه الکتروفورز عمودی مدل TV400 برای الکتروفورز استفاده شد. برای استخراج پروتئین حقیقی مواد خوراکی جهت

نمونه‌ها در ظرف آلومینیومی به ارتفاع دو سانتی-متر ریخته و در دمای ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس آن به مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه حرارت داده شدند. پس از اتمام عمل‌آوری حرارتی، نمونه‌ها خارج و به داخل سینی‌هایی منتقل شدند تا خشک شوند. پس از خشک شدن، نمونه‌ها به کیسه‌های پلاستیکی منتقل و در دمای ۲۰- درجه‌ی سلسیوس برای تعیین ترکیبات شیمیایی نگهداری شدند.

### تعیین ترکیبات شیمیایی

تجزیه‌ی شیمیایی نمونه‌ها با روش‌های استاندارد آزمایشگاهی (۲) تعیین شد. اندازه‌گیری ماده‌ی خشک با قرار دادن نمونه‌های مواد خوراکی در آن به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۵۵ درجه‌ی سلسیوس انجام شد. خاکستر نمونه‌ها با قرار دادن نمونه‌های مواد خوراکی در کوره‌ی الکتریکی با دمای ۶۰۰ درجه‌ی سلسیوس به مدت دو ساعت، اندازه‌گیری شد. چربی خام با استفاده از دستگاه Soxtec مدل ۱۰۳۴ و یک ساعت شستشو با دی اتیل اتر اندازه‌گیری شد. دیواره‌ی سلولی به روش ون سوست و همکاران (۱۵) و با استفاده از دستگاه فیبرتچ<sup>۱</sup> اندازه‌گیری شد. مقدار پروتئین خام مواد خوراکی نیز با استفاده از دستگاه کجلدال تعیین شد (نیتروژن  $\times 6/25$ ). اندازه‌گیری مقدار گوسیپول آزاد پنبه‌دانه در آزمایشگاه شرکت کشت و توزیع دانه‌های روغنی و با استفاده از روش رنگ‌سنجی انجام شد. در این روش از مخلوط حلال‌های پروپان و هگزان برای اندازه‌گیری گوسیپول آزاد استفاده شد. در این

<sup>۱</sup>- Fibertech System M, Tecator, 1010

بود. در تعیین وزن مولکولی زیر واحدهای پروتئین از مارکر پروتئینی فرمنتاز<sup>۱</sup> حاوی بتاگلوکوزیداز (۱۱۶ کیلو دالتون)، آلبومین سرم گاوی (۶۶/۰ کیلو دالتون)، آلبومین (۴۵ کیلو دالتون)، لاکتات دهیدروژناز (۳۵ کیلو دالتون)، آندونوکلئاز (۲۵ کیلو دالتون)، بتالاکتوگلوبولین (۱۸/۴ کیلو دالتون) و لیزوزیم (۱۴/۴ کیلو دالتون) و بر اساس محاسبه‌ی حرکت نسبی هر پروتئین مارکر در ژل و مقایسه‌ی آن با حرکت نسبی هر زیر واحد، وزن مولکولی آن زیر واحد، تعیین شد.

#### اندازه‌گیری قابلیت هضم درون شیشه‌ای<sup>۲</sup> پروتئین

قابلیت هضم درون شیشه‌ای پروتئین به روش سه مرحله‌ای کالسامیگلیا و استرن (۵) اندازه‌گیری شد. کیسه‌های حاوی نمونه‌های مواد خوراکی به مدت ۱۶ ساعت در شکمبه نگهداری و باقی‌مانده‌ی هضم نشده‌ی شکمبه‌ای (تقریباً حاوی ۱۵ میلی‌گرم نیتروژن) به مدت یک ساعت در ۱۰ میلی‌لیتر محلول اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال که حاوی یک گرم پپسین در هر لیتر بود، انکوباسیون شد. سپس pH مخلوط با ۰/۵ میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم یک نرمال و ۱۳/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات با pH ۷/۸ خنثی و ۳۷/۵ میلی‌گرم پانکراتین اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۸ درجه‌ی سلسیوس انکوباسیون شد. سپس، پروتئین‌های هضم نشده با محلول اسید تری کلرو استیک رسوب داده شد. مخلوط فوق به مدت ۱۵ دقیقه (۱۰۰۰۰ × g) سانتریفیوژ و محلول رویی

انجام الکتروفورز، مقداری از نمونه‌ی پنبه دانه (حاوی ۱ میلی‌گرم نیتروژن و با اندازه‌ی ذرات ۰/۱ میلی‌متر) که شامل نمونه‌ی عمل‌آوری نشده یا تفت داده شده و انکوباسیون شده در ساعات مختلف در شکمبه بود، به درون لوله‌های میکروتیوپ منتقل شد. سپس ۷۵۰ میکرولیتر بافر استخراج حاوی ۰/۶۲۵ مولار Tris-HCl (pH=۶/۸)، ۱۰ درصد سدیم دودسیل سولفات (SDS)، ۲/۵ درصد بتا مرکاپتو اتانول، ۷ درصد گلیسرول و ۴ میلی‌گرم بروموفنل بلو اضافه شد. پس از ۳۰ دقیقه به هم زدن بر روی همزن ویژه‌ی لوله میکروتیوپ در دمای چهار درجه‌ی سلسیوس، پروتئین نمونه‌ها استخراج و پس از قرار دادن در آب ۹۵ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۳ دقیقه و سانتریفیوژ به مدت یک دقیقه (۱۰۰۰۰ × g) مایع صاف شده‌ی رویی جدا شد. مایع رویی به لوله‌های میکروتیوپ منتقل و تا زمان انجام الکتروفورز در دمای ۲۰- درجه‌ی سلسیوس نگهداری شد (۷).

برای انجام الکتروفورز پروتئین نمونه‌ها، ۳۰ میکرولیتر از مایع رویی نمونه‌های انکوباسیون نشده و انکوباسیون شده در ساعات مختلف به چاهک‌های الکتروفورز با ژل بالایی حاوی ۳/۷۵ درصد آکرلامید-بیس آکرلامید و ژل پایینی حاوی ۱۴ درصد آکرلامید-بیس آکرلامید منتقل شد. ابعاد ژل ۱۹۰ × ۱۴۰ × ۱ میلی‌متر و شدت جریان ۶۰ میلی‌آمپر و ژل‌ها دو طرفه بسته شد. پس از رسیدن رنگ برموفنل بلو به انتهای ژل، منبع تغذیه را خاموش کرده و اقدام به خارج کردن ژل‌ها از داخل شیشه‌ها شد. طول مدت الکتروفورز با این مشخصات چهار و نیم ساعت

۱- Fermentas

۲- In vitro

داده‌ها در این مطالعه با استفاده از نسخه‌ی ۶/۱۲ بسته نرم افزاری SAS (۱۴)، Proc GLM صورت گرفت. پس از تجزیه واریانس، میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن (۱۵) مقایسه شدند.

## نتایج و بحث

### اثرات عمل‌آوری تفت دادن بر ترکیبات

#### شیمیایی و محتوی گوسیپول پنبه دانه

عمل‌آوری‌های مذکور در این آزمایش اثر معنی‌داری بر خاکستر، پروتئین خام، دیواره‌ی سلولی و دیواره‌ی سلولی بدون همی‌سلولز پنبه دانه نداشتند (جدول ۱). تفت دادن پنبه دانه در دمای ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه سبب کاهش مقدار گوسیپول آزاد موجود در پنبه دانه به میزان ۹ و ۱۵ درصد شد ( $P < 0.05$ ). حرارت بالا برای تشکیل فرم متصل و ماندگار بین گوسیپول و سایر مولکول‌ها مناسب است (۱۳).

فرم متصل گوسیپول از نظر فیزیولوژیکی غیرفعال است. محققین در مطالعات خود گزارش کردند، عمل‌آوری‌هایی مثل حرارت دادن و اکستروود کردن می‌توانند گوسیپول آزاد پنبه دانه را به فرم متصل تبدیل و در نتیجه از اثر مسمومیت‌زایی آن بکاهند (۱۷).

برای تجزیه‌ی 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.

فراسنجه‌های مختلف تجزیه‌پذیری و تجزیه‌پذیری مؤثر ماده‌ی خشک و پروتئین خام و حقیقی با استفاده از بسته‌ی نرم افزاری NEWAY و رابطه‌های زیر محاسبه شد.

$$P = a + b(1 - e^{-ct}) \quad \text{رابطه‌ی ۱}$$

$$ED = a + b/(c+k) \quad \text{رابطه‌ی ۲}$$

در این دو رابطه  $a$  بخش سریع تجزیه،  $b$  بخش کند تجزیه،  $c$  نرخ ثابت تجزیه در واحد زمان،  $P$  ناپدید شدن ماده‌ی خشک یا پروتئین خام از کیسه‌ها و  $ED$  تجزیه‌پذیری مؤثر است. با به کار بردن رابطه‌ی ۲ تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک و پروتئین خام در نرخ‌های عبور ۲، ۵ و ۸ درصد در ساعت محاسبه شد.

آزمایش تجزیه‌پذیری و قابلیت هضم در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با شش تکرار (سه حیوان  $\times$  دو کیسه برای هر زمان انکوباسیون در هر گاو) انجام شد. مدل آماری مورد استفاده به صورت  $Y_{ijk} = \mu + T_i + B_j + e_{ijk}$  بود. در این مدل‌ها  $Y_{ijk}$  مقدار هر مشاهده،  $\mu$  میانگین صفت مورد مطالعه،  $T_i$  اثر عمل‌آوری،  $B_j$  اثر حیوان و  $e_{ijk}$  خطای آزمایشی بود. تجزیه و تحلیل آماری

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی و محتوی گوسیپول پنبه دانه خام و عمل‌آوری شده

مشخصه	پنبه دانه خام	پنبه دانه تفت داده شده		اشتباه معیار
		۱۵ دقیقه	۳۰ دقیقه	
ماده خشک (درصد)	۹۱/۸	۹۲/۷	۹۳/۵	۱/۰۴
خاکستر (درصد)	۴/۲	۴/۲	۴/۰	۰/۴۳
پروتئین خام (درصد)	۲۲/۶	۲۲/۹	۲۳/۱	۰/۸۰
چربی خام (درصد)	۲۴/۰	۲۳/۸	۲۳/۵	۰/۹۲
دیواره سلولی (درصد)	۵۱/۱	۵۱	۵۱/۸	۰/۵۴
گوسیپول آزاد (درصد)	۰/۴۷ <sup>a</sup>	۰/۴۲ <sup>b</sup>	۰/۳۹ <sup>c</sup>	۰/۰۰۷

در هر ردیف، اعدادی که دارای حروف غیر مشابه هستند، اختلاف معنی دار دارند ( $P < 0/05$ ).

### قابلیت هضم پروتئین خام

عمل‌آوری تفت دادن در دمای ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه، اثر معنی‌داری بر قابلیت هضم پروتئین خام پنبه دانه نداشت ( $P > 0/05$ ). قابلیت هضم آزمایشگاهی پروتئین خام باقی مانده‌ی نمونه پنبه دانه فرایند نشده و تفت داده شده در دمای ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه پس از ۱۶ ساعت انکوباسیون در شکمبه‌ی گاوها به ترتیب ۵۵/۶، ۵۶/۲ و ۵۵/۷ درصد بود. واسرشتی<sup>۱</sup> پروتئین در طی عمل‌آوری با حرارت، گروه‌های فعال شیمیایی را افزایش داده و سبب افزایش قابلیت هضم پروتئین می‌شود (۱۶). به نظر می‌رسد که عمل‌آوری تفت دادن در دمای ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس سبب ایجاد تغییرات لازم برای عملکرد بهتر آنزیم‌های هضم کننده‌ی پروتئین نشده‌اند.

### ناپدید شدن شکمبه‌ای ماده‌ی خشک و

#### پروتئین خام پنبه دانه

مقادیر فراسنجه‌های مختلف تجزیه‌پذیری و تجزیه‌پذیری موثر ماده‌ی خشک و پروتئین خام پنبه دانه عمل‌آوری نشده و عمل‌آوری شده در جدول (۲) گزارش شده است. تجزیه‌پذیری بالقوه‌ی (a+b) پروتئین پنبه دانه‌ی عمل‌آوری نشده در این مطالعه ۹۱/۳ درصد بود که بیانگر بالا بودن تجزیه‌پذیری پروتئین خام پنبه دانه در شکمبه است. تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد، عمل‌آوری تفت دادن در دمای ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه، اثر معنی‌داری ( $P > 0/05$ ) بر فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری موثر پروتئین خام و ماده‌ی خشک پنبه دانه نداشت (جدول ۲).

تفت دادن پنبه دانه در دمای ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه، سبب کاهش ثابت نرخ تجزیه‌ی پروتئین خام از ۰/۱۳۲ به ۰/۱۰۲

شده با حرارت در برابر تجزیه‌ی شکمبه‌ای پیچیده است. به نظر می‌رسد که دما یا مدت زمان اعمال شده در عمل‌آوری تفت دادن در این مطالعه برای نفوذ به مغز پنبه‌دانه و اثر بر پروتئین‌های ذخیره‌ای و کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین پنبه‌دانه رقم ورامین کافی نبوده است.

درصد در ساعت، نسبت به دانه‌ی عمل‌آوری نشده گردید ( $P < 0/05$ ). میجش و همکاران (۱۰) گزارش کردند، تفت دادن در دمای ۱۴۹ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه، تجزیه‌پذیری پروتئین خام پنبه‌دانه واریته‌ی پیما (واریته با پرز کم) را کاهش داده است. به نظر می‌رسد ساز و کارهای محافظت پروتئین مواد خوراکی عمل‌آوری

جدول ۲- فراسنجه‌های مختلف تجزیه‌پذیری ماده‌ی خشک و پروتئین پنبه‌دانه خام و عمل‌آوری شده

مشخصه	فراسنجه‌های مختلف تجزیه‌پذیری			نرخ ثابت تجزیه (c)	تجزیه‌پذیری موثر در سرعت عبور (درصد)		
	a	b	a + b		۲	۵	۸
ماده‌ی خشک							
پنبه‌دانه خام	۳۱/۷	۲۳/۲	۵۴/۹	۰/۱۵ <sup>a</sup>	۵۲/۳	۴۹/۲	۴۶/۹
تفت داده شده در ۱۲۵ درجه سلسیوس و مدت ۱۵ دقیقه	۳۲/۳	۲۲/۳	۵۴/۶	۰/۱۳ <sup>ab</sup>	۵۱/۵	۴۸/۲	۴۵/۹
تفت داده شده در ۱۲۵ درجه سلسیوس و مدت ۳۰ دقیقه	۲۹/۶	۲۲/۵	۵۲/۱	۰/۱۱ <sup>b</sup>	۴۸/۷	۴۵/۱	۴۲/۷
اشتباه معیار میانگین‌ها (SEM) <sup>۱</sup>	۱/۱۰	۱/۲۵	۱/۹	۰/۰۱۱	۱/۷۲	۱/۵۶	۱/۰۷
پروتئین خام							
پنبه‌دانه خام	۴۶/۶	۴۴/۷	۹۱/۳	۰/۱۳۳ <sup>a</sup>	۸۵/۶	۷۸/۹	۷۴/۶
تفت داده شده در ۱۲۵ درجه سلسیوس و مدت ۱۵ دقیقه	۴۶/۳	۴۵/۲	۹۱/۵	۰/۱۲۱ <sup>ab</sup>	۸۴/۸	۷۸/۰	۷۳/۲
تفت داده شده در ۱۲۵ درجه سلسیوس و مدت ۳۰ دقیقه	۴۵/۳	۴۶/۴	۹۱/۷	۰/۱۰۲ <sup>b</sup>	۸۴/۰	۷۶/۴	۷۱/۳
اشتباه معیار میانگین‌ها	۱/۳۱	۱/۵۱	۱/۲۰	۰/۰۰۷۲	۱/۵۹	۱/۶۳	۱/۶۱

در هر ستون، اعدادی که دارای حروف غیر مشابه هستند، اختلاف معنی دار دارند ( $P < 0/05$ )

با سه زیر واحد به وزن مولکولی ۲۸/۸، ۲۶/۵ و ۲۴/۲ کیلو دالتون و آلومین ۲۵ با سه زیر واحد به وزن مولکولی ۱۹/۰، ۱۴/۰ و ۱۰/۵ کیلو دالتون می‌باشد. همچنین، تعدادی باند ناواضح با وزن مولکولی ۳۶ تا ۴۴ کیلو دالتون قابل مشاهده است. گلوبولین ۹۵، ۵۵ و آلومین ۲۵ زیر واحدهای عمده‌ی پروتئینی پنبه‌دانه می‌باشند. وزن مولکولی زیر واحدهای پروتئینی پنبه‌دانه در

## وزن مولکولی زیر واحدهای پروتئینی

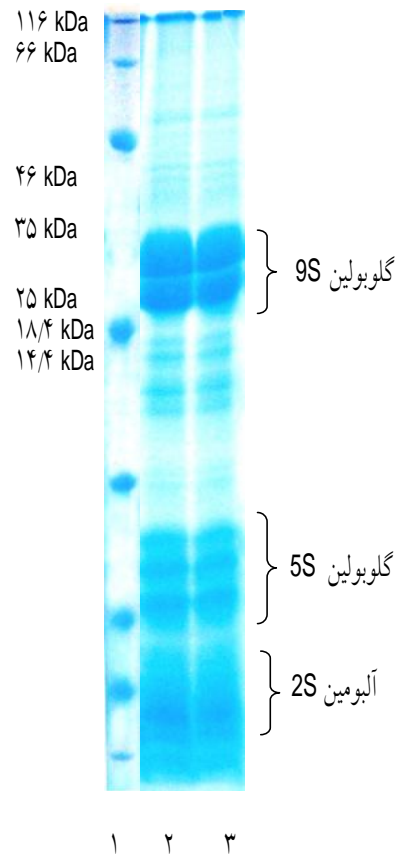
### پنبه‌دانه

در شکل (۱) الگوی زیر واحدهای پروتئینی پنبه‌دانه نشان داده شده است. الگوی زیر واحدهای پروتئین‌های پنبه‌دانه، ۸ زنجیره‌ی پلی‌پپتیدی را نشان می‌دهد که مربوط به پروتئین‌های گلوبولین ۹۵ با دو زیر واحد به وزن مولکولی ۵۵/۰ و ۴۸/۰ کیلو دالتون، گلوبولین ۵۵

### آنالیز الکتروفورزی تجزیه پذیری پروتئین‌های پنبه دانه

آنالیز الکتروفورزی زیر واحدهای پروتئینی پنبه دانه‌ی خام نشان داد که زیر واحد ۱۰ کیلو دالتون پروتئین آلبومین در زمان صفر در آب محلول بوده و بدون تجزیه شدن از کیسه‌ها خارج می‌شود. زیر واحدهای ۱۴ و ۱۹ کیلو دالتون این پروتئین نیز در زمان ۲ انکوباسیون و زیرواحدهای گلوبولین ۵S بعد از زمان ۸ انکوباسیون ناپدید شدند ولی زنجیره‌های پلی پپتیدی ۳۶ تا ۴۴ کیلو دالتون و گلوبولین ۹S زمان ۴۸ انکوباسیون وجود داشتند.

پژوهش حاضر به گزارش یول و هوانگ (۱۹) نزدیک است. احتمالاً تفاوت در درجه‌ی آب‌گریزی، شکل فضایی، ساختمان دوم و سوم، توالی و نوع اسیدهای آمینه، علت متفاوت بودن تجزیه‌پذیری پروتئین‌های پنبه دانه می‌باشد. در زمینه‌ی ویژگی‌های بیوفیزیکی و بیوشیمیایی پروتئین‌های پنبه دانه گزارشی منتشر نشده است. برای روشن شدن علت متفاوت بودن تجزیه‌پذیری زیر واحدها، مطالعه تغییرات آب‌گریزی سطحی پروتئین‌های پنبه دانه، تعیین توالی اسیدهای آمینه در زیر واحدها و مقدار هر اسید آمینه در هر پروتئین، تعیین نوع ساختمان با استفاده از اشعه-ی ایکس و رزونانس مغناطیسی هسته‌ای لازم می‌باشد.



شکل ۱- الگوی مارکر پروتئینی (۱) و زیرواحدهای پروتئین پنبه دانه (۲ و ۳)

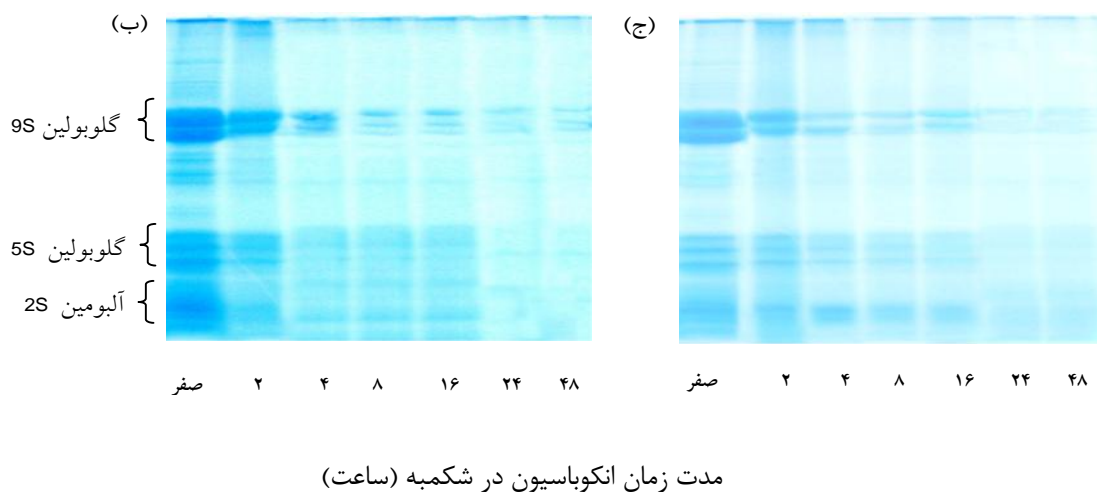
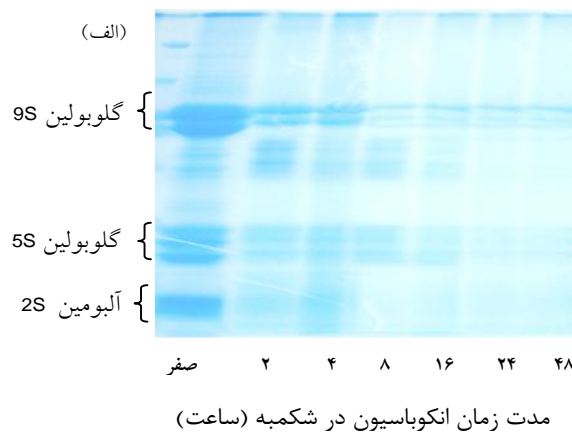


تجزیه و تجزیه پذیری موثر پروتئین خام پنبه دانه نداشته است.

حرارت با تشکیل مجموعه‌های به هم چسبیده‌ی پروتئینی (ژل) و ایجاد اتصالات عرضی بین پروتئین‌ها و افزایش آب‌گریزی در سطح پروتئین (۶)، سبب کاهش دسترسی آنزیم‌های پروتئولیتیک میکروبی و در نهایت کاهش سرعت و مقدار تجزیه‌ی میکروبی پروتئین‌ها در شکمبه می‌شود (۴). زیرا محلول بودن ترکیبات نیتروژن‌دار (پروتئین‌ها) سبب تسهیل دسترسی آن‌ها برای متابولیسم میکروبی می‌شود (۱۱).

آنالیز الکتروفورزی زیر واحدهای پروتئینی پنبه دانه نشان داد که عمل‌آوری تفت دادن در دمای ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه تغییری در الگوی ناپدید شدن زیر واحدهای پروتئینی پنبه دانه در ساعت‌های مختلف انکوباسیون ایجاد نکرده و با نتایج حاصل از ناپدید شدن شکمبه‌ای پروتئین در این مطالعه، همخوانی دارد.

در این مطالعه تفت دادن در دمای ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه اثر معنی‌داری بر بخش سریع تجزیه، بخش کند



**شکل ۲-** (الف) الکتروفورز ژل پلی‌آکرلامید پنبه دانه‌ی عمل‌آوری نشده، (ب) پنبه دانه‌ی تفت داده شده در ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس و مدت ۱۵ دقیقه و (ج) پنبه دانه‌ی تفت داده شده در ۱۲۵ درجه‌ی سلسیوس و مدت ۳۰ دقیقه

معنی داری بر تجزیه پذیری موثر پروتئین پنبه دانه ندارد، پیشنهاد می شود مطالعات بیشتری در دما و یا مدت زمان های دیگر برای یافتن شرایط مناسب تفت دادن پنبه دانه انجام شود.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد، تفت دادن راه کار مناسبی برای کاهش گوسیپول آزاد پنبه دانه است. با توجه به نتایج مطالعه حاضر که نشان داد تفت دادن پنبه دانه در دمای ۱۲۵ درجه ی سلسیوس به مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه اثر

### منابع مورد استفاده

- ۱- تقی نژاد رودبند، م.، ع. نیکخواه، ع. ا. صادقی، غ. رئیسعلی، م. چمنی. بررسی روند تجزیه پذیری پروتئین های دانه سویا تفت داده شده با روش کیسه های نایلونی و الکتروفورز ژل پلی آکرلامید. مجله علوم کشاورزی دانشگاه آزاد تبریز. سال دوم، شماره ۶: ۸۶-۷۳.
2. AOAC. 1995. Official Methods of Analysis, 16<sup>th</sup> Ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA.
3. Barraza, M.L., C.E. Coppock, K.N. Brooks, D.L. Wilks, R.G. Saunders, and G.W. Latimer. 1991. Iron sulfate and feed pelleting to detoxify free gossypol in cottonseed diets for dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 74: 3457-3467.
4. Broderick, G.A., R.J. Wallace, and E.R. Orskov. 1991. Control of rate and extent of protein degradation. In: Tsuda, T., Sasaki, Y. and Kawashima, R. (Eds.), *Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants*. Academic Press, San Diego CA, USA. 542-592.
5. Calsamiglia, S. and M.D. Stern, 1995. A three-step in vitro procedure for estimating intestinal digestion of protein in ruminants. *J. Anim. Sci.* 73: 1459.
6. 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.
7. Hames, E.D. and D. Rickwood. 1990. *Gel electrophoresis of proteins*. 2<sup>nd</sup> Ed. IRL Press. Oxford. UK.
8. Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 227: 680.
9. ISO 6866. 1985. Animal feeding stuffs-determination of free and total gossypol. [http://www.iso.org/iso/catalogue\\_detail.htm?csnumber=13378](http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=13378).
10. Mabjeesh, S.J., J. Galindez, O. Kroll, and A. Arieli. 2000. The effect of roasting nonlinted whole cottonseed on milk production by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83: 2557-2563.
11. National Research Council. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7<sup>th</sup> Ed. National Academy of Sciences, Washington, DC. Anonymous.

12. Orskov, E.R. and I. Mc Donald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation weighed according to rate of passage. *J. Agric. Sci. (Camb.)* 92: 499-503.
13. Randel, R.D., Jr.C.C. Chase, and S.J. Wyse. 1992. Effect of gossypol and cottonseed products on reproduction in mammals. *J. Anim. Nutr.* 70: 1628–1638.
14. SAS. 1996. Statistical analysis system. SAS Intit. Inc., Cary, NC, USA.
15. Steel, R.G.D. and J.H. Torrie. 1980. Principles and procedures of statistics: A biometrical approach, 2<sup>nd</sup> ed., Mc Graw Hill, New York, NY, USA, pp. 187-188.
16. van Soest, P.J., J.B. Robertson, and B.A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583–3597.
17. Wagner, J.R., D.A. Sorgentini and M.C. Anon. 2000. Relation between solubility and surface aromatic hydrophobicity as an indicator of modification during preparation processes of commercial and laboratory prepared soy protein isolates. *J. Agri. Food Chem.* 48, 3159–3165.
18. Zhang, W., Z. Xu, X. Pan, X. Yan and Y. Wang. 2007. Advances in gossypol toxicit and processing effects of whole cottonseed in dairy cows feeding. *Livestock Sci.* 11: 1-9.
19. Youle, R.J., H.C. Huang.1979. Albumin storage and allergens in cottonseeds. *J. Agric. Food Chem.* 27: 500-503.

## Effects of Roasting Cotton Seed on its Gossypol Content, Ruminal Degradability and *in Vitro* Protein Digestibility

M. Taghinejad Roudbaneh<sup>1\*</sup> and S.R. Ebrahimi<sup>2</sup>

### Abstract

This research was conducted to evaluate the effects of cotton seed roasting (125°C for 15 and 30 minutes) on its gossypol content, chemical composition, *in vitro* CP digestibility, ruminal dry matter (DM) and crud protein (CP) degradability. Degradation kinetics of DM and CP were determined according to *in situ* procedure with three ruminally fistulated Taleshi bulls. Roasting cotton seed had no effect on chemical composition of feed samples ( $P>0.05$ ); roasting at 125°C for 15 and 30 minute decreased free gossypol by 17.5 and 21.3%, respectively ( $P<0.05$ ). Although, roasting at 125°C for up to 15 and 30 minute decreased the degradation rate of CP ( $P<0.05$ ) but it had no effect on effective rumen protein degradability of roasted cottonseed compared to untreated cottonseed ( $P<0.05$ ). Electrophoresis results indicated that roasting at 125°C for 15 and 30 minute did not alter the disappearance pattern of protein subunits in cottonseed. The result showed that, although roasting decreased the free gossypol content of cottonseed but it was not effective at decreasing its effective rumen protein degradability.

**Key words:** Cotton seed, Electrophoresis, Gossypol, Nylon bag techniques, Ruminal degradability and Roasting.

---

1- Assistant Prof., Department of Animal Nutrition, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran.

2- Assistant Prof., Department of Animal Nutrition, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Shahr-e-Qods Branch, Shahr-e-Qods, Iran.

\*Corresponding Author: taghinejad\_mehdi@yahoo.com