تحقیقات دام و طیور (فصلنامه)
جلد پنجم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۵
شماره صفحه: ۳۵-۲۵

مقایسه روش آنزیمی و روش پیشنهادی سیستم CNCPS در برآورد تجزیه پذیری شکمبه و قابلیت هضم روده‌ای دانه سویا فرآوری شده با دو روش مختلف

مرضیه رحمتی[۱]، فرشید فتاح نیا[۲] و حسین جهانی عزیزآبادی[۳*]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام
۲- دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام
۳- استادیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان
نویسنده مسؤول: ho.jahani@uok.ac.ir

تاریخ دریافت:۹۵/۰۷/۲۵ **تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۲/۱۶**

چکیده

این آزمایش به منظور مقایسه داده‌های روش آنزیمی- آزمایشگاهی و داده‌های زیر بخش‌های نیتروژن‌دار در تخمین پروتئین قابل تجزیه در شکمبه و قابل هضم در روده، در دانه سویا خام، برشته و اکسترود شده انجام شد. برشته کردن و اکسترود کردن نسبت به دانه خام مقدار بخش A، B_1 و نیتروژن قابل حل دانه سویا را کاهش و بخش‌های B_2، B_3 و C (به جز در دانه سویا اکسترود شده) را افزایش داد. کمترین مقدار ناپدید شدن شکمبه‌ای و پس از شکمبه‌ای پروتئین در دانه سویای برشته شده مشاهده شد. نتایج این آزمایش نشان داد که فرآوری حرارتی به طور مؤثری باعث تغییر در بخش‌های نیتروژن‌دار و کاهش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین دانه سویا شد. همچنین مشاهدات ما نشان داد که همبستگی بسیار بالایی بین داده‌های حاصل از روش آنزیمی- آزمایشگاهی و روش پیشنهادی سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل در برآورد میزان پروتئین قابل تجزیه در شکمبه (r^2=۰/۹۳) و قابلیت هضم پس از شکمبه‌ای (r^2=۰/۹۶) وجود دارد. به نظر می‌رسد اکسترود کردن با کاهش بخش C نیتروژن و افزایش قابلیت هضم روده‌ای پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه روش بهتری برای فرآوری دانه سویا به منظور افزایش میزان پروتئین عبوری آن باشد و استفاده از زیربخش‌های نیتروژن‌دار در تخمین میزان پروتئین قابل تجزیه در شکمبه می‌تواند جایگزین مناسبی برای روش‌های آنزیمی معتبر باشد.

کلمات کلیدی: اکسترود کردن، برشته کردن، روش آنزیمی، قابلیت هضم شکمبه‌ای، قابلیت هضم پس از شکمبه‌ای

مقدمه

مدل‌های کنونی تغذیه، نیازهای پروتئینی را بر اساس پروتئین قابل متابولیسم[1] بیان می‌کنند که نیازمند تعیین میزان پروتئین میکروبی قابل هضم وارد شده به روده، پروتئین با منشاء خوراکی که در شکمبه غیرقابل تجزیه[2] و در روده قابل هضم باشد و پروتئین‌های با منشاء درونی[3] است (NRC، ۲۰۰۱). تعیین مقدار پروتئین قابل‌متابولیسم مواد خوراکی برای نشخوارکنندگان بر میزان تأمین اسیدهای‌آمینه قابل جذب توسط مواد خوراکی در روده کوچک متمرکز است. بنابراین برآورد دقیق مقدار پروتئین قابل تجزیه در شکمبه[4] و غیرقابل تجزیه در شکمبه و قابل هضم در روده برای سیستم های تغذیه‌ای که بر مبنای پروتئین قابل متابولیسم می‌باشد، بسیار ضروری است (استرن و همکاران، ۱۹۹۷). از طرفی روشهای فرآوری مواد خوراکی می‌تواند اثرات متفاوتی بر میزان پروتئین قابل تجزیه و غیر قابل تجزیه در شکمبه در مواد خوراکی متفاوت داشته باشد. در مطالعه‌ای اثر اکسترود کردن و برشته کردن بر تجزیه شکمبه‌ای و پس از شکمبه‌ای چند نوع دانه روغنی مورد بررسی قرار گرفت و گزارش شد که این دو روش برای افزایش میزان پروتئین عبوری دانه سویا و کتان مناسب می‌باشد اما برای دانه کانولا اکسترود کردن روش مناسبی نیست (تورنر و مک نیون، ۲۰۱۱).

روشهای مختلف برون تنی[5] و درون تنی[6] به منظور تخمین میزان پروتئین قابل تجزیه و غیر قابل تجزیه در شکمبه و پروتئین قابل هضم در روده برای انواع مواد خوراکی استفاده شده است (استرن و همکاران، ۱۹۹۷؛ مک نیون و همکاران، ۲۰۰۲؛ گارگالو و همکاران، ۲۰۰۶). روش‌های برون تنی نسبت به روش‌های درون تنی سریعتر و کم هزینه‌تر می‌باشند. اما در بین روشهای برون تنی نیز دقت و سرعت دست‌یابی به داده‌ها خصوصاً برای مواد خوراکی فرآیند شده متفاوت می‌باشد. نشان داده شده که که روش آنزیمی- آزمایشگاهی روش مناسبی برای برآورد قابلیت هضم شکمبه‌ای و روده‌ای پروتئین انواع کنجاله و دانه غلات حرارت دیده می‌باشد (مک نیون و همکاران، ۲۰۰۲). اما دسترسی به آنزیم پروتئاز و پپسین- پانکراتین ممکن است در همه شرایط امکان پذیر نباشد. در سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل از زیر بخش‌های نیتروژن‌دار به منظور تخمین میزان پروتئین قابل تجزیه و غیر قابل تجزیه در شکمبه و همچنین برآورد میزان پروتئین قابل هضم در روده استفاده می‌شود (استرن و همکاران، ۱۹۹۷). استفاده از زیر بخش‌های مختلف نیتروژن‌دار روشی سریع، کم هزینه‌تر و قابل انجام در شرایط اکثر آزمایشگاه‌ها می‌باشد. تا به حال مقایسه‌ای بین داده‌های به دست آمده با استفاده از مدل‌های پیشنهادی سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل و داده‌های روشهای آنزیمی معتبر مانند روش آنزیمی- آزمایشگاهی (استرن و همکاران، ۱۹۹۷) صورت نگرفته است. بنابراین هدف از این مطالعه مقایسه اثر دو روش برشته کردن و اکسترود کردن دانه سویا بر ترکیب شیمیایی، بخش‌های نیتروژن‌دار، تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین خام و قابلیت هضم روده‌ای پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه و مقایسه داده‌های تجزیه پذیری شکمبه‌ای و قابلیت هضم پس از شکمبه‌ای پروتئین در دو روش آنزیمی- آزمایشگاهی و مدل‌های پیشنهادی سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل بود.

مواد و روش‌ها

فرآوری دانه سویا

به منظور برشته کردن، دانه‌های سویا خام از تونلی استوانه‌ای چرخشی با یک شعله و دمنده در پایان آن در معرض هوای داغ عبور داده شد. دانه‌ها به مدت ۲ دقیقه از تونل استوانه‌ای عبور داده شدند به طوری که دمای دانه‌ها در زمان خروج از تونل ۱۴۵ درجه سانتی‌گراد بود. سپس دانه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در همین دما و در جایی خارج از تونل نگهداری شدند و بعد از آن مرحله سرد شدن انجام شد. برای اکسترود کردن، ابتدا دانه‌های سویا با یک آسیاب چکشی با توری ۳ میلی‌متری آسیاب شد و پس از آن به یک اکسترود کننده تجاری با نقاله مارپیچی وارد شدند. سرعت چرخش نقاله ۱۰۰ دور در دقیقه بود و دما و فشار در پایان مارپیچ به ترتیب ۱۴۵ درجه سانتی‌گراد و ۲۰ اتمسفر بود.

آنالیز شیمیایی و تعیین بخش‌های نیتروژن‌دار

نمونه‌های دانه سویای فرآوری نشده، برشته و اکسترود شده به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک و پس از آن با آسیاب (Foss, Cyclotec-1093) دارای الک یک میلی‌متری آسیاب شدند. پروتئین خام نمونه‌های آزمایشی بر اساس روش‌های استاندارد (AOAC, 1995) تعیین شد.

---

[1] Metabolizable protein
[2] Rumen undegradable protein (RUP)
[3] Endogenous
[4] Rumen Degradable protein (RDP)
[5] In Vitro
[6] In Vivo

غلظت نیتروژن نمونه‌ها با استفاده از دستگاه کجلدال (Foss-2400) اندازه‌گیری شد. بخش‌های مختلف نیتروژن‌دار[نیتروژن غیر پروتئینی (A)، نیتروژن محلول در بافر بورات فسفات (B_1)، نیتروژن محلول در شوینده خنثی (B_2)، نیتروژن محلول در شوینده اسیدی (B_3) و نیتروژن نامحلول در شوینده اسیدی (C)] نمونه‌ها بر اساس روش پیشنهادی لیسیترا و همکاران (۱۹۹۶) اندازه‌گیری شد.

برآورد پروتئین قابل تجزیه در شکمبه و پروتئین قابل هضم در روده بر اساس پیشنهادات سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل

با استفاده از زیر بخش‌های نیتروژن‌دار به دست آمده مقادیر پروتئین قابل تجزیه در شکمبه (RDP) و غیر قابل تجزیه در شکمبه (RUP) بر اساس فرمول‌های پیشنهاد شده توسط سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص دانشگاه کرنل تخمین زده شد (اسنیفن و همکاران، ۱۹۹۲). به این منظور ثابت نرخ تجزیه (Kd) برای بخش‌های B_1، B_2 و B_3 به ترتیب ۲۰۰، ۹ و ۰/۲۰ (درصد در هر ساعت) برای سویای خام و ۱۵۰، ۵/۵ و ۰/۱۷ (درصد در هر ساعت) برای دانه سویای برشته و اکسترود شده در نظر گرفته شد (اسنیفن و همکاران، ۱۹۹۲) و محاسبات برای دو ثابت نرخ عبور ۰/۰۵ و ۰/۰۸ (در ساعت) انجام شد.

فرمول (۱):

$$RDP= A + [B_1 \times ((K_dB_1/(K_dB_1+K_pB_1)) + B_2 \times ((K_dB_2/(K_dB_2+K_pB_2)) + B_3 \times ((K_dB_3/(K_dB_3+K_pB_3))]$$

فرمول (۲):

$$RUP=B_1 \times ((K_pB_1/(K_dB_1+K_pB_1)) + B_2 \times ((K_pB_2/(K_dB_2+K_pB_2)) + B_3 \times ((K_pB_3/(K_dB_3+K_pB_3))$$

قابلیت هضم روده‌ای پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه (DRUP) با استفاده از میزان ADIN و بر اساس فرمول ذیل تخمین زده شد:

فرمول (۳):

$$DRUP=0.9 \times [RUP-ADIN]$$

برآورد پروتئین قابل تجزیه در شکمبه و پروتئین قابل هضم در روده با استفاده از روش آنزیمی- آزمایشگاهی

به منظور تعیین تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین خام و قابلیت هضم پس از شکمبه‌ای پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه از روش آنزیمی- آزمایشگاهی (مک نیون و همکاران، ۲۰۰۲) استفاد شد. در این روش برای هر نمونه خوراکی (دانه سویای فرآوری نشده، دانه سویای برشته و دانه سویای اکسترود شده) ۸ کیسه نایلونی کوچک با ابعاد ۳ × ۶ سانتی‌متر و اندازه منافذ ۵۰ میکرومتر در نظر گرفته شد. سپس یک گرم (براساس ماده خشک) از هر نمونه وزن و در داخل هر کیسه ریخته شد. در کیسه‌ها با حرارت بسته شد و به مدت ۲۴ ساعت در دسیکاتور قرار داده شدند. سپس وزن هر کیسه حاوی نمونه اندازه‌گیری و ثبت شد. حداکثر ۳۰ کیسه در یک ظرف شیشه‌ای حاوی ۲/۴ لیتر بافر بورات فسفات (۱۳/۱۷ گرم تترابورات سدیم ۱۰ آبه و ۷/۶۰۴ گرم مونوسدیم فسفات یک آبه هر لیتر آب مقطر) با pH برابر با ۷/۸ قرار داده شد و به مدت یک ساعت در آون شیکردار در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون شدند. سپس ۴۰۰ میلی‌لیتر محلول پروتئاز [(سیگما P-۵۱۴۷) ۱۹۸۰ واحد پروتئیاز در ۴۰۰ میلی لیتر محلول بافر بورات فسفات] به بطری اضافه و انکوباسیون به مدت ۴ ساعت دیگر در آون شیکردار با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد ادامه یافت. پس از آن کیسه‌ها از درون محلول خارج و سه بار به طور کامل با آب مقطر شسته شدند. نیمی از کیسه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۵۰ تا ۵۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند و به منظور اندازه‌گیری تجزیه پذیری شکمبه‌ای وزن خشک و مقدار نیتروژن در باقیمانده اندازه‌گیری شد. چهار کیسه باقیمانده برای هر نمونه خوراکی به مدت یک ساعت در درون یک ظرف شیشه‌ای حاوی ۸۰۰ میلی‌لیتر محلول پپسین (سیگما ۷۰۰۰-

P)-اسیدکلریدریک (۳/۴ گرم پپسین در ۸۰۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال) در آون شیکردار با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون شد. سپس ۴۰ میلی‌لیتر محلول هیدروکسید سدیم یک نرمال اضافه شد و بعد از نیم ساعت یک لیتر محلول پانکراتین (سیگما P-۷۵۴۵، ۶۸ گرم فسفات دی-هیدروژن پتاسیم و ۶ گرم پانکراتین در هر لیتر آب مقطر) با pH برابر با ۷/۸ به ظرف اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت دیگر انکوباسیون ادامه یافت. پس از پایان انکوباسیون کیسه‌ها با آب مقطر شسته شدند و به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۵۰ تا ۵۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. میزان پروتئین قابل تجزیه در شکمبه و میزان پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه و قابل هضم پس از شکمبه با فرمول‌های زیر محاسبه شد:

فرمول (۴):

$$\text{تجزیه شکمبه‌ای پروتئین خام} = \frac{\text{مقدار پروتئین در هر کیسه قبل از شکمبه گذاری} - \text{مقدار پروتئین در هر کیسه پس از شکمبه گذاری}}{\text{مقدار پروتئین در هر کیسه قبل از شکمبه گذاری}}$$

فرمول (۵):

$$\text{قابلیت هضم پس از شکمبه‌ای پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه} = \frac{\text{مقدار پروتئین در هر کیسه قبل از روده گذاری} - \text{مقداری پروتئین در هر کیسه پس از روده گذاری}}{\text{مقدار پروتئین در هر کیسه قبل از روده گذاری}}$$

در این فرمول‌ها منظور از شکمبه گذاری مرحله‌ای است که نمونه در محلول بافر بورات فسفات و آنزیم پروتئاز قرار می‌گیرند و منظور از روده گذاری مرحله‌ای است که نمونه در محلول پپسین- پانکراتین کشت داده می‌شود.

آنالیز آماری

داده‌های مربوط به بخش‌های نیتروژن‌دار، تجزیه شکمبه‌ای پروتئین خام و قابلیت هضم پس از شکمبه‌ای پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از رویه GLM نرم افزار آماری SAS (۱۹۹۹) آنالیز واریانس شدند. میانگین‌ها در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن با هم مقایسه شدند. به منظور مقایسه داده‌های روش سه مرحله‌ای آنزیمی با داده‌های مدل‌های پیشنهادی توسط سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص دانشگاه کرنل برای تخمین پروتئین قابل تجزیه و غیر قابل تجزیه در شکمبه (برای نرخ عبور ۵ درصد در ساعت) و پروتئین قابل هضم پس از شکمبه از رویه رگرسیون نرم افزار SAS استفاده شد.

جدول ۱- اثر روشهای مختلف فرآوری بر بخش‌های نیتروژن‌دار دانه سویای خام، برشته و اکسترود شده (درصد از نیتروژن کل)

بخش‌های نیتروژن‌دار	تیمار			SEM	ارزش-p	مقایسه مستقل	
	خام	برشته	اکسترود			۱	۲
نیتروژن غیر پروتئینی(A)	۱۸/۹^{a}	۸/۹^{b}	۱۳/۳^{c}	۰/۶۰	<۰/۰۱	<۰/۰۱	<۰/۰۱
نیتروژن حقیقی محلول در بافر بورات فسفات (B_1)	۳۲/۲^{a}	۳/۴^{b}	۱۳/۵^{c}	۰/۹۸	<۰/۰۱	<۰/۰۱	<۰/۰۱
نیتروژن حقیقی محلول در شوینده خنثی(B_2)	۲۵/۶^{a}	۵۳/۸^{b}	۴۹/۲^{c}	۰/۵۰	<۰/۰۱	<۰/۰۱	<۰/۰۱
نیتروژن حقیقی محلول در شوینده اسیدی (B_3)	۲۰/۴^{a}	۲۹/۷^{b}	۲۲/۸^{c}	۰/۳۱	<۰/۰۱	<۰/۰۱	<۰/۰۱
نیتروژن حقیقی نا محلول در شوینده اسیدی (C)	۲/۹^{a}	۴/۰^{b}	۱/۲^{c}	۰/۲۷	<۰/۰۱	<۰/۰۱	<۰/۰۱
نیتروژن قابل حل ($A+B_1$)	۵۱/۱^{a}	۱۲/۴^{b}	۲۶/۸^{c}	۰/۴۹	<۰/۰۱	<۰/۰۱	<۰/۰۱

- مقایسه ۱: مقایسه سویای خام با سویای برشته و اکسترود شده و مقایسه ۲: مقایسه سویای برشته با اکسترود شده.

^{a,b,c}: در هر ردیف میانگین‌ها با حرف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می باشند ($P<۰/۰۵$).

نتایج و بحث

اثر فرآوری حرارتی بر غلظت بخش های نیتروژن‌دار دانه سویا

اثر روش فرآوری حرارتی بر بخش‌های نیتروژن‌دار دانه سویا در جدول ۲ آمده است. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که فرآیند حرارتی منجر به کاهش میزان نیتروژن غیر پروتئینی (بخش A) نسبت به سویای خام شد (P<۰/۰۵). برشته کردن نسبت به اکسترود کردن کاهش بیشتری را در میزان نیتروژن بخش A (۵۲/۶ درصد در مقایسه با ۲۹/۳ درصد) و نیتروژن بخش B_1 (۸۹/۴ درصد در مقایسه با ۵۸ درصد) دانه سویا ایجاد کرد(P<۰/۰۵). مطالعات پیشین محققین (گانش و همکاران، ۲۰۰۶؛ فتحی نسری و همکاران، ۲۰۰۸) گزارش کردند که نسبت به سویای خام، فراوری دانه سویا با حرارت سبب کاهش میزان نیتروژن بخش A و نیتروژن بخش B_1 شد (P<۰/۰۵). با توجه به این که بیشتر بخش A دانه سویا از اسیدهای آمینه آزاد و پپتیدها تشکیل شده است (اسنیدر و کاون، ۱۹۸۷) کاهش بخش A دانه سویا در آزمایش حاضر در اثر فرآوری حرارتی را می‌توان به تغییر شکل پپتیدها، کاهش قابلیت حل شدن و رسوب آنها ارتباط داد. مشابه با این نتایج، فرآوری حرارتی دانه سویا در مطالعات قبلی (فتاح نیا و همکاران، ۱۳۹۰؛ گانش و همکاران، ۲۰۰۶؛ فتحی نسری و همکاران، ۲۰۰۸) بخش B_1 را کاهش داد. بیشتر پروتئین‌های دانه سویا از گلوبولین‌ها و آلبومین‌ها تشکیل شده‌اند که قابلیت حل شدن بالایی در آب دارند و به حرارت حساس هستند (اسنیدر و همکاران، ۱۹۸۷). حرارت با ایجاد پیوندهای عرضی در ساختمان گلوبولین‌ها و آلبومین‌ها، قابلیت حل شدن آنها را کاهش می‌دهد (ون سوست، ۱۹۹۴) که می تواند دلیلی برای کاهش بخش B_1 در دانه سویای حرارت داده شده در آزمایش حاضر باشد. میزان نیتروژن محلول در شوینده خنثی (B_2) و محلول در شوینده اسیدی (B_3) در دانه سویای برشته شده و اکسترود شده بالاتر از دانه سویای خام بود (P<۰/۰۵). همچنین نتایج این آزمایش نشان داد که میزان بخش B_2 و B_3 در سویای برشته شده (به ترتیب، ۵۳/۸ درصد و ۲۹/۷درصد) نسبت به سویای اکسترود شده (به ترتیب، ۴۹/۲درصد و ۲۲/۷درصد) بالاتر بود(P<۰/۰۵). نتایج مطالعات پیشین نشان داد که با اعمال فرایند حرارتی بر دانه سویا بخش B_2 پروتئین دانه سویا افزایش یافت [۱، ۶]. در این مطالعه با کاهش (P<۰/۰۵) بخش محلول ($A+B_1$) دانه سویا فرایند شده با حرارت انتظار می رفت که نسبت بخش B_2 و B_3 افزایش یابد. حرارت دادن مواد خوراکی، پروتئین‌های بخش B_2 را تخریب کرده و آنها را نا محلول می‌سازد، در این صورت بخش‌های B_3 و C افزایش می‌یابد (ردی و همکاران، ۱۹۹۴؛ لیسترا و همکاران، ۱۹۹۶؛ گارگالو و همکاران، ۲۰۰۶). بخش B_3 نیتروژن متصل به دیواره سلولی می باشد و در شوینده خنثی حل نمی‌شود . افزایش بخش B_3 در سویای حرارت دیده به دلیل بالا بودن اثر فشار و درجه حرارت طی فرآوری می باشد که منجر به افزایش میزان دناتوره شدن ساختار پروتئین، کاهش حلالیت و در نهایت افزایش بخش کند تجزیه پروتئین می شود (آندر ساندر و همکاران، ۱۹۹۳).

بیشترین و کمترین درصد بخش C به ترتیب در دانه سویای برشته و اکسترود شده مشاهده شد (P<۰/۰۵). برشته کردن دانه سویا در مطالعه فتحی نسری و همکاران (۱۳۸۳) بخش C را افزایش داد که نتایج حاصل از این مطالعه را تأیید می‌کند. در حالی که کاهش در بخش C در دانه سویای اکسترود و برشته شده شده نسبت به سویای خام گزارش شده بود (فتاح نیا و همکاران، ۱۳۹۰؛ تورنر و همکاران، ۱۹۹۳). از طرفی کاهش در بخش C پروتئین اکسترود بخش C که در سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل[1] (اسنیفن و همکاران، ۱۹۹۲) غیر قابل تجزیه در شکمبه و غیر قابل هضم در روده فرض می‌شود، رابطه مستقیمی با میزان آسیب حرارتی پروتئین دارد (تورنر و همکاران، ۱۹۹۳؛ مک نیون و همکاران، ۲۰۰۲). از طرفی گزارش شده که بخشی از نیتروژن نامحلول در شوینده اسید در کل دستگاه گوارش و شکمبه قابل تجزیه می باشد و کاملاً غیر قابل تجزیه نیست و میزان آن تابع نوع ماده خوراکی می باشد (جهانی عزیزآبادی و همکاران، ۲۰۰۷).

[1] Cornell net carbohydrate and protein system

جدول ۲- اثر روشهای مختلف فرآوری دانه سویا بر میزان پروتئین قابل تجزیه و غیرقابل تجزیه در شکمبه (درصد از کل پروتئین خام) به دست آمده بر اساس زیر بخش‌های نیتروژن دار

فراسنجه	دانه سویا			SEM	ارزش-p	مقایسه مستقل	
	خام	برشته	اکسترود			۱	۲
پروتئین قابل تجزیه در شکمبه							
نرخ عبور (درصد\ ساعت)							
۰/۰۵	^{a}۶۷/۹	^{b}۳۹/۸	^{c}۵۱/۹	۰/۲۸	<۰/۰۱	۰/۴۱	<۰/۰۱
۰/۰۸	^{a}۶۴.۳	^{b}۳۳/۱	^{c}۴۵/۷	۰/۳۰	<۰/۰۱	<۰/۰۱	<۰/۰۱
پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه							
نرخ عبور (درصد\ ساعت)							
۰/۰۵	^{a}۳۲/۱/	^{b}۶۰/۲	^{c}۴۸/۱	۰/۲۸	<۰/۰۱	<۰/۰۱	<۰/۰۱
۰/۰۸	^{a}۳۵/۷	^{b}۶۶/۹	^{c}۵۴/۴	۰/۳۰	<۰/۰۱	<۰/۰۱	<۰/۰۱

- مقایسه ۱: مقایسه سویای خام با سویای برشته و اکسترود شده و مقایسه۲: مقایسه سویای برشته با اکسترود شده.

^{a,b,c}: در هر ردیف میانگین‌ها با حرف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می باشند (P<۰/۰۵).

جدول ۳ - اثر برشته کردن و اکسترود کردن دانه سویا بر میزان ناپدید شدن شکمبه‌ای پروتئین خام (درصد از کل پروتئین) و پس از شکمبه ای پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه با استفاده از روش آنزیمی-آزمایشگاهی

	دانه سویا			SEM	ارزش-p	مقایسه مستقل	
	خام	برشته	اکسترود			۱	۲
تجزیه شکمبه‌ای	۰/۷۲^{a}	۰/۵۷^{c}	۰/۶۶^{b}	۰/۰۰۱	<۰/۰۱	<۰/۰۱	<۰/۰۱
قابلیت هضم پس از شکمبه‌ای	۰/۹۵^{a}	۰/۶۱^{b}	۰/۸۷^{a}	۰/۰۳	<۰/۰۱	<۰/۰۱	<۰/۰۱

^{a,b,c}: در هر ردیف میانگین‌ها با حرف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

- مقایسه ۱: مقایسه سویای خام با سویای برشته و اکسترود شده و مقایسه۲: مقایسه سویای برشته با اکسترود شده.

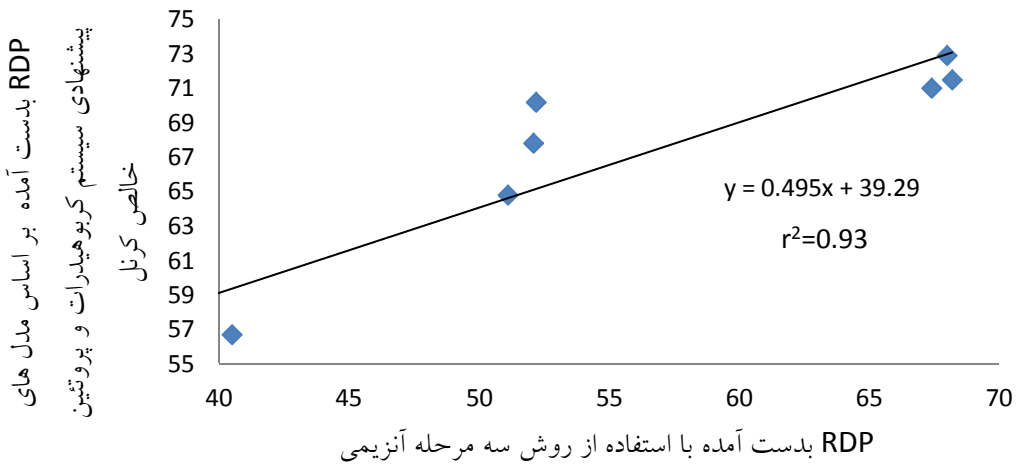
اثر فرآوری حرارتی بر تجزیه شکمبه‌ای و قابلیت هضم پس از شکمبه‌ای پروتئین خام

اثر برشته و اکسترود کردن دانه سویا بر میزان پروتئین قابل تجزیه و غیر قابل تجزیه در شکمبه که با استفاده داده‌های زیر بخش‌های نیتروژن‌دار و فرمول پیشنهادی سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص دانشگاه کرنل (اسنیفن و همکاران، ۱۹۹۲) و روش آنزیمی آزمایشگاهی (مک نیون و همکاران، ۲۰۰۲) به دست آمده به ترتیب در جدول ۳ و ۴ آمده است. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که فرآوری حرارتی منجر به کاهش میزان پروتئین قابل تجزیه در شکمبه و افزایش میزان پروتئین عبوری دانه سویا شد (P<۰/۰۵) که نتایج مطالعات پیشین را در خصوص اثر فرآیند حرارتی بر افزایش میزان پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه تأیید می‌کند (مک نیون و همکاران، ۲۰۰۲؛ فتحی نسری و همکاران، ۲۰۰۸). نتایج حاصل از اندازه‌گیری زیربخش‌های نیتروژن‌دار دانه سویای خام، برشته شده و اکسترود شده پیشنهاد می‌کند که برشته کردن و اکسترود کردن در شرایط این آزمایش سبب کاهش نرخ و یا میزان تجزیه پذیری شکمبه‌ای و افزایش میزان پروتئین عبوری دانه سویا به روده باریک می‌شود. از طرفی با توجه به پایین بودن بخش C دانه سویای اکسترود شده، به نظر می‌رسد که روش به کار رفته در این مطالعه برای اکسترود کردن در مقایسه با روش به کار رفته برای برشته کردن به منظور افزایش میزان پروتئین عبوری مناسب‌تر باشد. کاهش ناپدید شدن شکمبه‌ای پروتئین خام را می‌توان به تشکیل واکنش‌های میلارد در اثر فرآوری حرارتی ارتباط داد. حرارت باعث ایجاد پیوند عرضی بین بنیان‌های آزاد عامل آمین درون پروتئین و بین پروتئین‌ها می‌شود و از این طریق موجب شکسته شدن و

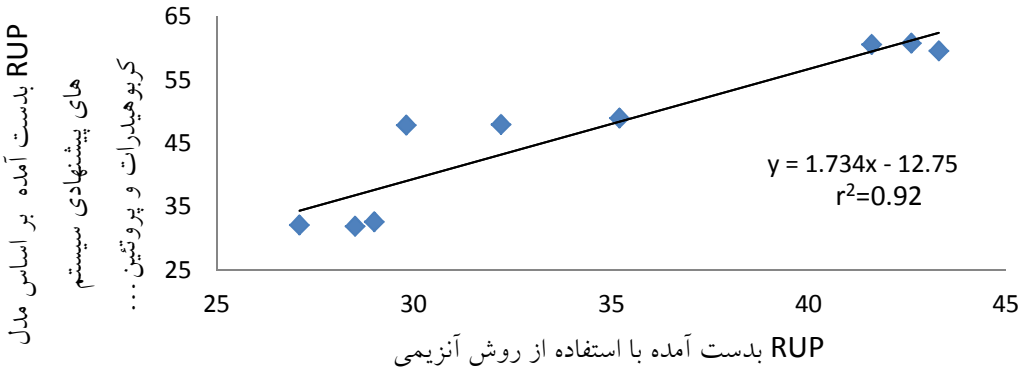
انعقاد پروتئین شده و حلالیت آنها را در شکمبه کاهش می‌دهد (ون سوست و ماسون، ۱۹۹۱). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که اکسترود کردن و برشته کردن سبب کاهش مقدار نیتروژن محلول ($A+B_1$) دانه سویا شد. حل شدن پروتئین در مایع شکمبه عاملی کلیدی در تعیین حساسیت پروتئین به پروتئازهای میکروبی می‌باشد و بنابراین بر تجزیه‌پذیری آن توسط پروتئازها تأثیر دارد (NRC، ۲۰۰۱). بیشترین میزان قابلیت هضم پس از شکمبه‌ای پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه در دانه سویای خام و اکسترود شده و کمترین در دانه سویای برشته ($P<۰/۰۵$) مشاهده شد (جدول ۳). بین قابلیت هضم پس از شکمبه‌ای پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه به دست آمده با استفاده از روش آنزیمی- آزمایشگاهی در دانه سویای خام و اکسترود شده اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد اما قابلیت هضم پس از شکمبه ای در دانه سویای برشته شده از دانه سویای خام و اکسترود شده کمتر بود ($P<۰/۰۵$). محققین گزارش کردند که قابلیت هضم روده‌ای پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه در دانه سویای خام نسبت به دانه سویای فرآوری شده با حرارت، کمتر بود که دلیل آن را از بین رفتن اثر بازدارندگی فاکتور ضد ترپسین دانه سویا بیان کردند (کالسامیگلیا و استرن، ۱۹۹۵؛ مک نیون و همکاران، ۲۰۰۲). همچنین در مطالعه‌ای دیگر گزارش شد که اکسترود کردن قابلیت هضم روده‌ای پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه را افزایش داد (مجون و همکاران، ۲۰۱۰). به نظر می‌رسد کاهش در قابلیت هضم شکمبه‌ای سویای فرآوری شده با حرارت در روده جبران می‌شود (کالسامیگلیا و استرن، ۱۹۹۵؛ مک نیون و همکاران، ۲۰۰۲). در آزمایش حاضر، پایین‌تر بودن قابلیت هضم پس از شکمبه‌ای پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه در دانه سویای برشته شده در مقایسه با دانه سویای خام و اکسترود شده احتمالاً به دلیل بالاتر بودن بخش C در دانه برشته شده نسبت به دانه خام می‌باشد.

مقایسه روش آنزیمی-آزمایشگاهی با مدل‌های پیشنهادی سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل در برآورد تجزیه شکمبه‌ای و قابلیت هضم پس از شکمبه‌ای پروتئین

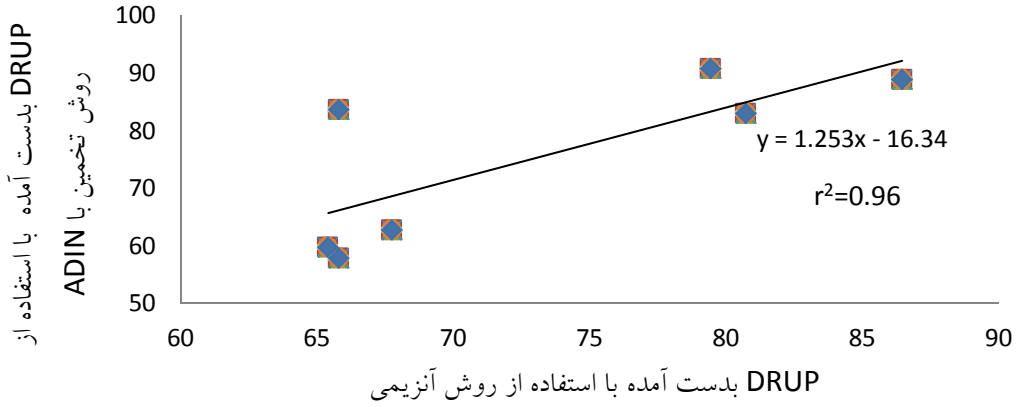
شکل ۱ و ۲ رابطه میزان پروتئین قابل تجزیه و غیر قابل تجزیه در شکمبه تخمین زده شده با استفاده از روش آنزیمی- آزمایشگاهی و مدل‌های پیشنهادی سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل که بر اساس زیر بخش‌های نیتروژن‌دار قابلیت هضم را تخمین می‌زند، نشان می‌دهد. نتایج حاصل از این مطالعه همبستگی بالای بین روش آنزیمی- آزمایشگاهی و روش پیشنهادی سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل در برآورد پروتئین قابل تجزیه و غیر قابل تجزیه در شکمبه در دانه سویای خام و فرآیند شده را نشان داد (به ترتیب r^2=۰/۹۳ و r^2=۰/۹۲). شکل ۳ رابطه بین قابلیت هضم روده‌ای پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه که با استفاده از روش روش آنزیمی- آزمایشگاهی و یا بر اساس مقدار نیتروژن نامحلول در شوینده اسیدی به دست آمده را نشان می‌دهد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که همبستگی بالایی (r^2=۰/۹۶) بین دو روش در برآورد قابلیت هضم روده‌ای پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه وجود دارد. همبستگی پایینی بین غلظت نیتروژن نامحلول در شوینده اسیدی و قابلیت هضم روده‌ای به دست آمده با استفاده از محلول پپسین-پانکراتین برای منابع پروتئینی حرارت دیده گزارش شد (مک نیون و همکاران، ۲۰۰۲). در سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل (اسنیفن و همکاران، ۱۹۹۲) نیتروژن نامحلول در شوینده اسیدی در شکمبه و روده غیر قابل هضم فرض می‌شود. در حالی که گزارش شده که بخشی از نیتروژن نامحلول در شوینده اسیدی مواد خوراکی حرارت دیده و خام در شکمبه و روده تجزیه می‌شود (جهانی عزیزآبادی و همکاران، ۲۰۰۷). بنابراین استفاده از نیتروژن نامحلول در شوینده اسیدی به عنوان بخش غیر قابل هضم در تخمین قابلیت هضم روده‌ای منجر به تخمین هضم پذیری روده‌ای کمتر از میزان واقعی خواهد شد. از طرفی همبستگی بالای بین داده‌های قابلیت هضم روده‌ای پروتئین به دست آمده با استفاده از آنزیم پپسین-پانکراتین با داده های درون تنی و کیسه‌های نایلونی متحرک گزارش شده است (ون سوست، ۱۹۹۴؛ مک نیون و همکاران، ۲۰۰۲). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که استفاده از زیر بخش‌های نیتروژن دار بر اساس مدل‌های پیشنهادی سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل (اسنیفن و همکاران، ۱۹۹۲) برای برآورد میزان پروتئین قابل تجزیه و غیر قابل تجزیه در شکمبه در دانه سویای خام و فرآیند شده می‌تواند روش جایگزین سریع و مناسبی به جای روش آنزیمی- آزمایشگاهی باشد.



شکل۱- همبستگی بین روش آنزیمی- آزمایشگاهی و مدل‌های پیشنهادی سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل در برآورد پروتئین قابل تجزیه در شکمبه (RDP)، دانه سویا حرارت دیده با استفاده از روش‌های مختلف



شکل۲- همبستگی بین روش آنزیمی- آزمایشگاهی و مدل‌های پیشنهادی سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل در برآورد پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه (RUP)، دانه سویا حرارت دیده با استفاده از روش‌های مختلف



شکل۳- همبستگی بین روش سه مرحله‌ای آنزیمی و استفاده از میزان ADIN در برآورد پروتئین غیر قابل تجزیه قابل هضم در روده (DRUP) دانه سویا فرآوری شده با استفاده از روش‌های مختلف

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این آزمایش نشان داد فرآیند حرارتی منجر به کاهش مقدار بخش محلول ($A+B_1$) و افزایش مقدار بخش B_2 نیتروژن دانه سویا شد، بنابراین فرآوری حرارتی می‌تواند نرخ تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین دانه سویا را کاهش و منجر به افزایش میزان پروتئین عبوری آن شود. همچنین روش به کار رفته برای برشته کردن در این مطالعه در مقایسه با اکسترود کردن اثرات منفی بر قابلیت هضم روده‌ای پروتئین تجزیه نشده در شکمبه دارد. بنابراین هرچند که اکسترود کردن منجر به افزایش نرخ و میزان آزاد سازی چربی در شکمبه خواهد شد که ممکن است اثرات منفی بر فعالیت‌های میکروبی شکمبه داشته باشد، اما با توجه به این که روش مناسب فرآوری دانه سویا روشی است که تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمبه را کاهش دهد اما بر قابلیت هضم روده‌ای پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه اثر منفی نداشته باشد، به نظر می‌رسد اکسترود کردن در مقایسه با روش به کار رفته برای برشته کردن در این آزمایش، روش مناسب‌تری برای فرآوری حرارتی دانه سویای خام می‌باشد. همچنین نتایج این آزمایش نشان داد که تخمین قابلیت هضم شکمبه‌ای با استفاده از زیر بخشهای نیتروژن‌دار منبع خوراکی همبستگی بالایی با روش آنزیمی- آزمایشگاهی دارد و می‌توان از این روش به عنوان روش جایگزین روش‌های آنزیمی استاندارد جهت برآورد تجزیه شکمبه‌ای و قابلیت هضم پس از شکمبه‌ای پروتئین منابع خوراکی استفاده کرد.

منابع

فتاح نیا، ف.، موسوی، س. غ. و عبدی، ا.، ۱۳۹۰. اثر روشهای مختلف فرآوری بر تجزیه پذیری شکمبه‌ای و زیربخش های نیتروژن‌دار دانه سویا. گزارش طرح تحقیقاتی دانشگاه ایلام.

فتحی نسری، م. ح.، دانش مسگران، م.، ولی زاده، ر.، نیکخواه، ع.، امامی م، ر. و هروی موسوی، ع. ر.، ۱۳۸۳. اثر حرارت دادن (برشته کردن) بر ترکیب شیمیایی، بخشهای نیتروژن دار ، ضرایب تجزیه پذیری و ناپذیر شدن شکمبه‌ای- روده‌ای ماده خشک و پروتئین خام دو واریته (سحر و ویلیامز) دانه کامل سویا. دو فصلنامه علوم و صنایع کشاورزی. شماره ۱، صفحات ۳۷-۲۳.

AOAC., 1995. Official methods of analysis, 16th Edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA. pp: 554, 575, 654.

Calsamiglia, S. and Stern, M.D., 1995. A three-step *in vitro* procedure for estimating intestinal digestion of protein in ruminants. Journal of Animal Science. 73: 1459-1465.

Can, A. and Yilmaz, A., 2002. Usage of xylose or glucose as non-anzymatic browning agent for reducing ruminal protein degradation of soybean meal. Small Ruminant Research. 46: 173-178.

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

Ganesh, D. and Grieve, D.G., 1990. Effect of roasting raw soybeans at three temperatures on in situ dry matter and nitrogen disappearance in dairy cows. Journal of Dairy science. 73: 3222-3230.

Gargallo, S., Calsamiglia, S. and Ferret, A., 2006. Technical note: a modified three-step *in vitro* procedure to determine intestinal digestion of protein. Journal of Animal Science. 84: 2163-2167.

Jahani-Azizabadi, H., Danesh Mesgaran, M., Valizadeh, R. and Nasiri moghadam, H., 2007. *In situ* ruminal disappearance of acid detergent insoluble nitrogen (ADIN) of various feeds. Journal of Animal Science Vol. 85, Suppl. 1/ Journal of Dairy Science Vol. 90, Suppl. 1/Poultry Science. Vol. 86, Suppl. 1, M297.

Licitra, G., Hernandez, T. and Van Soest, P., 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology. 57: 347-358.

McNiven, M.A., Prestlokken, E., Mydland, L.T, and Mitchell, A.W., 2002. Laboratory procedure to determine protein digestibility of heat-treated feedstuffs for dairy cattle. Animal Feed Science and Technology. 96: 1-13.

Mjoun, K., Kalscheur, K.F, Hippen, A.R and Schingoethe, D.J., 2010. Ruminal degradability and intestinal digestibility of protein and amino acids in soybean and corn distillers grains products. Journal of Dairy science. 93: 4144-4154.

National Research Council., 2001. Nutrient Requirement of Dairy Cattle, 7th revised ed. National Academy of Science, Washington, DC.

Reddy, P.V., Morrill, J.L. and Nagaraja, T.G., 1994. Release of free fatty acids from raw or processed soybeans and subsequent effects on fiber digestibilities. Journal of Dairy science. 77: 3410-3416.

SAS Institute., (1999) SAS/STAT User's Guide: Statistics, version 8.01 Edition. SAS Inst., Inc., Cary, North Carolina.

Sniffen, C.J., O'Connor, J.D., Fox, D.G. and Russell, J.B., 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. Journal of Animal Science. 70: 3562-3577.

Snyder, H.E. and Kwon, T.W., 1987. Soybean utilization. Van Nostrand Reinhold Company, Newyork, NY.

Stern, M.D., Bach, A. and Calsamiglia, S., 1997. Alternative techniques for measuring nutrient digestion in ruminants. Journal of Animal. Science. 75: 2256-2276.

Turner, T.D. and Mc Niven, A.M., 2011. *In vitro* N degradability and N digestibility of raw, roasted or extruded canola, linseed and soybean. Agriculture and food science. 20: 298-304.

Undersander, D., Mertens, D.R. and Thiex, N., 1993. Forage analyses procedures. National Forage Testing Association Proceedings, Omaha, NE, pp. 95-103.

Van Soest, P.J., 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. 2nd ed. Cornell Univ. Press, Ithaca, NY.

Van Soest, P.J. and Mason, V.C., 1991. The influence of the maillard reaction upon the nutritive value of fibrous feeds. Animal Feed Science and Technology. 32: 45-53.

Livestock Research (Quarterly)
Vol. 5, No. 2, Summer 2016
p. 25-35

Birjand University

Comparison between enzymatic procedure and CNCPS proposed method to estimate rumen degradable and intestinal digestible protein of soybean seed processed with two different methods

M. Rahmati[1], F. Fatahnia[2] and H. Jahani-Azizabadi*[3]

1- MSc Student, Department of Animal Science, Ilam University
2- Associate Professor, Department of Animal Science, Ilam University
3- Assistant Professor, Department of Animal Science, Kurdistan University
*Corresponding Author Email: ho.jahani@uok.ac.ir

Submitted: 16 October 2016 **Accepted: 06 May 2017**

Abstract

This experiment was conducted to compare between in vitro enzymatic procedure and the use of nitrogen fractions for estimate rumen degradable protein and post-ruminal digestibility of rumen undegradable protein of raw, roasted and extruded soybean seed. Relative to the control, roasting and extruding decreased A and B_1 fractions of nitrogen and soluble nitrogen of soybean seed but resulted in an increase of B_2, B_3 and C (except for extruding method) fractions. The lowest rumen degradable and post-ruminal digestible protein was observed in roasted soybean seed. Results showed that heat processing led to change in protein fractions and decreased ruminal protein degradability of soybean seed. In addition, our findings showed there was a high correlation between enzymatic-laboratory procedure and proposed method with cornel net carbohydrate and protein system for predict amount of rumen degradable (r^2=0.93) and post-ruminal digestible (r^2=0.96) protein. It appears that extruding processing with a decrease in C fraction of nitrogen and increase in post ruminal digestibility of rumen undegradable protein of soybean is the better method for enhancing escaping protein of soybean seed. In addition, the use of nitrogen fractions could be appropriate methods for enzymatic procedure to determine rumen degradable and post ruminal digestible protein of soybean seed.

Keywords: Extruding, Enzymatic method, Post-ruminal digestibility, Roasting, Ruminal digestibility