

تاثیر فرآوری کنجاله کلزا و کنجاله سویا با سطوح مختلف تانن استخراج شده از پوست پسته بر بخش‌های مختلف پروتئین خام بر اساس سیستم CNCPS

علی رضا جولازاده^۱، مهدی دهقان بناذکی^۲* و کامران رضایزدی^۲

تاریخ: ۹۵/۴/۱ تاریخ پذیرش: ۹۶/۹/۲۸

^۱ دانشجوی دکتری دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

^۲ به ترتیب استاد و دانشیار گروه علوم دامی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

*مسئول مکاتبه: Email: dehghanb@ut.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: بهبود ارزش غذایی مواد خوراکی مورد استفاده در تغذیه نشخوارکنندگان با استفاده از روش‌های فرآوری مناسب و کاربردی نقش مهمی در کاهش هزینه‌های تولید و بهبود عملکرد تولیدی دام‌ها دارد. هدف: هدف از این پژوهش مطالعه اثر سطوح مختلف تانن استخراج شده از پوست پسته بر زیر بخش‌های پروتئین کنجاله کلزا و کنجاله سویا بر اساس سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل (CNCPS) بود. روش کار: ابتدا پوست پسته آفتاب خشک توسط الک‌هایی با قطر منافذ ۰/۵ میلی‌متر آسیاب شده و به مدت ۲۴ ساعت با نسبت ۱ به ۱۰ (پوست پسته:آب) در آب خیسانده شد. به منظور تهیه عصاره صاف شده، خیساب پوست پسته از صافی عبور داده شد. سپس عصاره صاف شده و به منظور به دست آوردن عصاره غلیظ شده که حاوی ۱۱ درصد فنول کل و ۷/۱۳ درصد تانن کل در ماده خشک عصاره بود در آب جوشانده شد. سپس کنجاله‌ها در شش سطح مختلف شاهد (بدون عصاره حاوی تانن)، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۳۰ (گرم تانن/۱۰۰ گرم ماده خشک کنجاله سویا و یا کنجاله کلزا) فرآوری شدند. سپس بخش‌های پنج‌گانه پروتئین آنها بر اساس سیستم CNCPS اندازه‌گیری شد. **نتایج:** بر اساس نتایج بدست آمده سطح ۵ درصد فرآوری کنجاله کلزا کمترین بخش محلول (مجموع A، B₁) را در مقایسه با سایر سطوح نشان داد. همچنین با افزایش سطوح فرآوری مقدار بخش C کاهش یافت. در مورد کنجاله سویا فرآوری در سطح ۳۰ درصد باعث تغییر نسبت بخش‌های محلول (مجموع A و B₁) (۱۲/۳۷ درصد) و بخش‌های نامحلول (مجموع B₂، B₃ و C) (۸۷/۶۲ درصد) در مقایسه با تیمار شاهد (فرآوری با آب) ($P < 0/05$) و سایر سطوح گردید. تانن استخراج شده از پوست پسته باعث کاهش تجزیه پذیری شکمبه‌ای پروتئین کنجاله سویا در مقیاس آزمایشگاهی شد، ولی در مورد کنجاله کلزا تجزیه پذیری شکمبه‌ای را افزایش داد. **نتیجه‌گیری نهایی:** در نهایت چنین به نظر می‌رسد که تانن استخراج شده از پوست پسته تاثیرات متفاوتی بر روند تجزیه پذیری بخش‌های مختلف پروتئین خام کنجاله سویا و کنجاله کلزا داشته است ولی استفاده از روش‌های درون تنی برای تایید این نتایج ضروری به نظر می‌رسد.

واژگان کلیدی: کنجاله سویا، کنجاله کلزا، تانن، پوست پسته، سیستم CNCPS

¹ Cornell Net Carbohydrate and Protein System

مقدمه

در سال‌های اخیر مقدار زیادی پسماند پسته در ایران تولید شده است (بطور میانگین سالانه حدود ۳۱۰ هزار تن در سال) که این مقدار از ضایعات سبب بروز مشکلات زیست محیطی در کشور شده است (بهگر و همکاران ۲۰۱۱). ضایعات پسته که در طی مراحل پوست گیری دانه پسته بعد از برداشت بدست می‌آید شامل پوست نرم خارجی، خوشه، برگ، مغز و پوست استخوانی می‌باشد که می‌تواند در تغذیه حیوانات نشخوار کننده مورد استفاده قرار گیرد (ولی زاده و همکاران ۲۰۰۹). پوست پسته دارای سطوح بالای ترکیبات فنولیک و تانن می‌باشد و می‌تواند روی قابلیت دسترسی مواد مغذی در حیوانات تاثیر گذار باشد (رید ۱۹۹۵). تانن‌ها ترکیبات ثانویه فنولیک موجود در برخی گیاهان هستند که معمولاً به دو دسته تانن‌های متراکم و تانن‌های قابل هیدرولیز تقسیم می‌شوند (ماکار ۲۰۰۳). تانن‌های قابل هیدرولیز شامل یک دسته کربوهیدراتی که اغلب گلوکز است می‌باشند که با گالیک اسید یا الایک اسید استریفه شده اند. تانن‌های متراکم الیگومرها یا پلیمرهایی از واحد‌های فلاونوئید هستند که با پیوند‌های کربن-کربن به هم متصل شده اند (هاگرم ۱۹۸۸).

تانن‌ها می‌توانند در صورت وجود شرایط مناسب (در pH بیش از ۵) با پروتئین‌ها باند شده و آن‌ها را از دسترس میکروارگانیسم‌ها دور نگه دارند. از این رو بنظر می‌رسد که تانن‌ها بر هضم بخش‌های مختلف پروتئین تاثیرگذار باشند. ارزش غذایی پروتئین خام مواد خوراکی برای نشخوارکنندگان به وسیله سرعت و مقدار تجزیه آنها در شکمبه و بخش‌های پروتئین قابل تجزیه در شکمبه (RDP) و پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه (RUP) تعیین می‌گردد. به این منظور و برای تفکیک انواع پروتئین‌های حقیقی بخش نیتروژن غیر پروتئینی، پروتئین قابل تجزیه و پروتئین باند شده با دیواره سلولی از روش CNCPS استفاده می‌شود (گو و همکاران ۲۰۰۸).

در این روش نیتروژن خوراک به ۵ قسمت تقسیم می‌شود، نیتروژن غیر پروتئینی^۱ NPN که همان بخش A است، پروتئین حقیقی یا بخش B که به سه قسمت B₁، پروتئین حقیقی قابل حل با سرعت تجزیه پذیری بالا، B₂، پروتئین محلول در شوینده خنثی، B₃، پروتئین نامحلول در شوینده خنثی ولی محلول در شوینده اسیدی تقسیم می‌شود و بخش C که بخش نامحلول در شوینده اسیدی و غیر قابل تجزیه می‌باشد (زاهو و همکاران ۲۰۰۸).

مطالعات مختلفی در زمینه استفاده از تانن‌ها به عنوان یک افزودنی در خوراک جهت کاهش تجزیه پذیری کنجاله‌های پروتئینی در شکمبه و بهبود قابلیت هضم پروتئین در شکمبه انجام گرفته است. فرتوس و همکاران (۲۰۰۰) از عصاره تانن تجاری جهت محافظت پروتئین کنجاله سویا در برابر تجزیه شکمبه استفاده کردند اگر چه در این مطالعه یک روند کاهش در تجزیه پذیری شکمبه‌ای پروتئین مشاهده شد ولی بر قابلیت هضم آزمایشگاهی پروتئین غیر قابل تجزیه بی تاثیر بود. بر اساس یک تئوری، تانن غیر محلول باعث کاهش تجزیه پذیری پروتئین در شکمبه شده در حالیکه تانن آزاد با آنزیم‌های میکروبی باند شده و آنها را بی اثر می‌سازد (باری و مانلی ۱۹۸۴). جولازاده و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که کنجاله سویای فراوری شده با تانن استخراج شده از پوست پسته موجب بهبود عملکرد پروار و ضریب تبدیل غذایی در گوساله‌های هلشتاین می‌شود. الوزیری و همکاران (۲۰۰۵) بیان کردند که افزودن تانیک اسید به کنجاله سویا سبب کاهش پتانسیل تولید گاز و آمونیاک تولیدی در شرایط آزمایشگاهی شد.

از این رو مطالعه حاضر به منظور بررسی تاثیر فراوری کنجاله کلزا و کنجاله سویا با عصاره حاوی تانن پوست پسته بر بخش‌های مختلف پروتئین خام این کنجاله‌ها بر اساس سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل (CNCPS) انجام شد.

¹ Rumen degradable protein² Rumen undegradable protein³ Non-protein nitrogen

مواد و روش‌ها

اندازه گیری ترکیبات شیمیایی

ماده خشک با قرار دادن نمونه‌ها در آون در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت (AOAC ۱۹۹۰) اندازه گیری شد. نیتروژن موجود در نمونه‌ها، با سه تکرار توسط روش کج‌دال اندازه‌گیری شده (Kjeldahl method, kejeltec 1030 autoanalyzer,) (foss tecator AB, Hogans, Denmark) و میزان پروتئین خام آنها از طریق حال ضرب میزان نیتروژن در ۶/۲۵ بدست آمد (AOAC ۱۹۹۰). دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی سلولز با روش (ون سوست و همکاران ۱۹۹۱) و با استفاده از دستگاه اتوماتیک فایبر تک Fiber foss Tecator 1010 automated apparatus تعیین گردید. کلیه تجزیه‌های شیمیایی در سه تکرار و همچنین تعیین میزان ترکیبات فنولیک نیز در سه تکرار انجام شد.

استخراج تانن از پوست پسته

پوست پسته از واریته فندق‌ی ازکارخانه پوست‌گیری پسته در شهرستان قم تهیه گردید. استخراج تانن طی دو مرحله صورت پذیرفت (کاپروسی و همکاران ۲۰۱۱). ابتدا پوست پسته آفتاب خشک توسط الک‌های ۰/۵ میلی متری آسیاب شده و به مدت ۲۴ ساعت با نسبت ۱ به ۱۰ (پوست پسته: آب) در آب خیسانده شد. سپس عصاره بدست آمده به منظور جدا سازی پوست پسته آسیاب شده از صافی عبور داده شد. در مرحله دوم به منظور افزایش غلظت تانن در عصاره صاف شده، عصاره تحت حرارت ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و در آخر عصاره آبی پوست پسته حاوی ۱۴٪/۱۱ فنل کل (در ماده خشک عصاره) بدست آمد. میزان تانن کل عصاره نیز ۷/۱۳٪ (در ماده خشک عصاره) بود.

ترکیبات فنولیک

اندازه گیری کل ترکیبات فنولی با استفاده از روش (ماکار و سینگ ۱۹۹۲) صورت پذیرفت. در اندازه‌گیری کل ترکیبات فنولی از معرف فولین-سیکالتو (Folin ciocalteu) استفاده شد که نتایج به صورت معادل

اسید تانیک (به عنوان استاندارد) بیان گردید. برای اندازه گیری ترکیبات فنولی غیر تاننی از از پلی وینیل پیرلیدون PVPP استفاده شد. این ماده خاصیت پیوند شدن با تانن را دارد (ماکار ۲۰۰۰). میزان کل تانن از اختلاف مقدار بدست آمده برای کل ترکیبات فنولی از مقدار بدست آمده برای کل ترکیبات فنولی غیر تاننی بدست آمد، که تانن مترامک و قابل هیدرولیز بخشی از آن می‌باشد (ماکار ۲۰۰۰).

فرآوری کنجاله‌ها

ابتدا کنجاله سویا و کنجاله کلزا با الک ۱ mm آسیاب شده و سپس کنجاله‌ها در سطوح مختلف ۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۳۰ (گرم عصاره تانن/در ۱۰۰ گرم ماده خشک کنجاله سویا و کلزا) فرآوری شد و سپس به منظور کاهش رطوبت ناشی از فرآوری با عصاره تانن دار به مدت ۴۸ ساعت در آون تحت حرارت ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. روش فرآوری بدین صورت بود که در ابتدا هر یک از سطوح بالا در مقدار ۱۰۰ سی سی آب مقطر حل شد و محلول حاوی سطوح مختلف تانن به ۱۰۰ گرم کنجاله سویا و کنجاله کلزا افزوده شد.

روش CNCPS

بخش‌های مختلف نیتروژن کنجاله سویا و کنجاله کلزا بعد از فرآوری با تانن با استفاده از روش (لیسترا و همکاران ۱۹۹۶) اندازه‌گیری شد. در این روش در ابتدا ۰/۰۵ گرم از نمونه خشک و آسیاب شده با غربال ۱ میلی متری وزن شده و سپس ۵۰ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه افزوده شد. پس از ۳۰ دقیقه با افزودن ۱۰ میلی لیتر^۱ TCA، ۱۰٪ محلول ۲۰-۳۰ دقیقه باقی ماند سپس با فیلتر کردن و شستشوی باقی مانده‌ها بر روی کاغذ صافی میزان نیتروژن مواد باقی مانده را به وسیله دستگاه کج‌دال اندازه گرفته شد. به منظور محاسبه بخش NPN نیتروژن بدست آمده از نیتروژن کل کم شد. به منظور محاسبه بخش B₁، ۵۰ میلی لیتر بافر بورات فسفات را به ۰/۰۵ گرم از نمونه اضافه کرده و به مدت ۳ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت. میزان نیتروژن مواد

¹Trichloro acetic acid

پروتئین خام نیز کاهش یافته است که یکی از دلایل آن رقیق شدن کنجاله‌ها پس از فرآوری می‌باشد. همچنین به نظر می‌رسد که از دسترس خارج شدن بخشی از نیتروژن قابل اندازه‌گیری توسط فنل‌های موجود در عصاره پسته نیز از دلایل احتمالی کاهش میزان پروتئین بعد از فرآوری باشد. تقریباً در اکثر سطوح فرآوری نیز مقدار NDF و ADF نسبت به تیمار شاهد کاهش یافته است.

باقی مانده در روی کاغذ صافی توسط دستگاه کجلدال اندازه‌گیری شد و با کسر این مقدار از کل پروتئین خام میزان پروتئین محلول به دست آمد. بخش قابل حل پروتئین حقیقی نیز از طریق کسر NPN از این بخش بدست آمد. بخش B_3 با تعیین میزان نیتروژن موجود در دیواره سلولی ADIN محاسبه شد و بخش C به کمک نیتروژن مواد باقی مانده پس از روش تعیین ADF به دست آمد. کاغذ صافی واتمن کد ۵۴۱ برای فیلتراسیون مورد استفاده قرار گرفت و نتایج بصورت درصد پروتئین خام گزارش شد.

تجزیه و تحلیل آماری

برای انجام آنالیزهای آماری از طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار و ۳ تکرار با مدل آماری زیر در مورد هر کنجاله استفاده شد. رویه مدل خطی تعمیم یافته (GLM) و نرم افزار آماری (SAS 9.3 ۲۰۱۱) برای انجام تجزیه و تحلیل آماری و آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای مقایسه میانگین‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_j$$

مقدار هر مشاهده Y_{ij} :

میانگین کل μ :

نوع فرآوری T_i :

اثر اشتباه آزمایشی e_j :

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی عصاره حاوی تانن استخراج شده از پوست پسته در (جدول ۱) گزارش شده است. تاثیر سطوح مختلف فرآوری با تانن پوست پسته بر ترکیب شیمیایی کنجاله سویا در جدول ۲ نشان داده شده است. کلیه فرآوری‌ها باعث افزایش خاکستر کنجاله‌ها در مقایسه با تیمار شاهد شد زیرا عصاره حاوی خاکستر بالایی بود و با افزایش درصد عصاره سهم آلی کم شد. همچنین سطوح فرآوری ۲۰ و ۳۰ درصد باعث افزایش معنی‌دار خاکستر در مقایسه با شاهد ($P < 0.05$) شده است. با افزایش سطوح فرآوری مقدار

¹ Acid detergent insoluble nitrogen

جدول ۱- ترکیب شیمیایی عصاره تانن استخراج شده از پوست پسته

Table 1-Chemical composition of tannin extracted from pistachio hull

ترکیب شیمیایی Chemical composition	درصد در ماده خشک (% of DM)
Dry matter ماده خشک	85.00
Crude پروتئین خام protein	15.27
Ash خاکستر	22.35
Organic ماده آلی matter	77.65
Total phenol فنول کل	11.14
Total tannin تانن کل	7.130

جدول ۲ - اثر سطوح مختلف فرآوری بر ترکیب شیمیایی کنجاله سویا (بر حسب گرم در کیلو گرم ماده خشک)

Table 2- Effect of various processing levels on chemical composition of SBM¹ (g/kg DM)

تیمارها ² Treatment ²	شاهد	5%	10%	15%	20%	30%	SEM	P-value
ماده خشک	92.18 ^a	91.74 ^{ab}	91.33 ^{ab}	90.84 ^b	90.32 ^c	89.95 ^c	0.33	0.01
Dry matter								
ماده آلی	93.89 ^{ab}	94.53 ^a	93.48 ^b	93.28 ^b	92.33 ^c	90.24 ^d	0.253	<0.001
Organic matter								
خاکستر	6.110 ^{cd}	5.460 ^d	6.520 ^c	6.710 ^b	6.660 ^c	9.750 ^a	0.253	<0.001
Ash								
پروتئین خام	53.43	53.01	52.27	52.46	52.73	52.91	0.86	0.94
Crude protein								
دیواره سلولی	11.35 ^a	9.38 ^c	9.89 ^{abc}	10.87 ^{ab}	9.76 ^{abc}	9.50 ^{bc}	0.42	0.04
Neutral detergent fiber								
دیواره سلولی بدون همی سلولز	8.350 ^{ab}	8.660 ^a	8.340 ^{ab}	9.060 ^a	8.340 ^a	7.540 ^b	0.24	0.02
Acid detergent fiber								

۱. کنجاله سویای فرآوری شده با سطوح ۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۳۰ گرم عصاره حاوی تانن استخراج شده از پوست پسته

در ۱۰۰ گرم ماده خشک کنجاله سویا

حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح آماری $P < 0.05$ می‌باشد.

¹SBM, soybean meal; ²SBM treated with pistachio extract concentrate (PEC) at the levels of 0 (control), 5, 10, 15, 20 and 30 gr PEC /100 gr DM of SBM; Means within the same column with different superscript letters differ significantly ($P < 0.05$).

مشابه در مورد کنجاله کلزا نیز کلیه فرآوری‌ها باعث کاهش مقدار پروتئین خام شده است. مقدار NDF در کلیه سطوح فرآوری کاهش یافته است و در اکثر فرآوری‌ها بجز تیمار ۱۵ درصد مقدار ADF نیز کاهش یافته است. وحدانی و همکاران (۲۰۱۶) از عصاره حاوی تانن چای و

جدول (۳) بیانگر تاثیر سطوح مختلف فرآوری تانن پوست پسته بر ترکیب شیمیایی کنجاله کلزا می‌باشد. همانند کنجاله سویا، کلیه فرآوری‌ها باعث افزایش خاکستر نسبت به تیمار شاهد شده اند که می‌توان آن را به مقدار زیاد خاکستر موجود در عصاره نسبت داد. همانند کنجاله سویا و به دلایل

پروتئین و دیواره سلولی گیاه منبع تانن شبیه تر باشد تانن بهتر می‌تواند به این ساختارها متصل شود (ماکار ۲۰۰۳).

پسته در فرآوری کنجاله کلزا استفاده کرده و گزارش کردند که با افزایش سطوح تانن میزان NDF کنجاله کلزا کاهش یافت. هرچه ساختار پروتئین و دیواره سلولی کنجاله هدف به ساختار

جدول ۳- اثر سطوح مختلف فرآوری بر ترکیب شیمیایی کنجاله کلزا (بر حسب گرم در کیلو گرم ماده خشک)

Table 3- Effect of various processing levels on chemical composition of CM¹ (g/kg DM)

تیمارها ²	شاهد	5%	10%	15%	20%	30%	SE M	P- value
Treatment ²	contro l							
ماده خشک	92.23 ^a	91.65 ^b	90.74 ^c	90.50 ^d	90.17 ^e	89.67 ^f	0.18	0.02
Dry matter								
ماده آلی	93.08 ^a	92.56 ^a	92.79 ^a	92.92 ^a	91.25 ^b	91.54 ^b	0.235	<0.01
Organic matter								
خاکستر	6.910 ^b	7.430 ^b	7.210 ^b	7.080 ^b	8.750 ^a	8.460 ^a	0.235	<0.01
Ash								
پروتئین خام	36.07	35.32	35.33	36.77	36.56	37.45	0.673	0.24
Crude protein								
دیواره سلولی	28.13 ^a	27.27 ^b	26.78 ^c	26.72 ^c	26.25 ^d	25.52 ^e	0.145	<0.001
Neutral detergent fiber								
دیواره سلولی بدون همی سلولز	21.96 ^a	21.16 ^{ab}	21.11 ^{ab}	21.44 ^{ab}	20.59 ^b	18.50 ^c	0.286	<0.001
Acid detergent fiber								

۱. کنجاله کلزای فرآوری شده با سطوح ۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۳۰ گرم عصاره حاوی تانن استخراج شده از پوست پسته در ۱۰۰ گرم ماده خشک کنجاله کلزا

حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح آماری $P < 0.05$ می‌باشد.

¹CM, canola meal; ² CM treated with pistachio extract concentrate (PEC) at the levels of 0 (control), 5, 10, 15, 20 and 30 gr PEC /100 gr DM of CM.

Means within the same column with different superscript letters differ significantly ($P < 0.05$).

نیست. در مطالعه حاضر دلیل افزایش بخش A در سطوح پایین فرآوری به روشنی مشخص نیست، هر چند که خلیوند و همکاران (۲۰۱۰) علوفه اسپرس را به روش‌های مختلف فرآوری کرده و گزارش کردند که همبستگی بین میزان تانن و تجزیه پذیری بخش A در سیستم CNCPS معنی‌دار نیست. در بخش B₁ همانگونه که در جدول (۴) مشاهده می‌شود با افزایش تانن مصرفی در فرآوری کنجاله سویا در مقادیر این بخش روند کاهشی را شاهد هستیم ولی مجموع بخش‌های محلول در سطوح فرآوری ۵ و ۲۰٪ بالاترین اعداد را داشت. هر چند که از نظر آماری معنی‌دار نبود اما

مطابق جدول (۴) سطح فرآوری ۳۰٪ باعث افزایش بخش عبوری کنجاله سویا در مقایسه با سایر تیمارها شده است ($P < 0.05$). این سطح از فرآوری باعث تغییر نسبت بخش‌های محلول (B₁, A) (۱۲/۳۷٪) و بخش‌های نامحلول (B₃, B₂, C) (۸۷/۶۲٪) در مقایسه با تیمار شاهد و سایر سطوح شد. فرآوری کنجاله سویا با عصاره تانن پوست پسته تا سطح ۲۰ درصد تاثیری بر بخش B₁ نداشته است ولی سطح ۳۰ درصد این بخش را نسبت به تیمار شاهد کاهش داد ($P < 0.05$). بخش A در سطوح ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش یافته است و در سطوح ۲۰ و ۳۰ این افزایش معنی‌دار

همانطور که مشاهده می‌شود در سطح ۳۰٪ باعث افزایش بخش B₂ و C و در سطح ۲۰٪ سبب افزایش بخش C در مقایسه با تیمار شاهد شده است. با افزایش سطوح تانن استخراج شده از پوست پسته بخش‌های محلول پروتئین کنجاله سویا روند کاهشی را در مقایسه با تیمار نشان داد و بر مقدار بخش‌های نامحلول افزوده شد که این نتایج با نتایج آزمایش هراس و همکاران (۲۰۰۰) و علی پور و روزبهان (۲۰۱۰) همسویی دارد.

فرآوری در سطح ۳۰٪ باعث کاهش معنی‌دار بخش B₁ نسبت به تیمار شاهد شده است. بنظر می‌رسد که مقدار تانن در این سطح از فرآوری به حدی بوده که توانسته با تشکیل کمپلکس تانن-پروتئین باعث اعمال اثر محافظت‌کنندگی بر روی پروتئین کنجاله سویا شده و تجزیه بخش B₁ این کنجاله را در سطح ۳۰٪ کاهش دهد. همه فرآوری‌ها توانسته باعث کاهش بخش B₃ شود و نیتروژن این بخش به بخش B₂ و C افزوده شده است و

جدول ۴- تقسیم بندی بخش‌های مختلف پروتئین خام کنجاله سویا بر اساس CNCPS (بر حسب درصد پروتئین خام)

Table 4- Fractionation of different crude protein content of SBM¹ based on CNCPS (percentages of total CP)

تیمارها ²	شاهد	5%	10%	15%	20%	30%	
Treatment ²	control						
بخش‌های محلول	A	2.500 ^a ±0.64	4.500 ^{ab} ±0.26	4.600 ^a ±0.27	4.700 ^a ±0.1	3.100 ^{bc} ±0.17	3.100 ^{bc} ±0.17
Soluble fraction	B ₁	12.80 ^a ±0.74	12.40 ^{ab} ±0.55	9.800 ^{ab} ±0.51	10.80 ^{ab} ±1.10	12.20 ^{ab} ±0.8	9.300 ^b ±0.53
	A+B ₁	15.30 ^{ab} ±1.2	16.90 ^a ±0.9	14.40 ^{ab} ±0.05	15.50 ^{ab} ±1.16	15.20 ^{ab} ±0.7	12.40 ^b ±0.04
بخش‌های نامحلول	B ₂	81.30 ^b ±1.1	80.80 ^b ±0.6	83.20 ^{ab} ±0.5	81.90 ^{ab} ±1.1	81.70 ^{ab} ±0.7	84.70 ^a ±0.4
Insoluble fraction	B ₃	1.600 ^a ±0.06	0.500 ^b ±0.02	0.200 ^c ±0.02	0.500 ^b ±0.06	0.300 ^{bc} ±0.04	0.200 ^c ±0.03
	C	1.900 ^b ±0.0	1.900 ^b ±0.14	2.300 ^{ab} ±0.12	2.200 ^{ab} ±0.34	2.900 ^a ±0.3	2.900 ^a ±0.01
	B ₂ +B ₃ +C	84.80 ^{ab} ±1.2	83.20 ^b ±0.50	85.70 ^{ab} ±0.5	84.50 ^{ab} ±1.16	84.70 ^{ab} ±0.68	87.70 ^a ±0.37

۱. کنجاله سویای فرآوری شده با سطوح ۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۳۰ گرم عصاره حاوی تانن استخراج شده از پوست پسته در ۱۰۰ گرم ماده خشک کنجاله سویا

حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح آماری $P < 0.05$ می‌باشد.

¹SBM, soybean meal; ²SBM treated with pistachio extract concentrate (PEC) at the levels of 0 (control), 5, 10, 15, 20 and 30 gr PEC /100 gr DM of SBM.

Means within the same column with different superscript letters differ significantly ($P < 0.05$).

استفاده پروتئین خام شامل کاهش نرخ هضم و قابلیت هضم پروتئین خام در شکمبه و در نتیجه افزایش نرخ عبور پروتئین قابل متابولیسم به دئودنوم گوساله‌های گوستی مشاهده شد (مزومو و همکاران ۲۰۱۱)، بنابراین به نظر می‌رسد که سطوح بالاتر تانن در فرآوری کنجاله سویا می‌تواند بر کاهش تجزیه بخش‌های پروتئین در شکمبه و افزایش پروتئین عبوری در حیوانات نشخوارکننده تاثیر گذار باشد. چندین مطالعه نشان دادند که تانن‌ها باعث کاهش نیتروژن آمونیاکی در شکمبه می‌شوند که آن هم می‌تواند بر تجزیه پروتئین‌ها در شکمبه

جهت استفاده از این خاصیت تانن‌ها یعنی باند شدن آنها با پروتئین، تحقیقات مشابهی انجام شده است که از این ترکیبات در افزایش پروتئین عبوری از شکمبه به روده استفاده شود. به عنوان مثال در تحقیقی که توسط مارتینز و همکاران (۲۰۰۴) انجام پذیرفت، اسید تانیک به دانه‌هایی از جنس بقولات مانند سویا افزوده شد که نتیجه آن کاهش تجزیه پذیری پروتئین و ماده خشک در این مواد خوراکی بود. در مطالعه ای دیگر استفاده از تانن متراکم در جیره‌ای که کنجاله سویا به عنوان منبع اصلی پروتئین حقیقی در جیره بود اثرات مثبت بر قابلیت

تاثیر بگذار (مزومو و همکاران ۲۰۱۱). در تحقیق دیگر گنزالس و همکاران (۲۰۰۵) مشاهده کردند که افزودن تانن به کنجاله سویا باعث کاهش تجزیه پذیری پروتئین و آمونیاک در شکمبه شد. علی پور و روزبهان (۲۰۱۰) گزارش کردند که تانن تفاله انگور باعث کاهش تجزیه پذیری پروتئین کنجاله سویا در شکمبه می‌شود. در این بررسی تانن استخراج شده از تفاله انگور را با مقادیر ۰، ۱۵، ۳۰، ۴۰ و ۶۰ گرم در کیلو گرم ماده خشک تانن استخراج شده با کنجاله سویا مخلوط کرده و مشاهده کردند که فرآوری کنجاله سویا یا تانن تفاله انگور باعث کاهش ۱۱-۴/۵ درصدی تولید گاز به روش آزمایشگاهی و قابلیت هضم بخش نیتروژن به روش *in sacco* شد و همچنین قابلیت هضم پروتئین در روده کوچک را افزایش داد.

بر اساس نتایج بدست آمده برای کلزا (جدول ۵) سطح فرآوری ۵٪ کمترین بخش محلول (مجموع A، B₁) را در مقایسه با سایر سطوح نشان داد. بخش A تحت تاثیر سطوح فرآوری قرار نگرفت، اما کلیه فرآوری ها باعث کاهش بخش B₂ و افزایش بخش B₁ نسبت به تیمار شاهد شد. در همه فرآوری‌ها بخش B₂ قسمت اعظم پروتئین را تشکیل داده است. این بخش با سرعت متوسطی در شکمبه تجزیه شده و بخشی از آن از شکمبه فرار کرده و به قسمت‌های پایین تر دستگاه گوارش وارد می‌شود. همه تیمارها باعث افزایش عددی بخش B₃ در مقایسه با تیمار کنترل شدند ولی این افزایش در سطوح ۱۰ و ۱۵٪ معنی دار نبود و فرآوری در سطوح ۵ و ۲۰٪ بیشترین افزایش را در بخش B₃ نشان داد. همچنین با افزایش سطوح فرآوری مقدار بخش C (که از نظر زیستی برای حیوان غیر قابل استفاده است) کاهش یافت (اسنیفن و همکاران ۱۹۹۲).

جدول ۵ - تقسیم بندی بخش‌های مختلف پروتئین خام کنجاله کلزا بر اساس CNCPS (بر حسب درصد پروتئین خام)

Table 5- Fractionation of different crude protein content of CM¹ based on CNCPS (percentages of total CP)

تیمارها ²	شاهد	5%	10%	15%	20%	30%	
Treatment ²	control						
بخش‌های محلول	A	3.300 ^{ab} ±0.2	3.800 ^a ±0.1	3.700 ^{ab} ±0.53	2.100 ^{ab} ±0.17	2.7 ^{ab} ±0.16	2.1 ^b ±0.12
Soluble fraction	B ₁	13.30 ^f ±0.6	16.30 ^e ±0.6	19.30 ^d ±0.6	22.80 ^c ±0.6	25.3 ^b ±0.6	27.88 ^a ±0.3
	A+B ₁	16.60 ^e ±0.6	20.10 ^d ±0.64	22.10 ^c ±0.95	25.20 ^b ±0.68	27.90 ^a ±0.67	29.80 ^a ±0.25
بخش‌های نامحلول	B ₂	73.90 ^a ±0.78	69.40 ^b ±0.76	67.30 ^c ±0.81	65.30 ^c ±0.62	61.50 ^d ±0.31	60.10 ^d ±0.34
Insoluble fraction	B ₃	8.100 ^b ±0.1	9.400 ^a ±0.09	8.600 ^b ±0.07	8.300 ^b ±0.18	9.400 ^a ±0.4	9.300 ^a ±0.15
	C	1.300 ^a ±0.04	1.100 ^{ab} ±0.03	1.100 ^{ab} ±0.09	1.100 ^{ab} ±0.08	1.100 ^b ±0.07	0.700 ^c ±0.10
	B ₂ +B ₃ +C	83.40 ^a ±0.7	79.90 ^b ±0.64	77.30 ^c ±0.95	74.80 ^d ±0.68	72.10 ^e ±0.67	70.20 ^e ±0.65

۱-کنجاله کلزای فرآوری شده با سطوح ۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۳۰ گرم عصاره حاوی تانن استخراج شده از پوست پسته در ۱۰۰ گرم ماده خشک کنجاله کلزا

حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح آماری $P < 0.05$ می‌باشد.

1-CM, canola meal; ² CM treated with pistachio extract concentrate (PEC) at the levels of 0 (control), 5, 10, 15, 20 and 30 gr PEC /100 gr DM of SBM.

Means within the same column with different superscript letters differ significantly ($P < 0.05$).

مقدار تانن مصرفی در کنجاله کلزا در بیشتر سطوح بخش C تغییری نداشته است ولی در سطوح ۲۰ و ۳۰ درصد این بخش به طور معنی‌دار نسبت به تیمار شاهد

پروتئین‌های متصل شده به تانن متراکم به همراه ترکیب‌های بدست آمده از واکنش میلارد و پروتئین‌های متصل شده به لیگنین، بخش C را شامل می‌شوند. با افزایش

ساختار پروتئین هدف با ساختار پروتئینی گیاهی که تانن از آن بدست آمده مشابهت داشته باشد. شاید مشاهده تفاوت بین رفتار تانن در باند شدن با پروتئین در کنجاله سویا و کلزا به دلیل تفاوت در ساختار پروتئینی آنها باشد. همچنین میل ترکیبی تانن‌ها به پروتئین‌های دارای ساختار باز و مارپیچ‌های تصادفی غنی از اسیدهای آمینه پرولین، گلايسین و گلوتامین بالاتر است (هاگرم ۱۹۹۸) و در نتیجه احتمالاً تفاوت در ساختار پروتئین‌های کنجاله سویا و کلزا می‌تواند دلیلی بر نتایج متناقض بدست آمده برای فرآوری این کنجاله‌ها با تانن پوست پسته باشد. بنظر می‌رسد که برای تایید این نظریه احتیاج به آزمایشات^۱ SDS-PAGE و تعیین ساختار پروتئینی این گیاهان است. همچنین ساختار پروتئین‌های این دو کنجاله نیز باید مشخص شود.

پایداری کمپلکس تانن-پروتئین به ویژگی‌های تانن و پروتئین، وزن ملکولی، ساختار ملکولی، نقطه ایزوالکتریک و شرایط محل اتصال (از جمله pH و دمای محیط) بستگی دارد. تانن‌های قابل هیدرولیز و متراکم تعداد زیادی گروه‌های فنولی آزاد دارند که به شکل پیوند های هیدروژنی قوی از جهات گوناگون با پروتئین و کربوهیدرات‌ها تشکیل کمپلکس می‌دهند (هاسلام ۱۹۸۹). همچنین ممکن است که تانن‌ها از طریق پیوندهای هیدروفوبیک باند شوند (هاسلام ۱۹۸۹). احتمالاً pH اسیدی عصاره پسته باعث شده است که شرایط برای اتصال تانن پسته به پروتئین بجای تانن کنجاله کلزا مناسب تر شود البته باید pH مناسب برای اتصال تانن به پروتئین‌ها مختلف را نیز بررسی کرد. شاید دلیل تغییر بخش‌های B₂ این باشد که این روش از تفاضل سایر بخش‌ها بدست می‌آید که در نتیجه چندان قابل اعتماد نخواهد بود. اثر تانگستیت اسید و TCA برای نوع پروتئین سویا و کلزا را نیز باید در نظر گرفت که احتمالاً باید برای کنجاله کلزا از تانگستیک اسید استفاده کرد که این مطلب می‌تواند دلیل مشاهده نتایج برای B₁ این باشد. اثر پروتئین خود عصاره باید از تانن جدا

کاهش یافته است ($P < 0.05$)، ولی در مقابل بخش عبوری B₂ کاهش و بخش B₃ افزایش یافته است. بخش محلول نیز افزایش معنی‌داری با افزایش سطح تانن نشان داده است. در واقع بیشترین بخش‌هایی که تحت تاثیر قرار گرفته‌اند بخش B₁، B₂ و B₃ هستند. در صورتی که در کنجاله سویا با افزایش سطح مصرف تانن تقریباً روند معکوسی مشاهده شده است و افزایش بخش عبوری (نا-محلول) مشاهده می‌گردد، ولی در کلزا چنین روندی در بخش محلول و B₁ دیده می‌شود که دلایل احتمالی آن در ادامه به طور کامل شرح داده شده است.

همان گونه که در نتایج مشاهده می‌شود فرآوری کنجاله کلزا با سطوح مختلف تانن نتوانسته باعث افزایش بخش RUP (مجموع بخش‌های نامحلول B₂، B₃ و C) کنجاله شود و در مجموع فرآوری با عصاره تانن سبب افزایش تجزیه پذیری شکمبه ای RDP (مجموع بخش‌های A و B₁) پروتئین کنجاله کلزا شده است. بنظر می‌رسد که یکی از دلایل تفاوت در نتایج بدست آمده در مورد دو کنجاله فرآوری شده با تانن می‌تواند وجود مقادیر طبیعی تانن در کنجاله کلزا باشد. کل محتوای فنلی کنجاله کلزا به حدود ۲٪ و محتوای تانن متراکم پوست کلزا نیز ممکن است به بیش از ۲٪ برسد این سطح بالا از ترکیبات فنلی ممکن است عامل به وجود آمدن رنگ تیره، مزه تلخ و تند و خاصیت قابض بودن کنجاله کانولا باشد (ناسزک و همکاران ۱۹۹۸)، این محتوای ترکیبات فنلی و تانن متراکم موجود در کنجاله کلزا میل ترکیبی بالایی برای ایجاد کمپلکس با پروتئین‌هایی با وزن ملکولی کم در این کنجاله را دارد (ناسزک و همکاران ۱۹۹۸). این امر موجب شده است که فرآوری در سطوح پایین باعث افزایش بخش‌های نامحلول در کنجاله کلزا در مقایسه با کنجاله سویا شود زیرا ممکن است به دلیل وجود ترکیبات فنلی و تانن متراکم در کنجاله کلزا کمپلکس تانن پروتئین بطور طبیعی در این کنجاله شکل گرفته باشد و ظرفیت باند شدن تانن استخراج شده از پوست پسته (سطوح بالاتر فرآوری) را کاهش داده باشد.

سیلانیکو و همکاران (۲۰۰۱) بیان کردند که زمانی یک تانن می‌تواند در باند کردن پروتئین موثر باشد که

¹ Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis techniques

نسبت به تیمار شاهد ($P < 0.05$) زیاد کرده است. میزان این تاثیر بستگی به غلظت تانن مصرف شده در فرآوری کنجاله سویا داشت ولی فرآوری کنجاله کلزا با عصاره حاوی تانن پوست پسته تجزیه پذیری شکمبه‌ای کنجاله کلزا (مجموع بخش‌های محلول A و B₁) را در مقیاس آزمایشگاهی افزایش داد.

شود. عصاره پوست پسته حاوی ۱۵/۲۷٪ پروتئین خام می‌باشد.

نتیجه گیری

عصاره حاوی تانن پوست پسته می‌تواند برای فرآوری کنجاله سویا مناسب باشد و سطح ۳۰ درصد این عصاره برای کنجاله سویا بیشترین اثر را در عبوری کردن پروتئین سویا داشت و مجموع بخش‌های نامحلول را

منابع مورد استفاده

- Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 1990. Official methods of analysis, 15th edition. AOAC, Washington, DC, USA.
- Alipour D and Rouzbehan Y, 2010. Effects of several levels of extracted tannin from grape pomace on intestinal digestibility of soybean meal. *Livestock Science* 128:87-91.
- Barry T and Manley T, 1984. The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep. 2. Quantitative digestion of carbohydrates and proteins. *The British journal of nutrition*, 51:493.
- Behgar M, Ghasemi S, Naserian A, Borzoie A and Fatollahi, H, 2011. Gamma radiation effects on phenolics, antioxidants activity and (*in vitro*) digestion of pistachio (*Pistachia vera*) hull. *Radiation Physics and Chemistry* 80:963-967.
- Capparucci C, Gironi F and Piemonte V, 2011. Tannins Extraction from Walnuts Residues. *Chemical Engineering* 24.
- Dentinho M, Moreira O, Pereira M and Bessa R, 2007. The use of a tannin crude extract from *Cistus ladanifer* L. to protect soya-bean protein from degradation in the rumen. *Animal*. 1: 645-650.
- Driedger A and Hatfield EE, 1972. Influence of tannins on the nutritive value of soybean meal for ruminants. *Journal of Animal Science*. 34(3), 465-468.
- El-Waziry AM, Nasser MEA and Sallam SMA, 2005. Processing methods of soybean meal: 1-effect of roasting and tannic acid treated-soybean meal on gas production and rumen fermentation *in vitro*. *Journal of Applied Sciences* 1(3): 313-320.
- Frutos P, Hervás G, Giráldez FJ, Fernández G and Mantecón AR, 2000. Digestive utilization of quebracho-treated soya bean meals in sheep. *Journal of Agricultural Science* 134:101-108.
- González S, Pabon ML and Carulla J, 2005. Effects of tannins on *in vitro* ammonia release and dry matter degradation of soybean meal. *Archivos Latinoamericanos de Produccion Animal* 10 (2).
- Guo X, Ding W, Han J and Zhou H, 2008. Characterization of protein fractions and amino acids in ensiled alfalfa treated with different chemical additives. *Animal Feed Science and technology* 142:89-98.
- Hagerman AE, 1988. Extraction of tannin from fresh and preserved leaves. *Journal of Chemical Ecology* 14:453-461.
- Hagerman AE, Riedl KM, Jones GA, Sovik KN, Ritchard NT, Hartzfeld PW and Riechel TL, 1998. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 18;46(5):1887-1892.
- Hagerman AE, Riedl KM and Rice RE, 2000. Tannins as biological antioxidants. In: *Plant Polyphenols* 2. Springer. pp 495-505.
- Haslam E, 1989. Plant polyphenols: vegetable tannins revisited, CUP Archive.
- Hervás G, Frutos P, Serrano E, Mantecón AR and Giráldez FJ, 2000. Effect of tannic acid on rumen degradation and intestinal digestion of treated soya bean meals in sheep. *Journal of Agricultural Science* 135 (3), 305-310.

- Jolazadeh AR, Dehghan-banadaky M and Rezayazdi K, 2015. Effects of soybean meal treated with tannins extracted from pistachio hulls on performance, ruminal fermentation, blood metabolites and nutrient digestion of Holstein bulls. *Anim Feed Sci Tech*, 203: 33-40.
- Khalilvand-behroozyar H, Dehghan-banadaky M and Rezayazdi K, 2010. The effects of phenolic compounds deactivation through different treatments on Sainfoin hay chemical composition, and a determination of its crude protein fractioning in AFRC and CNCPS system. *Iranian Journal of Animal Science*, 41(4): 391-403. (In Persian).
- 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.
- Makkar H and Singh B, 1992. Detannification of oak (*Quercus incana*) leaves: treatments and their optimization. *Animal Feed Science and Technology* 36:113-127.
- Makkar H, 2003. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research* 49:241-256.
- Makkar, HPS, 2000. Quantification of Tannins Tree and Shrub Foliage. A Laboratory Manual for the FAO/IAEA Co-ordinated Research Project on Use of Nuclear and Related Techniques to Develop Simple Tannin Assays for Predicting and Improving the Safety and Efficiency of Feeding Ruminants on Tanniniferous Tree Foliage. Joint FAO/IAEA of Nuclear Techniques in Food and Agriculture. Animal Production and Health Sub-Programme, FAO/IAEA Working Document, IAEA, Vienna, Austria. y Manual. Kluwer Academic Publishers, p. 102.
- Martinez T, Moyano F, Díaz M, Barroso F and Alarcón, 2004. Ruminal degradation of tannin-treated legume meals. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84:1979-1987.
- Mezzomo R, Paulino P, Detmann E, Valadares F, Paulino M, Monnerat J, Duarte M, Silva L and Moura L, 2011. Influence of condensed tannin on intake, digestibility, and efficiency of protein utilization in beef steers fed high concentrate diet. *Livestock Science* 141:1-11.
- Nacz M, Amarowicz A, Sullivan A and Shahidi F, 1998. Current research developments on polyphenolics of rapeseed/canola: a review. *Food Chemistry* 62:489-502.
- Nishimuta JF, Ely DG and Boling JA, 1974. Ruminal bypass of dietary soybean protein treated with heat, formalin and tannic acid. *Journal of Animal Science*. 39(5), 952-957.
- Reed JD, 1995. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *Journal of animal science* 73:1516-1528.
- Silanikove N, Perevolotsky A and Provenza FD, 2001. Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants. *Animal Feed Science and Technology* 91:69-81.
- Sniffen C, Connor JO, Van Soest P, Fox D and Russell J, 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *Journal of Animal science* 70:3562-3577.
- Stern MD, 1981. Ruminal protein degradation and intestinal amino acid supply. In: *Proceedings of the Minnesota Nutrition Conference*, Livestock Science. pp. 23-39.
- Vahdani N, Dehghan Banadaky M, Rezayazdi K and Khalighi-Sigaroodi F, 2016. Effects of semi-pure tannin usage, on crude protein fractions of soy bean meal and canola meal by CNCPS, *Iranian Journal of Animal Science* 47(2): 261-270. (In Persian).
- Valizadeh R and Naserian AA, 2009. Influence of drying and ensiling pistachio by-products with urea and molasses on their chemical composition, tannin content and rumen degradability parameters. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 89:69-81.
- Van Soest PV, Robertson J and Lewis B, 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74:3583-3597.
- Zhao G, Xue Y, Li Y and Zhang W, 2008. The estimation of duodenal utilizable true protein in sheep fed mixed rations using the nitrogenous fractions of the Cornell Net Carbohydrate and Protein System. *Small Ruminant Research* 76:190-194.

Effect of soybean meal and canola meal treated with various levels of tannin extracted from Pistachio hulls on crude protein fractions based on CNCPS system

A R Jolazadeh¹, M Dehghan Banadaky^{2*} and K Rezayazdi²

Received: June 21, 2016 Accepted: December 19, 2017

¹PhD Student, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Khuzestan, Iran

²Professor and Associate Professor, respectively, Department of Animal Science, Campus of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Tehran, Iran

*Corresponding author: Email: dehghanb@ut.ac.ir

Introduction: Treatment of a dietary protein such as soybean meal (SBM) to decrease its solubility and thus, its hydrolysis to ammonia in rumen fluid should increase the amount of the dietary protein that bypasses ruminal degradation without sacrificing nitrogen required for ruminal microbial growth (Nishimuta et al. 1974). Protection of dietary protein from ruminal microbial degradation increases the supply of amino acids to the small intestine (Stern, 1981). Thus, the efficiency of protein utilization by the animal should be improved (Driedger and Hatfield 1972). Using suitable and practical processing methods for improving the nutritive value of feedstuff in ruminant nutrition have an important role in reducing production costs and improving production performance of ruminant animals. The aim of this study was to investigate the effects of various levels of tannin extracted from pistachio hulls on crude protein (CP) fractionation of soybean meal (SBM) and canola meal (CM) based on the Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNCPS).

Material and methods: Sun dried pistachio hulls were ground through a 0.5 mm screen and soaked in water at a ratio of 1:10 (w/v) for 24 h. Then the pistachio extract was filtered and boiled to achieve pistachio extract concentrate (PEC) containing 11% total phenol and 7.13% total tannin on a dry matter (DM) basis. The rates of PEC treatment were determined based on the previous *in vitro* findings of Dentinho et al. (2007), who found that treatment of SBM with crude extract from *Cistus ladanifer* L. caused a decrease in rumen degradation of SBM protein, even at relatively low phenolic doses (12.5, 25 and 50 g total phenol per kg SBM). A total amount of 1 kg dried SBM and CM were ground through a 1 mm screen for each treatment. Both soybean meal and canola meal were treated with 0, 5, 10, 15, 20 and 30 % of PEC tannin. Finally, treated SBM and CM were air-dried for 12 h to reach DM content of about 90% in whole product. The protein fractions of treated SBM and CM were determined according to CNCPS system. Analysis of phenolic compounds was conducted in three replicates as described by Makkar (2000). Total phenol was determined by Folin-Ciocalteu's reagents, and the concentration was measured as tannic acid equivalent using tannic acid (Merck, Germany) as standard. Total tannins were measured as described by Makkar (2000). A completely randomized design with 6 treatments and 3 replicates was used for the study. The data were analyzed with general linear model procedure of SAS. Significance in the data was established when $P < 0.05$.

Results and discussion: Effects of SBM and CM treated with various amounts of PEC on chemical composition indicated that, adding PEC decreased DM, organic matter, neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) content, but did not affect concentrations of CP for both SBM and CM proteins relative to its control groups. Vahdani et al. (2016) reported decreased NDF content of CM protein treated with tannin extracts from tea and pistachio. On the basis of the results, the lowest amount of soluble fraction (Sum of A and B₁) was observed for CM at the level of 5% PEC tannin. There was no significant difference among treatments relative to control group in B₂ fraction. Inclusion of PEC increased B₃ fraction compared to control and 20% level has showed the highest B₃ fraction. There was a reduction in C fraction by increasing level of PEC. The

lowest soluble fraction of CP followed by the highest escaped protein (B₂+B₃) elicited to recommend 5% level as the best treatment for CM, in lab scale.

For SBM, the level of 30% PEC tannin increased bypass fractions of protein compared to other levels (P<0/05). This treatment changed the soluble (A and B₁) (12.37%) and insoluble fractions (B₂, B₃ and C) (87.62 %) in SBM compared to the control and other levels of PEC supplementation. The results suggest that PEC supplementation decreases ruminal degradation of SBM, but increased rumen degradability of CM protein. There are some methods to decrease protein degradation in rumen such as using tannins. Tannins have been shown to decrease ruminal degradation of crude protein and increase the amount of CP that reaches the abomasum and small intestine (Alipour and Rouzbehan 2010). When using SBM treated with 10 to 250 g of quebracho tannins per kg, Frutos et al. (2000) also observed a decrease in *in vitro* intestinal digestibility of protein at the greatest treatment rate. Further research will be needed to determine if tannin treatment of dietary protein improves its digestibility. It has been demonstrated that feeding SBM-treated PEC increases average daily gain and feed efficiency in Holstein bulls (Jolazadeh et al. 2015).

Conclusion: Overall, it seems that the tannin extracted from pistachio hull have different effect on CP degradability of SBM and CM. However, further research is necessary to investigate *in vivo* effects of these treatments.

Keywords: Canola meal, CNCPS System, Pistachio Hulls, Soybean Meal, Tannin