

اثرات خیساندن میوه بلوط در آب و تخمیر آن توسط مخمر نانوائی بر آنالیز بیوشیمیایی و قابلیت هضم آن برای کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در شرایط برون تنی

حجت اله علمداری^{۱*}، مهدیه نارویی^۱

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء بهبهان، بهبهان، ایران

چکیده

میوه بلوط ارزان و در دسترس اما غنی از تانن می باشد. اقتصادی ترین روش برای حذف مواد ضد تغذیه ای، فرآیند خیساندن است و از ظرفیت مخمر می توان در تجزیه آن ها استفاده نمود. میوه بلوط در آب معمولی به مدت ۲۴ ساعت و با تعویض آب هر ۸ ساعت یکبار خیسانده شد. سپس تخمیر به مدت ۲۴ ساعت در ۶ تیمار حاوی ۰/۵، ۱/۵، ۳، ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم مخمر نانوائی به ازای هر ۱۰۰ گرم بلوط انجام گردید. تیمار شاهد خیسانده و تخمیر نشد. از کپور معمولی به وزن ۹۵/۶ گرم جهت استخراج آنزیم برای تعیین قابلیت هضم بلوط در شرایط برون تنی استفاده شد. به طور معنی دار پروتئین خام در تمام تیمارها بجز تیمار ۰/۵ گرم مخمر و چربی خام در تیمارهای ۱۰ و ۱۵ گرم مخمر بیشتر از شاهد بود اما خاکستر، کل ترکیبات فنولی، ترکیبات فنولی غیر تاننی و تانن های متراکم در همه تیمارها کمتر از شاهد گردید. افزایش سطح مخمر سبب افزایش معنی دار میزان پروتئین خام شد. کمترین سطح کل ترکیبات فنولی در تیمار ۱۵ گرم مخمر مشاهده گردید. خیساندن در آب معمولی و استفاده از مخمر موجب افزایش معنی دار قابلیت هضم کربوهیدرات در تیمارهای ۰/۵، ۱/۵ و ۱۰ گرم مخمر و قابلیت هضم پروتئین در تیمارهای ۱/۵، ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم مخمر در مقایسه با شاهد شد. براساس کاهش میزان ترکیبات فنولی، افزایش مقدار پروتئین تولید شده و افزایش قابلیت هضم پروتئین و کربوهیدرات، تیمار حاوی ۱۰ گرم مخمر به ازای هر ۱۰۰ گرم بلوط جهت عمل آوری بلوط به روش خیساندن در آب - تخمیر توصیه می شود.

کلید واژه ها: آبی پروری، پروتئین، عامل ضد تغذیه ای، فرآوری خوراک، کربوهیدرات

مقدمه

آبی پروری نقش بسیار مهمی در تامین غذای انسان و کاهش فقر جهانی ایفا می کند^[۱]. بهبود بازدهی خوراک به عنوان چالش اصلی در سیستم های آبی پروری متراکم برای به حداکثر رساندن تولید می باشد. دسترسی همزمان به بازدهی بالاتر خوراک و قیمت پایین تر آن، موضوعی مهم برای متخصصان علم تغذیه آبیان است^[۲]. صنعت ساخت خوراک آبیان نیازمند روش های موثر برای غریبال گری مواد اولیه غذایی است تا بتوان از آنها بجای سایر موادی که در معرض نوسان قیمت و قابلیت دسترسی هستند، استفاده نمود^[۳]. بررسی قابلیت هضم مواد مغذی در شرایط درون تنی (*In vivo*)، روشی پذیرفته شده برای ارزیابی خوراک ها است اما این روش ممکن است نیاز به نیروی کار داشته، وقت گیر بوده و در مقیاس صنعتی مناسب نباشد. این موضوع، محرک توسعه روش های ارزیابی برون تنی (*In vitro*) است^[۴].

مساحت زیادی از سرزمین ایران پوشیده از جنگل های بلوط است. از میوه بلوط به دلیل ارزان و در دسترس بودن به عنوان خوراک دام استفاده می شود. این میوه در کنار داشتن ترکیبات مغذی، غنی از تانن می باشد که اثرات ضد تغذیه ای آن خصوصا در جانوران تک معده ای به اثبات رسیده است^[۵]. اقتصادی ترین روش برای حذف مواد ضد تغذیه ای از غذاهای گیاهی، فرآیند خیساندن است^[۶]. در تحقیقات متعدد اثر مثبت خیساندن در آب معمولی بر کاهش میزان ترکیبات فنولی و افزایش قابلیت هضم دانه ها و میوه های گیاهی به اثبات رسیده است. این فرآیند سبب کاهش محتوای تانن و بهبود قابلیت هضم ظاهری پروتئین در کنجاله مغز نارگیل^[۷]، کاهش کل ترکیبات فنولی و محتوای تاننی و افزایش قابلیت هضم پروتئین

نوع مقاله

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۰۵

تاریخ چاپ الکترونیکی:

۱۴۰۳/۱۲/۱۵

*نویسنده مسئول:

alamdari@bkatu.ac.ir ;

alamdari671@yahoo.com

در ماش^[۸]، کاهش میزان تانن در لوبیای چشم بلبلی، نخود فرنگی و لوبیای قرمز^[۹]، کاهش میزان تانن و افزایش قابلیت هضم پروتئین در شرایط برون تنی در نخود کابلی^[۱۰] و کاهش میزان ترکیبات فنولی و افزایش قابلیت هضم پروتئین در میوه بلوط ایرانی^[۱۱] گردیده است. به روش تخمیر می توان از ظرفیت میکرو ارگانیسم ها در تجزیه مواد ضد مغذی جهت عمل آوری زیستی منابع خوراکی گیاهی استفاده نمود. در این فرآیند میکروارگانیسم ها، قندهای محلول و اسیدهای آلی را مصرف نموده و با بیوسنتز اسیدهای آمینه ضروری، اسیدهای چرب و ویتامین ها سبب بهبود محتوای مغذی در مواد اولیه غذایی می شوند^[۱۲]. میکروارگانیسم ها نقش مهمی در تولید مخلوطی از آنزیم های میکروبی نظیر تاناز (Tannase) ایفا می کنند. تاناز عامل هیدرولیز اسید تانیک و تبدیل آن به گلوکز و گالیک اسید می باشد^[۱۳]. از طرف دیگر تانن اثر منفی بر هیدرولیز و تخمیر دارد^[۱۴]. بر این اساس ابتدا به روش خیساندن تا حدی از تانن موجود در بلوط کاسته شد و سپس بلوط در معرض تخمیر قرار گرفت. از مخمر نانوائی (*Saccharomyces cerevisiae*) به طور گسترده در تخمیر سنتی استفاده می شود. این ویژگی به دلیل داشتن چندین مزیت از قبیل توانایی ترشح آنزیم های خارج سلولی، غیر بیماریزا بودن و قیمت پایین است^[۱۵]. کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) یکی از مهمترین گونه های ماهیان پرورشی در سطح جهان است. این ماهی ویژگی های مطلوبی نظیر تحمل طیف وسیعی از شرایط محیطی و مقاومت به بیماری ها را دارد و بر این اساس گزینه ایده آلی برای آبی پروری در آب شیرین است. همچنین کپور معمولی، گونه ای همه چیز خوار است و از لحاظ فیزیولوژیکی توانایی تحمل گنجاندن مقادیر بیشتری از فرآورده های جانبی گیاهی در جیره غذایی را دارد^[۱۶]. هدف از پژوهش تعیین اثرات خیساندن در آب معمولی و تخمیر توسط مخمر نانوائی در دوزهای مختلف بر آنالیز بیوشیمیایی، ترکیبات فنولی و قابلیت هضم بلوط ایرانی (*Quercus brantii*) توسط کپور معمولی بود.

مواد و روش ها

عمل آوری بلوط

میوه رسیده بلوط از روستای آب کاسه در شهرستان کهگیلویه جمع آوری شد و پس از حذف پوسته خارجی با چاقو، در آون با دمای ۶۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک گردید. پوسته داخلی (جفت) بلوط به روش دستی جداسازی شد. میوه بلوط در آب معمولی با نسبت وزنی- حجمی ۱ به ۵ در انکوباتور با دمای ۵۰ درجه سانتی گراد^[۱۷] به مدت ۲۴ ساعت و با تعویض آب هر ۸ ساعت یکبار خیسانده شد. پس از خیساندن و دور ریختن آب، بلوط ها ابتدا بوسیله چرخ گوشت خرد شدند و سپس تحت تخمیر قرار گرفتند. فرآیند تخمیر در انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت در ۶ تیمار به ترتیب با ۰/۵، ۱/۵، ۳، ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم مخمر نانوائی به ازای هر ۱۰۰ گرم بلوط (قبل از خیساندن) انجام گردید. برای این منظور مخمر نانوائی فعال خشک به میزان ذکر شده در ۵۰ میلی لیتر آب معمولی ولرم حل شد و سپس به بلوط های چرخ شده افزوده گردید. پس از تخمیر، بلوط ها در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شدند تا مخمر غیر فعال گردد^[۹] ادامه خشک شدن در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد انجام شد. تیمار شاهد خیسانده و تخمیر نشد. در پایان تیمارهای مختلف بلوط آسیاب شده و با الک ۲۵۰ میکرون غربال گردیدند.

آنالیز بیوشیمیایی

پروتئین خام با اندازه گیری نیتروژن به روش کلدال و سپس حاصل ضرب آن در عدد ۶/۲۵^[۱۸]، چربی خام با عصاره گیری از نمونه ها به کمک پترولیوم اتر به روش سوکسله و رطوبت با خشک کردن در آون در دمای ۱۰۳ درجه سانتی گراد به مدت ۸ ساعت^[۱۹] تعیین شد. خاکستر آرد بلوط با قراردادن نمونه در کوره در دمای ۵۵۰ درجه سانتی گراد در دو بازه زمانی ۳ ساعته و با وقفه ای بین این دو زمان جهت کاهش دما به زیر ۲۰۰ درجه سانتی گراد و ورود هوای تازه به کوره انجام گردید^[۱۸]. کل ترکیبات فنولی، ترکیبات فنولی غیر تاننی و تانن های متراکم به روش فولین- سیوکالتو اندازه گیری شد^[۱۹]. برای این منظور، استخراج عصاره تاننی به وسیله استون آبی ۷۰ درصد و در حمام آبی اولتراسونیک به مدت ۲۰ دقیقه (دو مرتبه ۱۰ دقیقه ای با فاصله ۵ دقیقه از هم) انجام شد. سوپرناتانت با انجام سانتریفوژ به مدت ۱۰ دقیقه و با شدت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به دست

آمد. اندازه‌گیری کل ترکیبات فنولی و ترکیبات فنولی غیر تاننی در طول موج ۲۲۵ نانومتر و اندازه‌گیری تانن‌های متراکم در طول موج ۵۵۰ نانومتر انجام شد. جهت تعیین pH آرد بلوط، مقدار یک گرم آرد بلوط در ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر در دمای اتاق حل گردید. پس از ۱۰ دقیقه، pH نمونه‌ها بوسیله pH متر رومیزی اندازه‌گیری شد [۲۰].

استخراج آنزیم

۱۵ قطعه بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) به وزن حدود ۹۵ گرم از یک مزرعه پرورش ماهی خصوصی تامین گردید و به مدت ۲ هفته در ۳ مخزن ۲۵۰ لیتری (۵ قطعه ماهی در هر مخزن)، مرحله سازگاری با شرایط سالن پرورش انجام شد. در مدت سازگاری، ماهیان روزانه دو بار تا حد سیری در ساعات ۹ و ۱۴ با غذایی تجاری (ساخت کارخانه خوراک شیلات و حاوی ۳۲ درصد پروتئین خام، ۷/۵ درصد چربی خام و ۱۰ درصد رطوبت) تغذیه شدند [۲۱]. دوره نوری به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و میانگین دمای آب برابر با ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود. یک قطعه ماهی از هر مخزن به طور تصادفی و جداگانه برای استخراج آنزیم صید شد. وزن و طول این ماهیان به ترتیب $95/6 \pm 2/2$ گرم و $19/5 \pm 0/9$ سانتی‌متر (انحراف استاندارد $\pm$ میانگین) بود. برای هر ماهی به طور جداگانه، کل روده از بدن خارج و در ظرف از قبل سرد شده، قرار داده شد. حذف خون و سایر مواد زائد از طریق شستشو با آب مقطر و سپس با محلول بافر فسفات-نمکی (۰/۱ مولار با pH برابر با ۸/۱۵ و حاوی ۰/۹ درصد کلرید سدیم) انجام شد. روده‌های تمیز شده با قیچی تکه تکه گردید. با استفاده از محلول بافر، هموژنات ۱۰ درصد بوسیله هاون چینی و به روش دستی به مدت ۱۰ دقیقه تهیه شد. هموژنات در g ۱۴۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. مایع رویی جمع‌آوری و به حجم‌های کوچک تقسیم گردید و تا زمان آزمایش هضم برون‌تنی، در ۲۴- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد [۲۱].

آماده سازی نمونه جهت هضم و تعیین قابلیت هضم کربوهیدرات و پروتئین در شرایط برون تنی

مخلوط واکنش حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم از هر نمونه آرد بلوط، ۴۰ میلی‌لیتر بافر فسفات-نمکی ۰/۱ مولار و ۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی در دمای اتاق (۲۸ درجه سانتی‌گراد) در تاریکی بر روی شیکر در ۲۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۲ ساعت انکوباته گردید. قبل از آزمایش هضم، ۱/۵ میلی‌لیتر از مخلوط به عنوان شاهد هضم پروتئین و ۱/۵ میلی‌لیتر از مخلوط هم به عنوان شاهد هضم کربوهیدرات برداشته شد [۲۲]. محلولی از ۱/۵ میلی‌لیتر مخلوط هضم شده یا مخلوط هضم نشده (شاهد) و ۱/۵ میلی‌لیتر معرف دی‌نیتروسالیسیلیک‌اسید در حمام آب جوش به مدت ۵ دقیقه قرارداده شد و سپس تا دمای اتاق خنک گردید. هر لوله آزمایش در g ۱۴۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. میزان جذب نور در ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری و سپس با منحنی استاندارد مالتوز مقایسه شد. قابلیت هضم کربوهیدرات در شرایط برون تنی برحسب میلی‌گرم مالتوز به ازای هر میلی‌گرم نمونه گزارش گردید [۲۲]. محلولی از ۱/۵ میلی‌لیتر مخلوط هضم شده یا مخلوط هضم نشده (شاهد) و ۱/۵ میلی‌لیتر معرف کادمیوم نین‌هیدرین به مدت ۵ دقیقه در ۸۴ درجه سانتی‌گراد و سپس فوری بر روی یخ قرارداده شد. هر لوله آزمایش در g ۱۴۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. جذب نوری مایع رویی در ۵۰۷ نانومتر اندازه‌گیری و با منحنی استاندارد تیروزین مقایسه شد. قابلیت هضم پروتئین در شرایط برون تنی برحسب میکروگرم تیروزین به ازای هر میلی‌گرم نمونه گزارش گردید [۲۲].

تجزیه و تحلیل آماری

کلیه محاسبات به کمک نرم‌افزارهای SPSS نگارش ۲۰ و Excel نسخه ۲۰۱۳ انجام شد. کنترل نرمال بودن توزیع داده‌ها با آزمون کولموگروف-اسمیرنوف، کنترل همگنی واریانس‌ها با آزمون لون، مقایسه متغیرهای مورد مطالعه با آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد ($P < 0/05$).

نتایج

براساس جدول ۱، به‌طور معنی‌دار پروتئین خام در تمام تیمارها بجز تیمار حاوی ۰/۵ گرم مخمر به ازای ۱۰۰ گرم بلوط، بیشتر از شاهد بود ($p < 0.05$). افزایش سطح مخمر سبب افزایش معنی‌دار میزان پروتئین خام شد به‌طوری‌که این افزایش در تیمارهای حاوی ۱۰ و ۱۵ گرم مخمر به ازای ۱۰۰ گرم بلوط، چشمگیر و به‌ترتیب ۱۶۸/۲ درصد و ۱۹۲/۳ درصد بیشتر از شاهد بود. از میان تیمارهای تخمیری تنها در تیمارهای حاوی ۱۰ و ۱۵ گرم مخمر به ازای ۱۰۰ گرم بلوط، مقدار چربی خام (به‌ترتیب ۲۴/۹ درصد و ۳۱/۵ درصد) بیشتر از شاهد بود ($p < 0.05$) اما این دو تیمار از لحاظ میزان چربی خام تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند. میزان خاکستر در همه تیمارها کمتر از شاهد بود ($p < 0.05$) اگرچه تیمارهای حاوی ۱۰ و ۱۵ گرم مخمر به ازای ۱۰۰ گرم بلوط، وضعیت بهتری در مقایسه با سایر تیمارهای تخمیری داشتند. در هر حال کمترین درصد اتلاف خاکستر در تیمار ۱۵ مشاهده گردید (جدول ۱).

جدول ۱: پروتئین خام، چربی خام و خاکستر بلوط‌های فرآوری شده بر حسب درصد از ماده خشک (خطای استاندارد $\pm$ میانگین سه تکرار)

تیمار	پروتئین خام	چربی خام	خاکستر
۰/۵	$2/80 \pm 0.08^g (-10/0)$	$5/74 \pm 0.23^{bc} (+11/0)$	$0.51 \pm 0.03^c (-64/3)$
۱/۵	$3/70 \pm 0.08^e (+19/0)$	$5/82 \pm 0.39^{abc} (+12/6)$	$0.57 \pm 0.01^c (-60/1)$
۳	$4/37 \pm 0.07^d (+40/5)$	$5/69 \pm 0.21^{bc} (+10/1)$	$0.72 \pm 0.01^d (-49/6)$
۵	$5/26 \pm 0.06^c (+69/1)$	$6/15 \pm 0.35^{abc} (+18/9)$	$0.80 \pm 0.06^d (-44/1)$
۱۰	$8/34 \pm 0.04^b (+168/2)$	$6/46 \pm 0.34^{ab} (+24/9)$	$0.93 \pm 0.03^c (-35/0)$
۱۵	$9/09 \pm 0.14^a (+192/3)$	$6/80 \pm 0.36^a (+31/5)$	$1/23 \pm 0.03^b (-14/0)$
شاهد	$3/11 \pm 0.02^f$	$5/17 \pm 0.08^c$	$1/43 \pm 0.04^a$

در هر ستون، حروف انگلیسی متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$). مقادیر داخل پرانتزها، بیانگر درصد تغییرات در مقایسه با شاهد است.

مطابق جدول ۲، کل ترکیبات فنولی، ترکیبات فنولی غیر تاننی و تانن‌های متراکم در همه تیمارها به‌طور معنی‌دار کمتر از شاهد گردید ($p < 0.05$). از میان تیمارهای بلوط تخمیرشده، کمترین سطح کل ترکیبات فنولی و بیشترین مقدار ترکیبات فنولی غیر تاننی به‌طور معنی‌دار در تیمار حاوی ۱۵ گرم مخمر به ازای ۱۰۰ گرم بلوط، مشاهده شد. pH بلوط پس از ۲۴ ساعت خیساندن در آب معمولی از $5/75 \pm 0.01$ به $6/00 \pm 0.02$ افزایش یافت. در فرآیند تخمیر، افزایش دوز مخمر سبب کاهش معنی‌دار pH فرآورده تخمیر شده گردید به‌طوری‌که مقدار pH در تیمارهای حاوی ۱۰ و ۱۵ گرم مخمر به ازای ۱۰۰ گرم بلوط، کمتر از شاهد شد (جدول ۲).

جدول ۲: کل ترکیبات فنولی، ترکیبات فنولی غیر تاننی و تانن‌های متراکم انواع بلوط فرآوری شده بر حسب درصد از ماده خشک و pH آن‌ها (خطای استاندارد $\pm$ میانگین سه تکرار)

تیمار	کل ترکیبات فنولی	ترکیبات فنولی غیر تاننی	تانن‌های متراکم	pH آرد بلوط
۰/۵	$5/07 \pm 0.56^b (-45/8)$	$0/17 \pm 0.02^c (-72/1)$	$0/01 \pm 0.00^c (-95/6)$	$5/97 \pm 0.01^a (+3/5)$
۱/۵	$4/63 \pm 0.15^{bc} (-50/1)$	$0/16 \pm 0.01^c (-73/8)$	$0/01 \pm 0.00^c (-95/6)$	$5/90 \pm 0.01^b (+2/6)$
۳	$4/92 \pm 0.27^b (-47/0)$	$0/16 \pm 0.01^c (-73/8)$	$0/01 \pm 0.00^c (-95/6)$	$5/80 \pm 0.01^c (+0/9)$
۵	$3/70 \pm 0.21^d (-60/1)$	$0/13 \pm 0.01^c (-78/7)$	$0/02 \pm 0.00^{bc} (-91/3)$	$5/76 \pm 0.01^d (+0/2)$
۱۰	$3/90 \pm 0.17^{cd} (-58/0)$	$0/17 \pm 0.01^c (-72/1)$	$0/03 \pm 0.00^b (-86/9)$	$5/66 \pm 0.00^c (-1/6)$
۱۵	$2/52 \pm 0.05^c (-72/8)$	$0/22 \pm 0.01^b (-63/9)$	$0/02 \pm 0.00^{bc} (-91/3)$	$5/63 \pm 0.00^f (-2/1)$
شاهد	$9/28 \pm 0.23^a$	$0/61 \pm 0.03^a$	$0/23 \pm 0.00^a$	$5/75 \pm 0.01^d$

در هر ستون، حروف انگلیسی متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$). مقادیر داخل پرانتزها، بیانگر درصد تغییرات در مقایسه با شاهد است.

همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، خیساندن در آب معمولی و استفاده از مخمر نانویی سبب افزایش قابلیت هضم کربوهیدرات در تیمارهای حاوی ۰/۵، ۱/۵ و ۱۰ گرم مخمر به ازای ۱۰۰ گرم بلوط و قابلیت هضم پروتئین در تیمارهای حاوی ۱/۵، ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم مخمر به ازای ۱۰۰ گرم بلوط، در مقایسه با شاهد به‌طور معنی‌دار گردید. قابلیت هضم کربوهیدرات در تیمار حاوی ۱۵ گرم مخمر به ازای ۱۰۰ گرم بلوط و قابلیت هضم پروتئین در تیمار حاوی ۰/۵ گرم مخمر به ازای ۱۰۰ گرم بلوط، به‌طور معنی‌دار کمتر از شاهد بود. تنها در تیمارهای حاوی ۱/۵ و ۱۰ گرم مخمر به ازای ۱۰۰ گرم بلوط، هم قابلیت هضم کربوهیدرات (به‌ترتیب ۱۶۶/۷۶ درصد و ۱۳۴/۸۶ درصد) و هم قابلیت هضم پروتئین (به‌ترتیب ۳۲/۱ درصد و ۱۸۱/۱ درصد) به‌طور معنی‌دار بیشتر از شاهد گردید (جدول ۳).

جدول ۳: قابلیت هضم کربوهیدرات و پروتئین انواع بلوط در شرایط برون‌تنی (خطای استاندارد $\pm$ میانگین سه تکرار)

تیمار	قابلیت هضم کربوهیدرات (میکروگرم مالتوز به ازای هر میلی گرم نمونه)	قابلیت هضم پروتئین (میکروگرم تیروزین به ازای هر میلی گرم نمونه)
۰/۵	150.07 ± 1.99^b (+۳۸/۶)	0.41 ± 0.00^d (-۲۲/۶)
۱/۵	166.76 ± 0.9^a (+۵۴/۱)	0.70 ± 0.04^b (+۳۲/۱)
۳	107.76 ± 0.46^d (-۰/۴)	0.54 ± 0.03^c (+۱/۹)
۵	105.42 ± 0.87^d (-۲/۶)	0.72 ± 0.03^b (+۳۵/۸)
۱۰	134.86 ± 0.97^c (+۲۴/۶)	1.49 ± 0.03^a (+۱۸۱/۱)
۱۵	99.79 ± 1.11^c (-۷/۸)	0.68 ± 0.03^b (+۲۸/۳)
شاهد	108.24 ± 0.72^d	0.53 ± 0.01^c

در هر ستون، حروف انگلیسی متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$). مقادیر داخل پرانتزها، بیانگر درصد تغییرات در مقایسه با شاهد است.

بحث و نتیجه‌گیری

طبق نظر محققان، مخمر نانویی قادر به تولید متابولیت‌های مختلفی نظیر آنزیم‌ها، الیگوساکاریدها، اسیدهای آمینه، پپتیدها، اسیدهای آلی، ویتامین‌ها و سایر ترکیبات محلول است [۲۳]. در این تحقیق پروتئین خام در تمام تیمارها بجز تیمار حاوی ۰/۵ گرم مخمر به ازای ۱۰۰ گرم بلوط، بیشتر از شاهد گردید (جدول ۱). کمتر بودن میزان پروتئین خام در این تیمار در مقایسه با شاهد با توجه به آبشویی (leaching) پروتئین‌ها در زمان خیساندن و جمعیت کم مخمر جهت جبران کاهش بوجود آمده پس از ۲۴ ساعت، قابل توجیه است. متعاقباً افزایش دوز مخمر سبب افزایش معنی‌دار میزان پروتئین خام گردید. فعالیت مخمر سبب افزایش میزان چربی خام شد (جدول ۱) اما فقط در تیمارهای حاوی ۱۰ و ۱۵ حاوی ۰/۵ گرم مخمر به ازای ۱۰۰ گرم بلوط که از بیشترین دوزهای مخمری استفاده گردید، افزایش چربی خام نسبت به شاهد معنی‌دار بود. خاکستر در همه تیمارها به‌طور معنی‌دار کمتر از شاهد گردید. این مساله با توجه به آبشویی مواد معدنی قبل از تخمیر قابل توجیه است. استفاده از مخمر اثر مثبت بر میزان مواد معدنی در فرآورده تخمیر شده داشت (جدول ۱) به‌طوری‌که در صورت استفاده از سطوح بالاتر مخمر در مقایسه با برخی از سطوح پائین‌تر مخمر، میزان افزایش خاکستر معنی‌دار بود.

در تحقیق حاضر مقدار کل ترکیبات فنولی، ترکیبات فنولی غیر تاننی و تانن‌های متراکم در همه تیمارها کمتر از شاهد شد و کمترین سطح کل ترکیبات فنولی در تیمار حاوی ۱۵ حاوی ۰/۵ گرم مخمر به ازای ۱۰۰ گرم بلوط با مصرف بیشترین دوز مخمر مشاهده گردید (جدول ۲). عمل‌آوری دانه‌های گیاهی از طریق فرآیندهای خیساندن در آب معمولی و تخمیر به منظور کاهش مواد ضد تغذیه‌ای، در تحقیقات متعدد مورد مطالعه قرار گرفته است. کاهش میزان ترکیبات فنولی در اثر خیساندن در آب معمولی در کنجاله مغز نارگیل [۷]، ماش [۸]، نخود کابلی [۱۰]، میوه بلوط ایرانی [۱۱]، در اثر تخمیر توسط *Bacillus pumilus* و *Bacillus tequilensis* در کیک روغنی کتان [۱۴]، در اثر تخمیر توسط مخمر نانویی در میوه بلوط اروپایی [۲۵] و در اثر فرآیند توأم خیساندن در آب معمولی و تخمیر توسط مخمر نانویی در لوبیای چشم بلبلی، نخود فرنگی و لوبیای

قرمز^[۹] و میوه بلوط ایرانی با دوز ۱/۵ گرم مخمر به ازای هر ۱۰۰ گرم بلوط^[۵] به اثبات رسیده است. کاهش ترکیبات فنولی را می‌توان به آبشویی و ورود آن‌ها به محیط خیساندن تحت تأثیر گردادین غلظت^[۲۶] و حساس بودن ترکیبات فنولی به حرارت^[۱۵] نسبت داد. از طرف دیگر مشخص شده است که سلول‌های مخمر *Saccharomyces cerevisiae* دارای ظرفیت جذب و در نتیجه حذف تانن هستند^[۳۷].

در این پژوهش، خیساندن بلوط در آب معمولی و استفاده از مخمر سبب افزایش معنی‌دار قابلیت هضم کربوهیدرات در تیمارهای حاوی ۱/۵، ۱۰ و ۱۵ و قابلیت هضم پروتئین در تیمارهای حاوی ۱/۵، ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم مخمر به ازای ۱۰۰ گرم بلوط، در مقایسه با شاهد گردید (جدول ۳). اثر مثبت خیساندن در آب معمولی بر افزایش قابلیت هضم پروتئین در کنجاله نارگیل^[۷]، ماش^[۸] و نخود کابلی^[۱۰] و اثر مثبت خیساندن در آب مقطر بر افزایش قابلیت هضم کربوهیدرات در کنجاله نارگیل^[۳۰] به اثبات رسیده است. اگرچه مطالعات کمی در مورد اثر تانن بر آنزیم‌های روده‌ای ماهی انجام شده است^[۲۸] اما تحقیقات نشان داده است که تانن‌های موجود در لوبیا به شدت سبب ممانعت از فعالیت آنزیم‌های تریپسین، کیموتریپسین و آلفا - آمیلاز لوزالمعده می‌شوند^{[۳۹] و [۳۰]}. بر این اساس افزایش قابلیت هضم پروتئین و کربوهیدرات به دلیل کاهش ترکیبات فنولی در اثر خیساندن و تخمیر قابل درک است. در این تحقیق، خیساندن بلوط در آب معمولی و استفاده از مخمر سبب کاهش قابلیت هضم کربوهیدرات در تیمار حاوی ۱۵ گرم مخمر به ازای ۱۰۰ گرم بلوط و قابلیت هضم پروتئین در تیمار حاوی ۰/۵ گرم مخمر به ازای ۱۰۰ گرم بلوط در مقایسه با شاهد گردید (جدول ۳). در پژوهشی اثر خیساندن مواد اولیه گیاهی (کنجاله سویا، کیک روغنی آفتابگردان و کیک روغنی نارگیل) در آب معمولی بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی روهو (*Labeo rohita*) مورد بررسی قرار گرفت. خیساندن مواد گیاهی اگرچه سبب کاهش معنی‌دار محتوای تانن در جیره غذایی شد اما موجب بهبود فعالیت آنزیم‌های آمیلاز، پروتئاز و لیپاز روده‌ای در ماهیان تغذیه شده با این جیره نگردید و آبشویی مواد مغذی محلول به‌عنوان عامل احتمالی این نتیجه معرفی شد^[۳۱]. در پژوهش حاضر، کاهش قابلیت هضم کربوهیدرات در تیمار حاوی ۱۵ گرم مخمر به ازای ۱۰۰ گرم بلوط، ممکن است به دلیل تغییر در ترکیب کربوهیدرات‌های موجود در فرآورده تخمیر شده در اثر فعالیت مقدار زیاد مخمر (۱۵ گرم مخمر) و کاهش قابلیت هضم پروتئین در تیمار حاوی ۰/۵ گرم مخمر به ازای ۱۰۰ گرم بلوط ممکن است به دلیل آبشویی پروتئین‌های با قابلیت هضم بالاتر طی مدت خیساندن در آب و عدم جبران کمبود آن‌ها در اثر فعالیت مقدار کمتر مخمر (۰/۵ گرم مخمر) در این تیمار بوده باشد. عامل دیگر موثر بر قابلیت هضم می‌تواند تغییر در ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی فرآورده در اثر خیساندن و تخمیر بوده باشد که این‌که در مطالعه حاضر، تفاوت معنی‌دار در pH بلوط تخمیر شده به اثبات رسید.

نتیجه گیری نهایی

در مجموع با توجه به مقدار مخمر مصرفی و به دلیل اهمیت کاهش میزان ترکیبات فنولی ضد تغذیه‌ای، افزایش مقدار پروتئین به‌عنوان گران‌ترین ماکرونوترینت و افزایش میزان چربی به‌عنوان منبع تامین انرژی در مواد اولیه غذایی و همچنین افزایش قابلیت هضم پروتئین و کربوهیدرات، تیمار حاوی ۱۰ گرم مخمر نانوائی به ازای ۱۰۰ گرم بلوط، جهت عمل‌آوری میوه بلوط به روش خیساندن در آب - تخمیر توصیه می‌شود.

تأییدیه اخلاقی: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است، نوشته شود.

تعارض منافع: هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان گزارش نشده است.

منابع مالی: این پژوهش با حمایت مالی سازمان صنایع کوچک و شهرک‌های صنعتی ایران انجام شده است.

سهم نویسندگان: ارائه طرح پژوهش، انجام بخشی از کارهای آزمایشگاهی، تجزیه و تحلیل داده‌ها و نوشتن مقاله توسط حجت اله علمداری و نمونه‌برداری و انجام بخشی دیگر از کارهای آزمایشگاهی توسط مهدیه نارویی انجام شده است.

- [1] Oujifard A, Gholami S, Sotoudeh E, Ghaednia B, Growth performance, feed utilization, diet stability and apparent digestibility in white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed with different levels of *Gracilaria pygmaea*. Journal of Fisheries Science and Technology. (2017) 6: 105-121 (in Persian).
- [2] Ghosh K, Solid State Fermentation as a Function to Improve Nutritive Value of Plant Feed-Stuffs: Prospect in Aquafeed Formulation. In: Paul BN, Adhikari S, Mandal RN. (Eds.), Training Manual on "Application and Practices of Fish Feed in Aquaculture" (pp: 71-78). ICAR-Central Institute of Freshwater Aquaculture, RRC. 2017
- [3] Yasumaru F, Lemos D, Species specific in vitro protein digestion (pH-stat) for fish: method development and application for juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), cobia (*Rachycentron canadum*), and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture. (2014) 426: 74-84.
- [4] Wang R, Mohammadi M, Mahboubi A, Taherzadeh MJ, In-vitro digestion models: a critical review for human and fish and a protocol for *in-vitro* digestion in fish. Bioengineered. (2021) 12: 3040-3064.
- [5] Naroi M, Alamdari H, The effect of feeding with soaked and fermented Iranian oak fruit (*Quercus brantii*) on the growth rate, food consumption and carcass composition of common carp (*Cyprinus carpio*). Scientific Journal of Iranian Fisheries. (2022) 31: 47-56 (in Persian).
- [6] Padmaja G, Steincraus KH, Cyanide detoxification in cassava for food and feed uses. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. (1995) 35: 299-339.
- [7] Mukhopadhyay N, Ray AK, Utilization of copra meal in the formulation of compound diets for rohu, *Labeo rohita*, fingerlings. Journal of Applied Ichthyology. (1999) 15: 127-131.
- [8] Grewal A, Jood S, Effect of processing treatment on nutritional and antinutritional contents of green gram. Journal of Food Biochemistry. (2006) 30: 535- 546.
- [9] Khat tab RY, Arntfield SD, Nutritional quality of legume seeds as affected by some physical treatments 2. Antinutritional factors. LWT - Food Science and Technology. (2009) 42: 1113-1118.
- [10] Xu Y, Cartier A, Obielodan M, Jordan K, Hairston T, Shannon A, Sismour E, Nutritional and anti-nutritional composition, and in vitro protein digestibility of Kabuli chickpea (*Cicer arietinum* L.) as affected by differential processing methods. Journal of Food Measurement and Characterization. (2016) 10: 625-633.
- [11] Nadri A, Alamdari H, Effects of soaking oak acorn, *Quercus brantii* in water on the removal of phenolic compounds and its digestibility for common carp, *Cyprinus carpio*. Aquatic Animals Nutrition. (2022) 8: 57-66 (in Persian).
- [12] Hawashi M, Altway A, Widjaja T, Gunawan S, Optimization of process conditions for tannin content reduction in cassava leaves during solid state fermentation using *Saccharomyces cerevisiae*. Heliyon. (2019) 5: e02298.
- [13] Pan P, Tang Y, Sun D, Jiang J, Song X, Effect of ultrasonic-assisted pretreatment on hydrolysis and fermentation of acorn starch. Bioresources. (2014) 9: 2705-2716.
- [14] Anwar A, Wan AH, Omar S, El-Haroun E, Davies SJ, The potential of a solid-state fermentation supplement to augment white lupin (*Lupinus albus*) meal incorporation in diets for farmed common carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture Reports. (2020) 17: 1-10.
- [15] Ghaderi-Ghahfarrokhi M, Sadeghi-Mahoonak AR, Alami M, Mousavi- Khanegah A, Effect of processing treatments on polyphenol removal from kernel of two Iranian acorns varieties. International Food Research Journal. (2017) 24: 86-93.
- [16] Ozcan T, Total protein and amino acid compositions in the acorns of Turkish *Quercus* L. taxa. Genetic Resources and Crop Evolution. (2006) 53: 419-429.
- [17] AOAC (Association of Official Analytical Chemists). Official Methods of Analysis 17th ed. Washington D.C. 2000.
- [18] Thiex N, Novotny L, Crawford A, Determination of ash in animal feed: AOAC official method 942.05 revisited. Journal of AOAC international. (2012) 95: 1392-1397.
- [19] Makkar HPS, Quantification of tannins in tree and shrub foliage. A laboratory manual. Food and Agriculture Organization of the United Nations/International Atomic Energy Agency. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands. 2003.
- [20] Chumwaengwapeea S, Soontornchaia S, Thongprajukeaw K, Improving chemical composition, physicochemical properties, and in vitro carbohydrate digestibility of fish coconut meal. Journal of Science Asia. (2013) 39: 636-642.
- [21] Alamdari H, Musavi Kh, Effects of extruding wheat flour under different temperature and humidity conditions on its biochemical analysis, phenolic compounds and digestibility by common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Fisheries Science and Technology. (2023) 12: 277-286 (in Persian).

- [22] Kattakdad S, Jintasataporn O, Worawattanamateekul W, Chumkam S, pH characterization of digestive enzyme and in vitro digestibility of red bee shrimp *Caridina cantonensis* (Decapoda: Atyidae). Journal of Aquaculture Research and Development. (2018) 9: 1-6.
- [23] Dawood MAO, Eweedah NM, Khalafalla MM, Khalid A, Asely AE, Fadl SE, Amin AA, Paray BA, Ahmed HA, *Saccharomyces cerevisiae* increases the acceptability of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to date palm seed meal. Aquaculture Reports. (2020) 17: 100314.
- [24] Banerjee S, Ghosh K. Bio-processing of linseed oil-cake through solid state fermentation by non-starch polysaccharide degrading fish gut bacteria. Fermentation Technology. (2016) 5: 1-10.
- [25] Amina M, Djamel F, Djamel H, Influence of fermentation and germination treatments on physicochemical and functional properties of acorn flour. Bulgarian Journal of Agricultural Science. (2018) 24: 719-726.
- [26] Saharan K, Khetarpaul N, Bishnoi S, Antinutrients and protein digestibility of faba bean and rice bean as affected by soaking, dehulling and germination. Food Science and Technology. (2002) 39: 418-421.
- [27] Bindon KA, Kassara S, Solomon M, Bartel C, Smith PA, Barker A, Curtin C, Commercial *Saccharomyces cerevisiae* Yeast Strains Significantly Impact Shiraz Tannin and Polysaccharide Composition with Implications for Wine Colour and Astringency. Biomolecules. (2019) 9: 466.
- [28] Mandal S, Ghosh K, Inhibitory effect of *Pistia* tannin on digestive enzymes of Indian major carps: an in vitro study. Fish Physiology and Biochemistry. (2010) 36: 1171-1180.
- [29] Singh U, The inhibition of digestive enzymes by polyphenols of chick pea (*Cicer arrierinum* L) and pigeon pea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.). Nutrition Reports International. (1984) 29: 745-753.
- [30] Carmona A, Seild DS, Jaffe WG, Comparison of extraction methods and assay procedures for the determination of the apparent tannin content of common beans. Journal of the Science of Food and Agriculture. (1991) 56: 291-301.
- [31] Xavier B, Sahu NP, Pal AK, Jain KK, Misra S, Dalvi RS, Baruah K, Water soaking and exogenous enzyme treatment of plant based diets: effect on growth performance, whole-body composition, and digestive enzyme activities of rohu, *Labeo rohita* (Hamilton), fingerlings). Fish Physiology and Biochemistry. (2012) 38: 341-353.

The effects of soaking oak acorn in tap water and its fermentation by bakery yeast on its biochemical analysis and in-vitro digestibility for common carp (*Cyprinus carpio*)

Hojjatollah Alamdari ^{1*}, Mahdie Narui ¹

1- Department of Fishery, Faculty of Natural Resources, Behbahan Khatam Alanbia University of Technology, Behbahan, Iran

ABSTRACT

Oak acorn is cheap and available but rich in tannin. The most economical method to remove anti-nutritional factors is soaking process and yeast can be used to break down them. Acorn was soaked in tap water for 24 hours with changing the water every 8 hours. Then the fermentation process was done for 24 hours with 0.5, 1.5, 3, 5, 10 and 15 g bakery yeast per 100 g acorn in 6 treatments. Control was not soaked and fermented. Common carp weighing 95.6 g were used for enzyme extraction to determine the in-vitro digestibility. Significantly crude protein in all treatments except the treatment containing 0.5 g yeast and crude fat in treatments containing 10 and 15 g yeast were higher than the control but ash, total phenolic compounds, non-tannin phenolic compounds and condensed tannins were lower than the control. Increasing the level of yeast caused a significant increase in the amount of crude protein. The lowest level of total phenolic compounds was observed in the treatment containing 15 g yeast. Soaking in tap water and the use of yeast significantly increased carbohydrate digestibility in treatments containing 0.5, 1.5 and 10 g yeast and protein digestibility in treatments containing 1.5, 5, 10 and 15 g yeast compared to the control. Based on reducing the amount of phenolic compounds, increasing the amount of protein produced, protein digestibility and carbohydrate digestibility, treatment containing 10 g yeast per 100 g acorn is recommended for processing acorns by soaking in tap water – fermentation method.

KEYWORDS: Anti-nutritional factor, Aquaculture, Carbohydrate, Feed processing, Protein

ARTICLE TYPE

Original Research

ARTICLE HISTORY

Received: 19 January
2025

Accepted: 25
February 2025

ePublished: 06 March
2025

* Corresponding Author:

Email address: alamdari@bkatu.ac.ir; alamdari671@yahoo.com

Tel: 06152721489

© Published by Tarbiat Modares University

ISSN: 2322-5513