



اثر فرآوری بلوط به روش خیساندن قلیایی - تخمیر بر آنالیز بیوشیمیایی و قابلیت هضم برونشی آن در کپور معمولی

حجت‌الله علمداری^{۱*}، مهدیه ناروی^۱^۱گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء بهبهان، بهبهان، خوزستان، ایران.**چکیده**

تنان از ترکیبات ضد تغذیه‌ای موجود در میوه بلوط است. هدف تحقیق، کاهش میزان تنان بلوط از طریق فرآیند خیساندن قلیایی - تخمیر و بررسی اثر این فرآیند بر قابلیت هضم بلوط در شرایط برونشی بود. بلوط در محلول سود ۱۰٪ مولار به مدت ۸ ساعت خیسانده شد. سپس شستشوی بلوط و خیساندن در آب مقطر به مدت ۱۶ ساعت انجام شد. متعاقباً تخمیر به مدت ۲۴ ساعت در ۶ تیمار حاوی ۱۵٪، ۱۰٪، ۵٪ و ۱٪ گرم مخمر نانوایی به ازای هر ۱۰۰ گرم بلوط انجام گردید. تیمار شاهد خیسانده و تخمیر نشد. عصاره آنزیمی از روده کپور معمولی به وزن ۹۵٪ گرم استخراج شد. بهطور معنی دار پروتئین خام در تیمارهای مختلف بجز تیمار حاوی ۰٪ گرم مخمر به میزان ۵٪ تا ۱۸٪ درصد بیشتر از شاهد گردید اما در همه تیمارها خاکستر ۴٪ تا ۴۸٪ درصد، کل ترکیبات فنولی ۶٪ تا ۶۸٪ درصد، ترکیبات فنولی غیر تاننی ۴٪ تا ۷۳٪ درصد و تنان‌های متراکم ۸٪ تا ۹۵٪ درصد کمتر از شاهد شد ($p < 0.05$). قابلیت هضم کربوهیدرات در تیمارهای مختلف به میزان ۷٪ تا ۶۰٪ درصد کمتر از شاهد و قابلیت هضم پروتئین در تیمارهای حاوی ۵٪، ۱۰٪ و ۱۵٪ گرم مخمر به ترتیب به میزان ۵٪، ۱۴٪ و ۱۴٪ درصد بیشتر از شاهد گردید. به دلیل اهمیت ارتقاء کمیت و کیفیت پروتئین در مواد اولیه غذایی و کاهش میزان ترکیبات فنولی ضد تغذیه‌ای، تیمار حاوی ۱۵٪ گرم مخمر به ازای هر ۱۰۰ گرم بلوط جهت عمل آوری بلوط به روش خیساندن قلیایی - تخمیر توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: ترکیبات فنولی، خوارک ماهی، محلول سود، مخمر نانوایی**نوع مقاله:**

پژوهشی اصیل

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۰۳/۱۰/۲۲

پذیرش: ۰۳/۱۲/۱۸

نویسنده مسئول مکاتبه:
حجت‌الله علمداری، گروه شیلات،
دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه
صنعتی خاتم الانبیاء بهبهان، بهبهان،
خوزستان، ایران.

ایمیل: alamdari671@yahoo.com

۱ مقدمه

برونتنی (In vitro) برای ارزیابی سریع کیفیت و قابلیت هضم مواد اولیه غذایی افزایش یافته است (Wang *et al.*, 2021).

جنگل‌های زاگرس با ۶ میلیون هکتار مساحت، ۴۰ درصد از جنگل‌های ایران را تشکیل می‌دهند. حدود ۷۰ درصد از تیپ گونه‌های جنگلی زاگرس شامل گونه‌های مختلف بلوط می‌باشند (Shahbazi and Shafaghati, 2020). از میوه بلوط به دلیل ارزانی و در دسترس بودن به عنوان خوارک دام استفاده می‌شود. این میوه در کنار داشتن ترکیبات مغذی، غنی از تنان می‌باشد که اثرات ضد تغذیه‌ای آن در جانوران به اثبات رسیده است (Talebian Nik and Alamdar, 2020). فرآیند خیساندن، اقتصادی‌ترین فناوری جهت سرمزدایی از مواد غذایی است (Ramli *et al.*, 2021).

بهبود بازدهی خوارک، موضوعی مهم در سیستم‌های آبزی-پروری متراکم برای به حداقل رساندن تولید است. دسترسی هم‌مان به بازدهی بالاتر خوارک و قیمت پایین‌تر آن، چالشی بزرگ برای متخصصان علم تغذیه می‌باشد (Narui and Alamdar, 2022). صنعت ساخت خوارک نیازمند روش‌های موثر برای غربال‌گری مواد اولیه غذایی است تا بتوان از آن‌ها بجای سایر موادی که در معرض نوسان قیمت و قابلیت دسترسی هستند، استفاده نمود. In vivo، روشی پذیرفته شده برای ارزیابی خوارک‌ها می‌باشد اما این روش معمولاً نیاز به نیروی کار داشته، وقت‌گیر و پرهزینه بوده و ممکن است در مقیاس صنعتی مناسب نباشد. بر این اساس، علاقه محققان به استفاده از روش‌های

فیزیولوژیکی توانایی تحمل گنجاندن مقادیر بیشتری از فرآورده‌های گیاهی در جیره غذایی را دارد (Anwar et al., 2020)، به عنوان گونه مناسب جهت استخراج عصاره آنزیمی برای مطالعه هضم برونتنی در نظر گرفته شد.

۲ | مواد و روش‌ها

مراحل فرآوری و تیماربندی بلوط به طور خلاصه در شکل ۱ نشان داده شده است. میوه رسیده بلوط از جنگلهای اطراف روستای آب کاسه در شهرستان کهگیلویه جمع‌آوری شد و پس از حذف دستی پوسته خارجی، در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد خشک گردید. پوسته داخلی بلوط به روش دستی جداسازی شد. میوه بلوط در محلول سود ۰/۱ مولار به مدت ۸ ساعت خیسانده شد. سپس شستشوی بلوط و خیساندن در آب مقطر به مدت ۱۶ ساعت و با تعویض آب مقطر هر ۸ ساعت یکبار انجام گردید. خیساندن با نسبت وزنی-حجمی ۱ به ۵ در ۵۰ درجه سانتی‌گراد (Ghaderi-Ghahfarokhi et al., 2017) انجام شد. این بلوط‌ها ابتدا بوسیله چرب گوشت خرد شدند و سپس تحت تخمیر قرار گرفتند. فرآیند تخمیر در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت (Khattab and Khattab, 2009) و با ۰/۵، ۱/۵، ۳، ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم مخمر نانوایی به ازای هر ۱۰۰ گرم بلوط (قبل از خیساندن) در قالب ۶ تیمار انجام گردید. برای این کار مخمر نانوایی فعال خشک به مقدار مشخص ذکر شده، در ۵۰ میلی لیتر آب معمولی و لرم حل شد و سپس به بلوط‌های چرب شده افزوده گردید. بلوط‌های تخمیر شده به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرار داده شدند تا مخمر غیر فعال گردد (Khattab and Arntfield, 2009). ادامه خشک شدن در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد در آون انجام شد. تیمار شاهد خیسانده و تخمیر نشد اما در سایر تیمارها، اثر تجمعی خیساندن در محلول سود و آب مقطر و سپس تخمیر بر شاخص‌های مورد نظر بررسی گردید. در پایان، تیمارهای مختلف بلوط آسیاب شده و با الک ۲۵۰ میکرون غربال گردیدند تا آرد بلوط فرآوری شده به دست آید.

(2021) و به عنوان موثرترین پروتکل برای حذف تاننهای متراکم و ترکیبات فنولی محلول در آب از طریق ورود این مواد به محیط و دور ریختن آن‌ها می‌باشد (Godrich et al., 2023) اثر مثبت خیساندن میوه بلوط در محلول سود (Ghaderi-ghahfarokhi et al., 2017) و آب معمولی (Nadri and Alamdari, 2022) بر کاهش میزان ترکیبات فنولی در آن به اثبات رسیده است. از آنجایی که هیچ روش عمل آوری واحدی سبب حذف یا کاهش همه انواع عوامل ضد تغذیه‌ای نمی‌شود، تولید خوارک‌های بر پایه بذر گیاهان به کمک ترکیبی از روش‌های عمل آوری مختلف و متعاقب پیشنهاد شده است (Nikmaram et al., 2017).

از طریق روش تخمیر می‌توان از ظرفیت میکرواورگانیسم‌های مختلف در تجزیه مواد ضد مغذی برای عمل آوری زیستی غذاهای گیاهی استفاده نمود. در این فرآیند میکرواورگانیسم‌ها با بیوسنتز اسیدهای آمینه ضروری، اسیدهای چرب و ویتامین‌ها سبب بهبود محتوای مغذی در مواد اولیه غذایی می‌شوند (Ghosh, 2017). از مخمر نانوایی (Saccharomyces cerevisiae) بهدلیل توانایی ترشح آنزیم‌های خارج سلولی، غیر بیماریزا بودن و قیمت پایین به طور گسترده در تخمیر سنتی استفاده شده است (Hawashi et al., 2019). تحقیقات نشان داده است که Narui and Narui and (Alamdar, 2022) تا حدی از تانن موجود در بلوط، اثر منفی بر تخمیر دارد که تانن موجود در بلوط، اثر منفی بر تخمیر دارد (Khattab and Khattab, 2009) بر این اساس، ابتدا به روش خیساندن بلوط تحت فرآیند تخمیر قرار گرفت.

صرف نظر از تحقیقات زیادی که در مورد اثرات مفید فرآیند خیساندن بر بهبود ارزش غذایی دانه‌های مختلف گیاهی انجام شده (Thepthanee et al., 2024)، تاکنون اثر خیساندن میوه بلوط (Quercus brantii) در محلول سود و سپس تخمیر آن توسط مخمر نانوایی (Saccharomyces cerevisiae) بر آنالیز بیوشیمیایی، میزان ترکیبات فنولی و قابلیت هضم آن در شرایط برونتنی در ماهیان، مورد مطالعه قرار نگرفته است. کپور معمولی (Cyprinus carpio) یکی از مهمترین گونه‌های ماهیان پرورشی در سطح جهان است. از آنجایی که این ماهی همه‌چیزخوار است و از لحاظ

میوه بلوط \leftarrow حذف پوسته داخلی \leftarrow خیساندن در محلول سود \leftarrow شستشو و خیساندن در آب مقطر \leftarrow خرد کردن با چرخ گوشت \leftarrow تخمیر با مخمر نانوایی در شش دوز مختلف \leftarrow خشک کردن \leftarrow آسیاب کردن \leftarrow الک کردن \leftarrow آرد بلوط فرآوری شده

شکل ۱- خلاصه مراحل فرآوری و تیماربندی بلوط‌آنالیز بیوشیمیایی

دوره نوری به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و میانگین دمای آب برابر با ۲۵ درجه سانتی گراد بود. یک عدد ماهی از هر مخزن به طور تصادفی برای استخراج آنزیم صید شد. وزن و طول ماهیان به ترتیب برابر با $2/2 \pm 95/6$ گرم و $0/9 \pm 19/5$ سانتی متر (انحراف استاندارد \pm میانگین) بود. کل روده هر ماهی به صورت جداگانه 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 فسفاتی-نمکی (۱/۱ مولار با pH برابر با ۸/۱۵ و حاوی ۰/۹ درصد کلرید سدیم) انجام شد. روده‌های تمیز شده با قیچی 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 ۱۴۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه در ۴ درجه سانتی گراد سانتریفوژ شد. مایع رویی جمع‌آوری و به حجم‌های کوچک تقسیم گردید و تا زمان آزمایش هضم برونتی، در ۲۴- درجه سانتی گراد نگهداری شد (Khan and Ghosh, 2013).

قابلیت هضم کربوهیدرات و پروتئین

ابتدا مخلوط واکنش حاوی ۲۰۰ میلی گرم از هر نمونه آرد بلوط، ۴۰ میلی لیتر بافر فسفاتی-نمکی ۱/۱ مولار و ۱ میلی لیتر عصاره آنزیمی در دمای اتاق (۲۸ درجه سانتی- گراد) در تاریکی روی شیکر در ۲۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۲ ساعت انکوباته گردید. جهت تعیین قابلیت هضم کربوهیدرات قبل از آزمایش هضم، ۱/۵ میلی لیتر از مخلوط واکنش به عنوان شاهد برداشته شد. محلولی از ۱/۵ میلی لیتر مخلوط واکنش و ۱/۵ میلی لیتر معرف دی‌نیترو- سالیسیلیک اسید در حمام آب جوش به مدت ۵ دقیقه قرارداده شد و سپس تا دمای اتاق خنک گردید. لوله آزمایش در g ۱۴۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. میزان جذب نور در ۵۴۰ نانومتر اندازه گیری و سپس با منحنی استاندارد مالتوز مقایسه شد. قابلیت هضم کربوهیدرات در شرایط برونتی بر حسب میلی گرم مالتوز به ازای هر میلی گرم نمونه گزارش گردید (Kattakdad et al., 2018).

برای تعیین قابلیت هضم پروتئین قبل از

پروتئین خام با اندازه گیری نیتروژن به روش کلداو و سپس حاصل ضرب آن در عدد $6/25$ (Ozcan, 2006)، چربی خام با عصاره گیری از نمونه‌ها به کمک پترولیوم اتر به روش سوکسله و رطوبت با خشک کردن در آون در دمای 10^3 درجه سانتی گراد به مدت ۸ ساعت (AOAC, 2000) تعیین شد. خاکستر آرد بلوط با قراردادن نمونه در کوره در دمای 550 درجه سانتی گراد در دو بازه زمانی ۳ ساعته و با وقفه- ای بین این دو زمان جهت کاهش دما به زیر 200 درجه Thiex 2012 (et al.,). کل ترکیبات فنولی، ترکیبات فنولی غیر- تانی و تانی‌های متراکم به روش فولین‌سیوکالتئو اندازه- گیری شد (Makkar, 2003). برای این منظور، استخراج عصاره تانی به وسیله استون آبی 70 درصد و در حمام آبی اولتراسونیک به مدت ۲۰ دقیقه (دو مرتبه 10 دقیقه ای با فاصله 5 دقیقه از هم) انجام شد. مایع شفاف بالایی (سوپراناتانت) با انجام سانتریفوژ به مدت 10 دقیقه و با شدت 3000 دور در دقیقه به دست آمد. اندازه گیری کل ترکیبات فنولی و ترکیبات فنولی غیر تانی در طول موج 725 نانومتر و اندازه گیری تانی‌های متراکم در طول موج 550 نانومتر انجام شد. جهت تعیین pH آرد بلوط، مقدار یک گرم آرد بلوط در 25 میلی لیتر آب مقطر در دمای اتاق حل گردید. پس از 10 دقیقه، pH نمونه‌ها بوسیله pH متر رومیزی اندازه گیری شد (Chumwaengwapee et al., 2013).

استخراج آنزیم

تعداد 15 قطعه بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) به وزن حدود 95 گرم از یک مزرعه پرورش ماهی خصوصی تامین گردید و به مدت دو هفته در سه مخزن 250 لیتری (5 قطعه ماهی در هر مخزن) مرحله سازگاری با شرایط سالن پرورش انجام شد. در مدت سازگاری، ماهیان روزانه دو بار تا حد سیری در ساعت 9 و 14 با خوراک تجاری کپور (ساخت کارخانه خوراک شیلان و حاوی 32 درصد پروتئین خام، $7/5$ درصد چربی خام و 10 درصد رطوبت) تغذیه شدند (Alamdari and Musavi, 2023).

با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد.
 $P < 0.05$.

۳ | نتایج

مطابق جدول ۱ به طور معنی‌دار پروتئین خام در تمام تیمارها بجز تیمار حاوی ۰/۵ گرم مخمر به ازای هر ۱۰۰ گرم بلوط، به میزان ۵/۸ تا ۱۸۶/۵ درصد بیشتر از شاهد گردید اما خاکستر در همه تیمارها به میزان ۸/۴ تا ۴۸/۲ درصد کمتر از شاهد شد ($p < 0.05$). افزایش سطح مخمر سبب افزایش میزان پروتئین خام و خاکستر شد به طوری که از میان تیمارهای تخمیری، بیشترین سطح پروتئین خام و خاکستر در تیمار حاوی ۱۵ گرم مخمر به ازای هر ۱۰۰ گرم بلوط مشاهده گردید ($p < 0.05$). تفاوت معنی‌دار در میزان چربی خام بین تیمارهای مختلف ایجاد نشد ($p > 0.05$).

آزمایش هضم ۱/۵ میلی‌لیتر از مخلوط واکنش به عنوان شاهد برداشته شد. محلولی از ۱/۵ میلی‌لیتر مخلوط واکنش و ۱/۵ میلی‌لیتر معرف کادمیوم نین‌هیدرین به مدت ۵ دقیقه در ۸۴ درجه سانتی‌گراد و سپس فوری بر روی بخش قرارداده شد. پس از سانتریفیوژ لوله آزمایش در ۱۴۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه، جذب نوری مایع روی 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 (Kattakdad *et al.*, 2018).

تجزیه و تحلیل آماری

کلیه محاسبات به کمک نرم‌افزارهای SPSS نگارش ۲۰ و اکسل 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 و مقایسه میانگین داده‌ها

جدول ۱- آنالیز بیوشیمیایی انواع آرد بلوط بر حسب درصد از ماده خشک (خطای استاندارد میانگین سه تکرار)

تیمار	پروتئین خام	چربی خام	خاکستر
۰/۵	۲/۸۱±۰/۰۵ ^g (-۱۰/۰)	۶/۰۶±۰/۴۹	۰/۷۴±۰/۰۴ ^d (-۴۸/۲)
۱/۵	۳/۲۹±۰/۰۲ ^e (+۵/۸)	۶/۶۱±۰/۳۶	۰/۷۸±۰/۰۳ ^d (-۴۵/۴)
۳	۳/۴۹±۰/۰۳ ^d (+۱۲/۲)	۶/۲۷±۰/۶۰	۰/۸۴±۰/۰۳ ^d (-۴۱/۳)
۵	۴/۵۸±۰/۰۵ ^c (+۴۷/۳)	۷/۲۲±۰/۲۳	۰/۸۵±۰/۰۵ ^d (-۴۰/۶)
۱۰	۶/۹۴±۰/۰۸ ^b (+۱۲۳/۱)	۶/۸۹±۰/۵۶	۱/۱۴±۰/۰۰ ^c (-۲۰/۳)
۱۵	۸/۹۱±۰/۰۴ ^a (+۱۸۶/۵)	۶/۳۰±۰/۰۷	۱/۳۱±۰/۰۳ ^b (-۸/۴)
شاهد	۳/۱۱±۰/۰۲ ^f	۵/۱۷±۰/۰۸	۱/۴۳±۰/۰۴ ^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

به ۷/۱۸±۰/۰۲ افزایش یافت اما پس از آن، فرآیند تخمیر سبب کاهش pH فرآورده تخمیر شده گردید به طوری که مقدار آن در تیمارهای مختلف از ۶/۴۸ تا ۵/۸۶ متفاوت بود. در کل مقدار نهایی pH بلوط تخمیر شده در تیمارهای مختلف به میزان ۱۲/۷ تا ۱/۹ درصد بیشتر از شاهد گردید ($p < 0.05$)

بر اساس جدول ۲ در همه تیمارها به طور معنی‌دار کل ترکیبات فنولی به میزان ۵۶/۸ تا ۶۸/۴ درصد، ترکیبات فنولی غیر تاننی به میزان ۵۷/۴ تا ۷۳/۸ درصد و تانن‌های متراکم به میزان ۸۷ تا ۹۵/۶ درصد کمتر از شاهد شد در میان pH بلوط پس از ۲۴ ساعت خیساندن (۸ ساعت در محلول سود و ۱۶ ساعت در آب مقطر) از ۵/۷۵±۰/۰۱

جدول ۲- ترکیبات فنولی آرد بلوط بر حسب درصد از ماده خشک و pH آن (خطای استاندارد ± میانگین سه تکرار)

تیمار	کل ترکیبات فنولی	ترکیبات فنولی غیر تانینی	تانن های متراکم	pH آرد بلوط
۰/۵	۳/۳۸±۰/۱۲ ^c (-۶۳/۶)	۰/۱۶±۰/۰۱ ^d (-۷۳/۸)	۰/۰۱±۰/۰۰ ^b (-۹۵/۶)	۶/۴۸±۰/۰۰ ^a (+۱۲/۷)
۱/۵	۲/۹۵±۰/۰۶ ^c (-۶۸/۲)	۰/۱۶±۰/۰۱ ^d (-۷۳/۸)	۰/۰۱±۰/۰۰ ^b (-۹۵/۶)	۶/۴۱±۰/۰۱ ^b (+۱۱/۵)
۳	۳/۹۴±۰/۱۶ ^b (-۵۷/۵)	۰/۱۸±۰/۰۱ ^{cd} (-۷۰/۵)	۰/۰۲±۰/۰۰ ^b (-۸۷/۰)	۶/۳۵±۰/۰۰ ^c (+۱۰/۴)
۵	۲/۹۳±۰/۰۶ ^c (-۶۸/۴)	۰/۲۲±۰/۰۱ ^{bc} (-۶۳/۹)	۰/۰۳±۰/۰۰ ^b (-۸۷/۰)	۶/۳۰±۰/۰۱ ^d (+۹/۶)
۱۰	۳/۰۷±۰/۲۴ ^c (-۶۶/۹)	۰/۱۹±۰/۰۱ ^{cd} (-۶۸/۸)	۰/۰۱±۰/۰۰ ^b (-۹۵/۵)	۶/۱۵±۰/۰۱ ^e (+۷/۰)
۱۵	۴/۰۱±۰/۱۶ ^b (-۵۶/۸)	۰/۲۶±۰/۰۱ ^b (-۵۷/۴)	۰/۰۲±۰/۰۰ ^b (-۹۱/۳)	۵/۸۶±۰/۰۱ ^f (+۱/۹)
شاهد	۹/۲۸±۰/۲۳ ^a	۰/۶۱±۰/۰۳ ^a	۰/۰۲۳±۰/۰۰ ^a	۵/۷۵±۰/۰۱۹

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

از شاهد شد اما در تیمارهای حاوی ۰/۵ و ۱/۵ گرم مخمر کمتر از شاهد گردید ($P < 0.05$). قابلیت هضم پروتئین در تیمار حاوی ۳ گرم مخمر تفاوت معنی داری با شاهد نداشت ($P > 0.05$).

طبق جدول ۳ به طور معنی دار قابلیت هضم کربوهیدرات در تمام تیمارها به میزان ۳۳/۷ تا ۶۰/۷ درصد کمتر از شاهد گردید ($P < 0.05$). قابلیت هضم پروتئین در تیمارهای حاوی ۱۰، ۵ و ۱۵ گرم مخمر به ازای هر ۱۰۰ گرم بلوط به ترتیب به میزان ۵۲/۸، ۵۲/۸، ۱۰۳/۸ و ۱۴۵/۳ درصد بیشتر

جدول ۳- قابلیت هضم کربوهیدرات و پروتئین انواع آرد بلوط (خطای استاندارد ± میانگین سه تکرار)

تیمار	قابلیت هضم کربوهیدرات	قابلیت هضم پروتئین
۰/۵	۷۰/۰۸±۰/۰۵ ^b (-۳۵/۲)	(میکرو گرم تیروزین به ازای هر میلی گرم نمونه)
۱/۵	۴۲/۵۶±۰/۸۰ ^e (-۶۰/۷)	۰/۴۴±۰/۰۴ ^e (-۱۷/۰)
۳	۶۷/۱۶±۰/۴۶ ^c (-۳۷/۹)	۰/۳۳±۰/۰۲ ^f (-۳۷/۷)
۵	۷۱/۷۱±۱/۲۴ ^b (-۳۳/۷)	۰/۵۳±۰/۰۳ ^d (۰/۰)
۱۰	۵۸/۹۴±۰/۶۵ ^d (-۴۵/۵)	۰/۸۱±۰/۰۳ ^c (+۵۲/۸)
۱۵	۵۸/۵۴±۰/۷۲ ^d (-۴۵/۹)	۱/۰۸±۰/۰۲ ^b (+۱۰۳/۸)
شاهد	۱۰۸/۲۴±۰/۷۲ ^a	۱/۳۰±۰/۰۱ ^a (+۱۴۵/۳) ۰/۵۳±۰/۰۱ ^d

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

تحقیقات متعدد نشان داده که مخمر نانوایی سبب افزایش میزان پروتئین خام در ماده تحت تخمیر می گردد (Christ- Ribeiro *et al.*, 2020; Terefe *et al.*, 2021; Yafetto *et al.*, 2022). افزایش میزان پروتئین خام بعد از تخمیر ممکن است در ارتباط با کاهش میزان کربن در ماده تخمیر شده، افزایش توده سلولی و تولید ترکیبات نیتروژنی غیر پروتئینی نظیر آمونیاک، آمینه ها، اسیدهای آمینه و پپتیدها باشد زیرا همه این موارد سبب افزایش محتوا پروتئین خام می شوند (Onyango *et al.*, 2013). میکرواورگانیسم ها در حین تخمیر، کربوهیدرات ها را به عنوان یک منبع انرژی مصرف می کنند و دی اکسید کربن را به عنوان فرآوردهای جانبی تولید می نمایند. درنتیجه غلظت نیتروژن در فرآورده تخمیر شده افزایش می یابد و بنابراین سهم پروتئین در توده کل بیشتر می شود (Nasseri *et al.*, 2011). تحقیقات نشان

۴ | بحث و نتیجه گیری

محققان معتقدند مخمر نانوایی قادر به تولید متابولیت های مختلفی نظیر آنزیم ها، الیگوساکاریدها، اسیدهای آمینه، پپتیدها، اسیدهای آلی، ویتامین ها و سایر ترکیبات محلول می باشد (Dawood *et al.*, 2020). در این تحقیق پروتئین خام در تمام تیمارها بجز تیمار حاوی ۰/۵ گرم مخمر به ازای هر ۱۰۰ گرم بلوط، بیشتر از شاهد گردید (جدول ۱). کمتر بودن میزان پروتئین خام در تیمار حاوی ۰/۵ گرم مخمر در مقایسه با شاهد با توجه به آبشویی (leaching) Xavier *et al.*, (2012) و جمعیت کم مخمر جهت جبران کاهش بوجود آمده، قابل توجیه است. متعاقبا افزایش دوز مخمر سبب افزایش معنی دار میزان پروتئین خام گردید ($P < 0.05$).

سلول‌های مخمر نانوایی دارای ظرفیت جذب و در نتیجه حذف تانن هستند (Bindon *et al.*, 2019).

در این پژوهش، قابلیت هضم پروتئین در تیمارهای حاوی ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم مخمر بیشتر از شاهد شد (جدول ۳). اثر مثبت خیساندن بذر سورگوم در محلول سود بر افزایش معنی‌دار قابلیت هضم پروتئین در شرایط برون‌تنی توسط سایر محققان (Chavan *et al.*, 1979) به اثبات رسیده است. اگرچه مطالعات کمی در مورد اثر تانن بر آنزیم‌های روده‌ای ماهی انجام شده (Mandal and Ghosh, 2010) اما تحقیقات نشان داده است که تانن‌های موجود در لوپیا به شدت سبب ممانعت از فعالیت آنزیم‌های تریپسین و کیموتریپسین وزالمعده می‌شوند (Carmona *et al.*, 1991). بر این اساس افزایش قابلیت هضم پروتئین به دلیل کاهش ترکیبات فنولی در اثر خیساندن و تخمیر قابل درک است. خیساندن میوه بلوط در محلول سود و آب مقطر و استفاده از مخمر سبب کاهش قابلیت هضم کربوهیدرات‌های در تمام تیمارها و قابلیت هضم پروتئین در تیمارهای حاوی ۰/۵ و ۱/۵ گرم مخمر در مقایسه با شاهد شد (جدول ۳). در پژوهشی اثر خیساندن مواد اولیه گیاهی (کنجاله سویا، کیک روغنی آفتابگردان و کیک روغنی نارگیل) در آب Labeo معمولی بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی روهو (rohita) مورد بررسی قرار گرفت. خیساندن مواد گیاهی اگرچه سبب کاهش معنی‌دار محتوای تاننی 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 به عنوان عامل احتمالی این نتیجه معرفی شد (Xavier *et al.*, 2012). در تحقیق حاضر، ممکن است کاهش قابلیت هضم کربوهیدرات‌های در همه تیمارها به دلیل آبشویی برخی مواد مغذی محلول در مدت خیساندن قبل از تخمیر بوده باشد. از طرف دیگر مصرف کربوهیدرات‌ها به عنوان منبع انرژی در حین تخمیر به اثبات رسیده (Nasseri *et al.*, 2011) و به نظر می‌رسد در چنین وضعیتی، باقیماندن کربوهیدرات‌های با قابلیت هضم کمتر در ماده تخمیر شده سبب کاهش برآورد قابلیت هضم کربوهیدرات‌بوده باشد. کاهش قابلیت هضم پروتئین در تیمارهای حاوی ۰/۵ و ۱/۵ گرم مخمر ممکن است به دلیل آبشویی پروتئین‌ها طی مدت خیساندن و عدم جبران کمبود آن‌ها در اثر کمتر بودن جمعیت مخمر در این تیمارها بوده باشد. عامل دیگر موثر بر قابلیت هضم، می‌تواند

داده است که تخمیر سورگوم توسط مخمر نانوایی به مدت ۵ روز سبب افزایش معنی‌دار میزان چربی خام می‌گردد (Yafetto *et al.*, 2022) در مطالعه حاضر تخمیر به مدت ۲۴ ساعت، سبب افزایش جزئی میزان چربی خام شد (جدول ۱) اما این افزایش نسبت به شاهد معنی‌دار نبود (p<0.05). ممکن است کوتاه بودن نسبی مدت تخمیر عامل غیر معنی‌دار شدن این افزایش بوده باشد. خاکستر در همه تیمارها به طور معنی‌دار کمتر از شاهد گردید (p<0.05). این مساله با توجه به آبشویی مواد معدنی در مرحله خیساندن (Xavier *et al.*, 2012) و قبل از تخمیر قابل توجیه است زیرا در تیمارهای تخمیری، استفاده از سطوح بالاتر مخمر (۱۰ و ۱۵ گرم مخمر به ازای هر ۱۰۰ گرم بلوط) اثر مثبت بر میزان مواد معدنی در فرآورده تخمیر شده داشت (جدول ۱). تحقیقات متعدد دیگر هم نشان داده است که مخمر نانوایی سبب افزایش میزان خاکستر Christ-Ribeiro *et al.*, 2020; Terefe *et al.*, 2021; Yafetto *et al.*, 2022 ناشی از تجمع ماده معدنی در اثر فعالیت‌های آنزیمی و متابولیکی در حین تخمیر باشد (Uvere *et al.*, 2010). در تحقیق حاضر مقدار کل ترکیبات فنولی، ترکیبات فنولی غیر تاننی و تانن‌های متراکم در همه تیمارها کمتر از شاهد بود (جدول ۲). عمل آوری دانه‌های گیاهی از طریق فرآیندهای خیساندن و تخمیر به منظور کاهش مواد ضد تغذیه‌ای، در تحقیقات متعدد مطالعه قرار گرفته است. کاهش میزان ترکیبات فنولی در اثر خیساندن بذر سورگوم در محلول ۰/۰۵ مولار سود (Chavan *et al.*, 1979)، خیساندن میوه بلوط ایرانی در آب مقطر و محلول‌های ۰/۱، ۰/۵ و ۱ مولار سود (Ghaderi-Ghahfarrokhi *et al.*, 2017)، Bacillus و Bacillus pumilus (Banerjee and Ghosh, 2017) در کیک روغنی کتان (tequilensis 2016) و تخمیر توسط مخمر نانوایی در میوه بلوط اروپایی (Amina *et al.*, 2018) به اثبات رسیده است. کاهش ترکیبات فنولی را می‌توان به آبشویی و ورود آن‌ها به محیط خیساندن تحت تأثیر گرادیان غلظت، افزایش نفوذپذیری دانه در محیط قلیایی و افزایش انحلال تانن و سایر ترکیبات فنولی در محلول‌های قلیایی و همچنین حساس بودن ترکیبات فنولی به حرارت (Ghaderi-Ghahfarrokhi *et al.*, 2017) نسبت داد. از طرف دیگر مشخص شده است که

- procedures for the determination of the apparent tannin content of common beans. Journal of the Science of Food and Agriculture, 56 (3): 291-301.
- Chavan, J. K., Kadam, S. S., Ghonsikar, C. P., Salunkhe, D. K. 1979. Removal of tannins and improvement of in vitro protein digestibility of sorghum seeds by soaking in alkali. Journal of Food Sciences, 44: 1319-1321.
- Christ-Ribeiro, A., Alves, J. B., Almeida de Souza-Saques, L., Badiale-Furlong, E. 2020. Fermented rice bran: an alternative ingredient in baking. Research, Society and Development 9(11): e45491110225.
- Chumwaengwapee, S., Soontornchai, S., Thongprajukeaw, K. 2013. Improving chemical composition, physicochemical properties, and in vitro carbohydrate digestibility of fish coconut meal. Journal of Science Asia, 39: 636-642.
- Dawood, M. A. O., Eweedah, N. M., Khalafalla, M. M., Khalid, A., Asely, A.E., Fadl, S. E., Amin, A. A., Paray, B. A., Ahmed H. A. 2020. *Saccharomyces cerevisiae* increases the acceptability of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to date palm seed meal. Aquaculture Reports, 17: 100314.
- Ghaderi-Ghahfarokhi, M., Sadeghi-Mahoonak, A. R., Alami, M., Mousavi-Khanegah, A. 2017. Effect of processing treatments on polyphenol removal from kernel of two Iranian acorns varieties. International Food Research Journal, 24: 86-93.
- Ghosh, K. 2017. Solid state fermentation as a function to improve nutritive value of plant feed-stuffs: Prospect in aquafeed formulation. In: Paul, B.N., Adhikari, S., Mandal, R. N. (Eds.), Training Manual on "Application and Practices of Fish Feed in Aquaculture" (pp: 71-78). ICAR-Central Institute of Freshwater Aquaculture, RRC.
- Godrich, J., Rose, P., Muleya, M., Gould, J. 2023. The effect of popping, soaking, boiling and roasting processes on antinutritional factors in chickpeas and red kidney beans. International Journal of Food Science and Technology, 58: 279-289.
- Hawashi, M., Altway, A., Widjaja, T., Gunawan, S. 2019. Optimization of process conditions for tannin content reduction in cassava leaves during solid state fermentation using *Saccharomyces cerevisiae*. Heliyon, 5: e02298.
- Kattakkad, S., Jintasataporn, O., Worawattanamateekul, W., Chumkam, S. 2018. pH characterization of digestive enzyme and in vitro digestibility of red bee shrimp *Caridina cantonensis* (Decapoda: Atyidae). Journal of Aquaculture Research and Development, 9 (2): 1-6.

تغییر در ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی بلوط در اثر خیساندن و تخمیر باشد کما اینکه تفاوت معنی‌دار در pH بلوط تخمیر شده در این پژوهش به اثبات رسید. در مجموع به دلیل اهمیت زیاد پروتئین به عنوان گرانترین درشت-مغذي (ماکرونوترین) در جیره غذایی، لزوم ارتقاء کمیت و کیفیت آن در مواد اولیه غذایی و کاهش میزان ترکیبات فنولی ضد تغذیه‌ای، تیمار حاوی ۱۵ گرم مخمر به ازای هر ۱۰۰ گرم بلوط به عنوان تیمار بهینه جهت فرآوری بلوط به روش خیساندن قلیایی - تخمیر توصیه می‌گردد.

۵ | تشكير و قدردانی

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

۶ | ملاحظات اخلاقی

موردی توسط نویسنندگان گزارش نشده است.

EFERENCES

- Alamdari, H., Musavi, Kh. 2023. 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, 12: 277-286 (in Persian).
- Amina, M., Djamel, F., Djamel, H. 2018. Influence of fermentation and germination treatments on physicochemical and functional properties of acorn flour. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 24(4): 719-726.
- Anwar, A., Wan, A.H., Omar, S., El-Haroun, E., Davies, S.J. 2020. 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, 17: 1-10.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2000. Official Methods of Analysis 17th ed. Washington D.C., 2200 p.
- Banerjee, S., Ghosh, K. 2016. Bio-processing of linseed oil-cake through solid state fermentation by non-starch polysaccharide degrading fish gut bacteria. Fermentation Technology, 5 (1): 1-10.
- Bindon, K.A., Kassara, S., Solomon, M., Bartel, C., Smith, P. A., Barker, A. and Curtin, C. 2019. Commercial *Saccharomyces cerevisiae* yeast strains significantly impact Shiraz tannin and polysaccharide composition with implications for wine colour and astringency. Biomolecules, 9: 466.
- Carmona, A., Seild D. S., Jaffe, W. G. 1991. Comparison of extraction methods and assay

- emphasis on the Zagros region. The 7th Scientific Research Conference on the Development and Promotion of Agricultural Sciences and Natural Resources of Iran, Tehran, Iran. (In Persian).
- Talebian Nik, S. S., Alamdari, H. 2020. Addition of Iranian oak fruit (*Quercus brantii*) to common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) diet and its effects on growth performance, carcass composition and resistance to salinity stress. Iranian Scientific Fisheries Journal, 29(2): 83-91 (in Persian).
- Terefe, Z. K., Omwamba, M. N., Ndoko, J. M. 2021. Effect of solid state fermentation on proximate composition, antinutritional factors and in vitro protein digestibility of maize flour. Food Science and Nutrition, 9: 6343-6352.
- Thephantee, C., Li, H., Wei, H., Prakitchaiwattana, C., Siriamornpun, S. 2024. Effect of Soaking, Germination, and Roasting on Phenolic Composition, Antioxidant Activities, and Fatty Acid Profile of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Seeds. Horticulturae, 10, 387.
- Thiex, N., Novotny, L., Crawford, A. 2012. Determination of ash in animal feed: AOAC official method 942.05 revisited. Journal of AOAC international, 95 (5): 1392-1397.
- Uvere, P. O., Onyekwere, E. U., Ngoddy, P. O. 2010. Production of maize-bambara groundnut complementary foods fortified pre-fermentation with processed foods rich in calcium, iron, zinc and provitamin A. Journal of the Science of Food and Agriculture, 90(4): 566–573.
- Wang, R., Mohammadi, M., Mahboubi, A., Taherzadeh, M. J. 2021. In-vitro digestion models: a critical review for human and fish and a protocol for *in-vitro* digestion in fish. Bioengineered, 12(1): 3040-3064.
- Xavier, B., Sahu, N. P., Pal, A. K., Jain, K. K., Misra, S., Dalvi, R. S., Baruah, K. 2012. 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, 38: 341-353.
- Yafetto, L., Nsiah-Asamoah, C. N. A., Birikorang, E., Odamten, G., T. 2022. Biotechnological Application of *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus delbrueckii* sp. *bulgaricus* for Protein Enrichment of Fermented Unmalted and Malted Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). International Journal of Food Science, 2264993.
- Khan, A., Ghosh, K. 2013. Phytic acid-induced inhibition of digestive protease and α -amylase in three Indian major carps: An in vitro study. Journal of the world aquaculture society, 44 (6): 853-859.
- Khattab, R.Y., Arntfield, S.D. 2009. Nutritional quality of legume seeds as affected by some physical treatments 2. Antinutritional factors. LWT - Food Science and Technology, 42: 1113-1118.
- Makkar, H.P.S. 2003. Quantification of tannins in tree and shrub foliage. A laboratory manual. FAO/IAEA., 31 p.
- Mandal, S., Ghosh, K. 2010. Inhibitory effect of Pistia tannin on digestive enzymes of Indian major carps: an in vitro study. Fish Physiology and Biochemistry, 36: 1171-1180.
- Nadri, A., Alamdari, H. 2022. 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, 8(1): 57-66 (in Persian).
- Narui, M., Alamdari, H. 2022. 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*). Iranian Scientific Fisheries Journal, 31(1): 47-56 (in Persian).
- Nasseri, A., Rasoul-Amini, S., Morowvat, M., Ghasemi, Y. 2011. Single cell protein: Production and process. American Journal of Food Technology, 6(2): 103-116.
- Nikmaram, N., Leong, S.Y., Koubaa, M., Zhu, Z., Barba, F.J., Greiner, R., Oey, I., Roohinejad, S. 2017. Effect of extrusion on the anti-nutritional factors of food products: An overview. Food Control, 79: 62-73.
- Onyango, C. A., Ochanda, S. O., Mwasaru, M. A., Ochieng, J. K., Mathooko, F. M., Kinyuru, J. N. 2013. Effects of malting and fermentation on anti-nutrient reduction and protein digestibility of red sorghum, white Sorghum and pearl millet. Journal of Food Research, 2(11): 41-49.
- Ozcan, T. 2006. Total protein and amino acid compositions in the acorns of Turkish *Quercus* L. taxa. Genetic Resources and Crop Evolution, 53: 419-429.
- Ramlı, N.A.M., Chen, Y.H., Mohd Zin, Z., Abdullah, M.A.A., Rusli, N.D., Zaino, M.K. 2021. Effect of soaking time and fermentation on the nutrient and antinutrients composition of *Canavalia ensiformis* (Kacang Koro). IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 756, 012033.
- Shahbazi, K., Shafaghati, M. 2020. Challenges and solutions for forest development in Iran with

نحوه استناد به مقاله:

علمداری ح. نارویی م. اثر فرآوری بلوط به روش خیساندن قلیایی- تخمیر بر آتالیز بیوشیمیابی و قابلیت هضم برونتنی آن در کپور معمولی. نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی. ۱۴۰۳ (۴) (۱۲): ۱-۱۲.

Alamdari H., Narui M. The effect of oak processing by alkaline soaking-fermentation method on its biochemical analysis and in-vitro digestibility in common carp. Journal of Applied Ichthyological Research, 2024, 12(4): 01-12.

The effect of oak processing by alkaline soaking-fermentation method on its biochemical analysis and in-vitro digestibility in common carp**Alamdari H^{1*}, Narui M.¹**

¹Department of Fishery, Faculty of Natural Resources, Behbahan Khatam Alania University of Technology,
Behbahan, Khuzestan, Iran

Type: Original Research Paper	Abstract Tannin is an anti-nutritional compound found in acorns. The aim of research was to reduce the amount of tannin in the acorn through alkaline soaking process followed by fermentation and to investigate its effect on acorn in-vitro digestibility. Acorns were soaked in a 0.1 M sodium hydroxide for 8 hours. Then, the acorns were washed and soaked in distilled water for 16 hours. Subsequently, fermentation was carried out for 24 hours in 6 treatments with 0.5, 1.5, 3, 5, 10 and 15 g of bakery yeast per 100 g of acorns. The control was not soaked and fermented. Enzyme extraction was performed from the intestines of common carp with an average weight of 95.6 g. Significantly, crude protein in different treatments except the treatment containing 0.5 g of yeast increased by 5.8 to 186.5% compared to the control, but in all treatments, ash (8.4 to 48.2%), total phenolic compounds (56.8 to 68.4%), non-tannin phenolic compounds (57.4 to 73.8%) and concentrated tannins (87 to 95.6%) decreased ($p<0.05$). Carbohydrate digestibility in different treatments were 33.7 to 60.7 % lower than the control and protein digestibility in treatments containing 5, 10, and 15 g of yeast were 52.8, 103.8, and 145.3 % higher than the control, respectively. Due to the importance of improving the quantity and quality of protein in raw materials and reducing the amount of anti-nutritional phenolic compounds, the treatment containing 15 g of bakery yeast per 100 g of acorns is recommended for processing acorns by alkaline soaking-fermentation method.
Paper History: Received: 11-01-2025 Accepted: 18-03- 2025	
Corresponding author: Alamdari H. Department of Fishery, Faculty of Natural Resources, Behbahan Khatam Alania University of Technology, Behbahan, Khuzestan, Iran. Email: alamdari671@yahoo.com	Keywords: Bakery yeast, Fish feed, Phenolic compounds, Soda solution