University of Guilan with collaboration of Iranian Aquaculture Society

Aquatic Animals Nutrition

Vol. 8, No. 1, 2022, pages: 57-66
DOI: 10.22124/janb.2023.23462.1178

Effects of soaking oak acorn, *Quercus brantii* in water on the removal of phenolic compounds and its digestibility for common carp, *Cyprinus carpio*

Arash Nadri, Hojat Alamdari*
Department of Fishery, Faculty of Natural Resources, Behbahan Khatam Alanbia University of Technology, Behbahan, Khuzestan, Iran

Received 20 December 2021 Revised 15 March 2022 Accepted 18 March 2022

KEYWORDS

Carbohydrate digestion
Common carp
Oak acorn
Phenolic compounds
Protein digestion

ABSTRACT

Oak acorn is widely used as human food and animal feed. This fruit contains considerable amounts of tannin. A large amount of tannin causes a disturbance in the digestion process. The aim of this study was to reduce the amount of tannin before consuming oak acorn in the diet. Dry and de-hulled acorns were soaked in tap water (1:5; w/v) for 24, 48 and 72 h (treatments 1, 2 and 3 without water exchange and treatments 4, 5 and 6 with water change every 12 h, respectively) at 50 °C. Then acorns were dried at 60 °C for 24 h, milled and sieved with a 250-micron sieve. The highest loss of total phenolic compounds (93.34%), non-tannin phenolic compounds (95.83%) and condensed tannins (96.92%) and the highest increase in protein digestibility were observed in treatment 6 ($p<0.05$). Carbohydrate digestibility only in treatment 2 was higher than the control, and the increased soaking time from 48 to 72 h caused a significant decrease in the digestibility of the carbohydrate. Acorn soaking caused a significant elevation in pH in treatment 6. The pH value of digested acorn was not different from the control when water was not changed, however, it was higher than the control when water was changed. In general, treatment 6 is recommended as the best treatment in acorn processing with tap water.

*Corresponding authors: alamdari@bkatu.ac.ir; alamdari671@yahoo.com

دانشگاه گیلان با مشارکت انجمن آبزی‌پروری ایران

تغذیه آبزیان

سال هشتم، شماره یکم، بهار ۱۴۰۱، صفحات ۶۶-۵۷

DOI: 10.22124/janb.2023.23462.1178

"مقاله پژوهشی"

اثرات خیساندن میوه بلوط (*Quercus brantii*) در آب بر حذف ترکیبات فنولی و قابلیت هضم آن برای کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

آرش ندری، حجت اله علمداری*

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء بهبهان، بهبهان، خوزستان

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۲۹ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۱۲/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۲۷

چکیده

میوه بلوط به‌دلیل قیمت پایین به‌طور گسترده به‌عنوان غذای انسان و خوراک دام مصرف می‌شود. این میوه حاوی مقادیر زیادی تانن است. مقدار زیاد تانن سبب اختلال در فرآیند هضم می‌شود. هدف از این پژوهش کاهش میزان تانن قبل از مصرف بلوط در جیره غذایی بود. میوه خشک و فاقد پوسته بلوط به نسبت وزنی-حجمی یک به پنج در آب معمولی به‌مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت (به‌ترتیب تیمارهای ۱، ۲ و ۳ بدون تعویض آب و تیمارهای ۴، ۵ و ۶ با تعویض آب هر ۱۲ ساعت یک‌بار) در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خیسانده شد. سپس بلوط در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت خشک، بعد آسیاب و با الک ۲۵۰ میکرون غربال شد. بیشترین میزان اتلاف کل ترکیبات فنولی (۹۳٪/۳۴)، ترکیبات فنولی غیرتانینی (۹۵/۸۳٪) و تانن‌های متراکم (۹۶/۹۲٪) و بیشترین افزایش قابلیت هضم پروتئین در تیمار ۶ مشاهده شد ($p<0/05$). قابلیت هضم کربوهیدرات تنها در تیمار ۲ بیش از شاهد بود و افزایش مدت خیساندن از ۴۸ به ۷۲ ساعت سبب کاهش معنی‌دار قابلیت هضم کربوهیدرات شد. خیساندن بلوط سبب افزایش معنی‌دار pH آن در تیمار ۶ شد. مقدار pH بلوط هضم شده در صورت عدم تعویض آب، تفاوتی با شاهد نداشت، اما در صورت تعویض آب، بیش از شاهد بود. در مجموع، تیمار ۶ به‌عنوان بهترین تیمار در فرآوری میوه بلوط با آب معمولی توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی

ترکیبات فنولی

کپور معمولی

میوه بلوط

هضم پروتئین

هضم کربوهیدرات

نویسنده مسئول: alamdari@bkatu.ac.ir; alamdari671@yahoo.com

مقدمه

از میوه بلوط به دلیل قیمت پایین به‌طور گسترده به عنوان خوراک جانوران استفاده می‌شود (Correia et al. 2013). میوه بلوط منبعی غنی از کربوهیدرات‌ها، اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها، لیپیدها، استرول‌های مختلف و ویتامین-هاست (Rakic et al. 2006)، اما در کنار ترکیبات مغذی، حاوی مقادیر قابل ملاحظه‌ای تانن و دیگر مـواد فنولی است (طالبیان نیک و علمداری، ۱۳۹۹). تانن‌ها از مواد ضد تغذیه‌ای گیاهی هستند که سبب اختلال در فرآیند هضم می‌شوند (Francis et al. 2001). این مواد ممکن است با تشکیل کمپلکس پروتئین–تانن در آنزیم‌های مختلف گوارشی و از طریق ممانعت از تشکیل فرآورده قابل جذب در روده سبب کاهش استفاده از ریزمغذی‌های غذایی شوند. علاوه بر این، ممکن است سبب اختلال در روش‌های جذب کربوهیدرات نظیر گلوکوسیداز-مالتاز، سوکراز و روش روده‌ای جذب گلوکز وابسته به سدیم شوند (Mandal and Ghosh, 2010). تانن‌ها عمدتاً به دو گروه متراکم و قابل هیدرولیز تقسیم می‌شوند. در کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) سمیت تانن متراکم کمتر از تانن قابل هیدرولیز است. این ماهی قادر به تحمل ۲٪ تانن متراکم در جیره غذایی است، بدون اینکه اثر مضری بر رشد داشته باشد، اما وجود ۲٪ تانن قابل هیدرولیز در جیره سبب کاهش رشد می‌شود (Becker and Makkar, 1999). اقتصادی‌ترین روش برای حذف مواد ضد تغذیه‌ای از غذاهای گیاهی، فرآیند خیساندن است (Padmaja and Steinkraus, 1995). در تحقیقات متعدد، اثر مثبت خیساندن دانه‌های گیاهی در مدت‌های زمانی مختلف در آب معمولی بر کاهش میزان ترکیبات فنولی و افزایش قابلیت هضم آن‌ها به اثبات رسیده است. خیساندن کنجاله مغز نارگیل به‌مدت ۱۶ ساعت سبب کاهش محتوای تانن و بهبود قابلیت هضم ظاهری پروتئین (Mukhopadhyay and Ray, 1999)؛ خیساندن ماش (*Vigna radiata*) به مدت ۱۲ ساعت موجب کاهش کل ترکیبات فنولی و تانن و افزایش قابلیت هضم پروتئین (Grewal and jood, 2006)؛ خیساندن لوبیای چشم بلبلی (*Vigna sinensis*)، نخود فرنگی (*Pisum sativum*) و لوبیای قرمز (*Phaseolus vulgaris*) به‌ترتیب به‌مدت ۱۲، ۱۸ و ۲۰ ساعت موجب کاهش تانن (Khattab and Arntfield, 2009)؛ خیساندن سه رقم زراعی رد گرم (*Cajanus cajan*; red gram)، سه رقم زراعی ماش، شش رقم زراعی عدس (*Leus esculenta*) و پنج رقم زراعی بنگال گرم (*Cicer arietinum*; Bengal gram) به‌مدت ۱۲ ساعت سبب بیشترین حذف ترکیبات مذکور در ماش و کمترین حذف در بنگال گرم (Khandelwal et al. 2010)؛ و خیساندن نخود کابلی (*Cicer arietinum*) به‌مدت ۱۶ ساعت، سبب کاهش میزان تانن و افزایش قابلیت هضم پروتئین در شرایط برون‌تنی (Xu et al. 2016) به‌طور معنی‌دار شد.

در ارزیابی کیفیت تغذیه‌ای مواد خوراکی برای انسان و جانوران خشکی‌زی از فرآیند هضم در شرایط برون‌تنی (*in vitro*) به‌طور گسترده استفاده شده است. این فنون در تغذیه جانوران آبزی پرورشی کمتر به‌کار رفته، اما در سالیان اخیر علاقه‌مندی به استفاده از این روش‌ها، افزایش یافته است (Moyano et al. 2014). از آنجا که تعیین قابلیت هضم درون‌تنی (*in vivo*) وقت‌گیر و پرهزینه است، ضروری است که از روش‌های برون‌تنی استفاده است. روش-های برون‌تنی، سریع بوده و برای ارزیابی قابلیت هضم پروتئین توسط آنزیم‌های گوارشی گونه‌های مورد نظر (Montoya-Martinez et al. 2018) و غربال‌گری منابع نشاسته‌ای جیره غذایی (Cousin et al. 1996) قابل اعتماد هستند.

کپور معمولی از مهم‌ترین ماهیان پرورشی در ایران و جهان است. این ماهی، همه‌چیزخـوار بوده و دارای ویژگی‌های مطلوبی مانند تحمل مقادیر بالایی از مواد اولیه گیاهی در جیره غذایی است (Anwar et al. 2020). هدف از این پژوهش بررسی میزان ترکیبات فنولی و قابلیت هضم برون-تنی میوه بلوط ایرانی (*Quercus brantii*) خیسانده شده در شرایط مختلف در آب معمولی برای مصرف آتی در جیره غذایی کپور معمولی بود.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی و تیماربندی بلوط

پیاله و پوسته خارجی میوه تازه بلوط با چاقو جداسازی شد (طالبیان نیک و علمداری، ۱۳۹۹). مغز بلوط در آون در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت خشک شد. سپس به نسبت وزنی–حجمی ۱ به ۵ در آب معمولی (Khandelwal et al. 2010) به‌مدت ۲۴ ، ۴۸ و ۷۲ ساعت در ۵۰ درجه سانتی‌گراد (Ghaderi-

Ghahfarrokhi et al. 2017) خیسانده شد. فرآیند خیساندن در نوبت اول، بدون تعویض آب و در نوبت دوم، با تعویض آب هر ۱۲ ساعت یک‌بار انجام شد. مجدداً میوه بلوط در ۶۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت خشک شد. بلوط آسیاب و با الک ۲۵۰ میکرون غربال شد. آرد بلوط تا زمان آزمایش در یخچال نگهداری شد. خلاصه توصیفی انواع آرد بلوط در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱ خلاصه توصیفی انواع روش‌های خیساندن (تیمارهای) بلوط.

تیمار	مدت زمان خیساندن (ساعت)	تعویض آب هر۱۲ساعت یک‌بار (+: انجام شد، -: انجام نشد)
۱	۲۴	-
۲	۴۸	-
۳	۷۲	-
۴	۲۴	+
۵	۴۸	+
۶	۷۲	+
شاهد	بدون خیساندن	-

پرورش ماهی و استخراج عصاره آنزیمی

تعداد ۳۰ قطعه ماهی به‌مدت دو هفته در مخزن گرد ۲۵۰ لیتری و با غذادهی روزانه دو بار تا حد سیری پرورش یافتند. از غذای تجاری حاوی ۳۲٪ پروتئین خام استفاده شد. دوره نوری به‌صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و میانگین دمای آب برابر با ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود. تعویض آب مخزن پرورش، هفته‌ای دو بار و هر مرتبه تا ۷۰٪ از حجم مخزن انجام شد. به‌مدت ۲۴ ساعت قبل از تشریح، غذادهی متوقف شد. استحصال آنزیم سه مرتبه تکرار شد (Khan and Ghosh, 2013). برای این منظور تعداد ۱۵ قطعه ماهی در ۳ گروه ۵ تایی به‌طور تصادفی صید شد. اطلاعات زیست‌سنجی ماهیان در جدول ۲ آورده شده است. کل روده ماهیان جداسازی، و درون پتری‌دیش روی یخ قرار داده شد. روده با محلول بافر فسفاتی-نمکی سرد (pH برابر با ۸/۲۶ ، ۰/۱ مولار حاوی ۰/۹٪ کلریدسدیم)، شستشو داده شد. با افزودن بافر، سوسپانسیون آنزیمی ۱۰٪ به کمک هموژنایزر تهیه شد. سوسپانسیون در g ۱۴۰۰۰ به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. مایع رویی جداسازی و تا زمان انجام آزمایش، در ۶۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Khan and Ghosh, 2013). میزان پروتئین طبق روش برد فورد، با معرف کوماسی بلو و آلبومین سرم گاوی به‌عنوان استاندارد در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (Walker, 2002).

جدول ۲ وزن و طول ماهی کپور مورد استفاده برای استحصال آنزیم (میانگین ± خطای استاندارد).

گروه	وزن (گرم)	طول کل (سانتی‌متر)
اول	۸۶/۷۱ ± ۴/۲۳	۱۸/۴۰ ± ۰/۳۲
دوم	۸۶/۴۱ ± ۴/۰۱	۱۸/۲۴ ± ۰/۳۷
سوم	۸۲/۴۰ ± ۱/۷۷	۱۸/۵۰ ± ۰/۱۱

سنجش فعالیت پروتئاز

مقدار ۰/۱میلی‌لیتر عصاره آنزیمی به ۲ میلی‌لیتر سوبسترا (کازئین ۰/۶٪ در بافر فسفاتی-نمکی) افزوده شد. مخلوط به‌مدت ۱ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. سپس ۲ میلی‌لیتر اسیدتری‌کلرواستیک سرد ۱۲٪ به آن اضافه شد تا واکنش متوقف شود و باقیمانده سوبسترا رسوب کند. نمونه با سرعت g ۱۴۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع رویی جداسازی، و جذب نوری در ۲۷۳ نانومتر قرائت شد. برای گروه شاهد نیز قبل از گرمخانه‌گذاری، اسیدتری‌کلرواستیک اسید به سوبسترا

اضافه شد. فعالیت پروتئاز بر اساس فرمول زیر محاسبه شد (Khan and Ghosh, 2013):

زمان (ساعت) / پروتئین در عصاره آنزیمی (میلی‌گرم)/ تیروزین آزاد شده (میکروگرم) = فعالیت پروتئاز

سنجش فعالیت آمیلاز

مقدار ۰/۰۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی به ۰/۹۹ میلی‌لیتر سوبسترا (نشاسته ۱٪ در بافر فسفاتی-نمکی ۰/۱ مولار) افزوده شد. مخلوط به‌مدت ۲۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی-گراد گرمخانه‌گذاری شد. مقدار ۱ میلی‌لیتر معرف دی-نیتروسالیسیلیک‌اسید (DNS ۱٪ در تارترات سدیم پتاسیم ۳۰٪ در سود ۰/۴ نرمال) به آن اضافه و در آب جوش به‌مدت ۵ دقیقه نگه داشته شد. پس از خنک شدن لوله‌ها، شدت رنگ در ۵۴۰ نانومتر قرائت شد. برای گروه شاهد نیز قبل از گرمخانه‌گذاری، اسید دی-نیتروسالیسیلیک به سوبسترا اضافه شد. فعالیت آمیلاز بر اساس فرمول زیر محاسبه شد (Khan and Ghosh, 2013):

زمان (ساعت) / پروتئین در عصاره آنزیمی (میلی‌گرم)/ مالتوز آزاد شده (میلی‌گرم) = فعالیت آمیلاز

آماده‌سازی نمونه‌های بلوط برای هضم در شرایط آزمایشگاهی

به ۲۰۰ میلی‌گرم از هر نمونه آرد بلوط، مقدار ۴۰ میلی-لیتر بافر فسفاتی-نمکی و سپس ۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی افزوده شد. هضم به‌مدت ۶ ساعت در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) بر روی شیکر با شدت ۱۰۰ دور در دقیقه و در تاریکی انجام شد. هر نمونه، ۳ تکرار داشت. قبل از هضم، ۱ میلی لیتر از هر مخلوط به‌عنوان شاهد برای تعیین قابلیت هضم پروتئین و ۱ میلی لیتر هم به‌عنوان شاهد برای تعیین قابلیت هضم کربوهیدرات برداشته شد.

تعیین قابلیت هضم پروتئین

مقدار ۱ میلی‌لیتر شاهد هضم نشده و یا مخلوط هضم شده، با ۱ میلی‌لیتر معرف کادمیوم نین هیدرین مخلوط شد. این مخلوط به‌مدت ۵ دقیقه در ۸۴ درجه سانتی‌گراد گرمخانه-گذاری، و سپس فوری بر روی یخ قرار داده شد. بعد از سانتریفوژ در ۱۴۰۰۰g به‌مدت ۱۰ دقیقه، میزان جذب نوری مایع رویی در ۵۰۷ نانومتر قرائت شد. قابلیت هضم پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد تیروزین و طبق فرمول زیر محاسبه شد (Kattakdad et al. 2018):

نمونه غذایی (میلی‌گرم)/تیروزین آزاد شده (میلی‌گرم) = قابلیت هضم پروتئین

تعیین قابلیت هضم کربوهیدرات

مقدار ۱ میلی‌لیتر شاهد هضم نشده و یا مخلوط هضم شده، با ۱ میلی‌لیتر معرف اسید دی‌نیتروسالیسیلیک ۱٪ مخلوط و به‌مدت ۵ دقیقه در آب جوش حرارت داده شد. بعد از خنک شدن تا دمای اتاق و سپس سانتریفیوژ در ۱۴۰۰۰g به‌مدت ۱۰ دقیقه، میزان جذب نوری مایع رویی در ۵۴۰ نانومتر قرائت شد. قابلیت هضم کربوهیدرات با استفاده از منحنی استاندارد مالتوز و طبق فرمول زیر محاسبه شد (Kattakdad et al. 2018):

نمونه غذایی (میلی‌گرم)/مالتوز آزاد شده (میلی‌گرم) = قابلیت هضم کربوهیدرات

تعیین ترکیبات فنولی، pH آرد بلوط و مخلوط هضم شده

میزان کل ترکیبات فنولی، ترکیبات فنولی غیرتانینی و تانن-های متراکم در نمونه‌های آرد بلوط به روش فولین-سیوکالتئو تعیین شد. در این روش استخراج عصاره تانینی با استون آبی ۷۰٪، اندازه‌گیری کل ترکیبات فنولی و ترکیبات فنولی غیر تانینی در طول موج ۷۲۵ نانومتر و اندازه‌گیری تانن‌های متراکم در طول موج ۵۵۰ نانومتر انجام شد (Makkar, 2000). برای تعیین pH آرد بلوط، یک گرم آرد بلوط در ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد. پس از ۱۰ دقیقه، pH نمونه‌ها به‌وسیله pH متر اندازه‌گیری شد (Chumwaengwapee et al. 2013). اندازه‌گیری

pH مخلوط هضم شده هم بدون تغییر غلظت با pH متر انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری

از داده‌های حاصل از سه تکرار در تمام آزمایش‌ها برای سنجش آماری استفاده شد. در طرح کاملاً تصادفی، تمام محاسبات با نرم افزارهای SPSS نسخه ۲۰ و اکسل نسخه ۲۰۱۳ انجام شد. کنترل نرمال بودن توزیع داده‌ها با آزمون کولموگروف–اسمیرنوف، کنترل همگنی واریانس با آزمون لون و مقایسه متغیرهای مورد مطالعه با آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) انجام شد ($p<۰/۰۵$).

نتایج

شاخص‌های عصاره آنزیمی

شاخص‌های عصاره آنزیمی استحصال شده در جدول ۳ ارائه شده است. از عصاره استحصال شده برای بررسی قابلیت هضم در شرایط برون‌تنی در کلیه تیمارها استفاده شد.

جدول ۳ شاخص‌های عصاره آنزیمی استحصال شده از ماهی کپور (میانگین ± خطای استاندارد).

شاخص	مقدار
پروتئین (میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر عصاره آنزیمی)	۳/۷۱ ± ۰/۱۱
فعالیت آمیلاز (میلی‌گرم مالتوز آزاد شده به ازای هر میلی‌گرم پروتئین در ساعت)	۱۱/۷۱ ± ۰/۵۵
فعالیت پروتئاز (میکروگرم تیروزین آزاد شده به ازای هر میلی‌گرم پروتئین در ساعت)	۹۷/۵۶ ± ۱۶/۱۱

ترکیبات فنولی و pH انواع آرد بلوط

مقادیر ترکیبات فنولی انواع آرد بلوط و pH آنها در جدول ۴ ارائه شده است. خیساندن بلوط در تمام تیمارها منجر به کاهش معنی‌دار کل ترکیبات فنولی، ترکیبات فنولی غیر-تانینی و تانن‌های متراکم شد ($p<۰/۰۵$). در زمان‌های مشابه، تعویض آب اثر معنی‌داری بر کاهش میزان کل ترکیبات فنولی و ترکیبات فنولی غیرتاننی داشت. بیشترین میزان حذف کل ترکیبات فنولی، ترکیبات فنولی غیرتاننی و تانن‌های متراکم در تیمار ۶ مشاهده شد. pH آرد بلوط در تیمار ۶ به‌طور معنی‌دار بیش از شاهد و دیگر تیمارها بود ($p<۰/۰۵$).

جدول ۴ ترکیبات فنولی آرد بلوط بر حسب درصد از ماده خشک و pH آن در شرایط مختلف خیساندن (میانگین ± خطای استاندارد).

تیمار	کل ترکیبات فنولی	ترکیبات فنولی غیر تانننی	تانن‌های متراکم	pH آرد بلوط
۱	$۳/۹۲ \pm ۰/۰۹^{bc}$	$۰/۲۳ \pm ۰/۰۳^{bc}$	$۰/۹۲ \pm ۰/۰۳^{b}$	$۵/۶۶ \pm ۰/۰۳^{c}$
۲	$۳/۵۲ \pm ۰/۰۵^{bcd}$	$۰/۱۹ \pm ۰/۰۲^{c}$	$۰/۵۹ \pm ۰/۰۳^{cd}$	$۵/۷۵ \pm ۰/۰۴^{bc}$
۳	$۳/۱۸ \pm ۰/۰۱^{cde}$	$۰/۲۲ \pm ۰/۰۳^{bc}$	$۰/۵۱ \pm ۰/۰۳^{cd}$	$۵/۶۷ \pm ۰/۰۲^{c}$
۴	$۲/۶۶ \pm ۰/۰۲^{de}$	$۰/۰۹ \pm ۰/۰۰^{e}$	$۰/۳۰ \pm ۰/۰۳^{def}$	$۵/۷۸ \pm ۰/۰۲^{bc}$
۵	$۱/۸۲ \pm ۰/۰۳^{f}$	$۰/۱۲ \pm ۰/۰۱^{d}$	$۰/۴۳ \pm ۰/۰۳^{cde}$	$۵/۸۵ \pm ۰/۰۶^{b}$
۶	$۰/۵۶ \pm ۰/۰۱^{g}$	$۰/۰۳ \pm ۰/۰۱^{f}$	$۰/۱۱ \pm ۰/۰۳^{ef}$	$۶/۰۶ \pm ۰/۰۴^{a}$
شاهد	$۸/۴۱ \pm ۰/۰۶^{a}$	$۰/۷۲ \pm ۰/۰۱^{a}$	$۳/۵۷ \pm ۰/۰۵^{a}$	$۵/۸۵ \pm ۰/۰۳^{b}$

در هر ستون، حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار است ($p>۰/۰۵$).

قابلیت هضم کربوهیدرات و پروتئین بلوط و pH مخلوط هضم شده

نتایج قابلیت هضم کربوهیدرات و پروتئین بلوط و pH مخلوط واکنش پس از هضم در جدول ۵ آورده شده است. به‌طور معنی‌دار قابلیت هضم کربوهیدرات، در تیمار ۲

افزایش و در دیگر تیمارها کاهش یافت ($p<۰/۰۵$). خیساندن بلوط به‌مدت ۲۴ ساعت در آب اثر افزایشی معنی‌دار بر قابلیت هضم پروتئین نداشت، اما افزایش مدت خیساندن به ۴۸ یا ۷۲ ساعت، صرف‌نظر از انجام یا عدم تعویض آب، منجر به افزایش معنی‌دار قابلیت هضم پروتئین شد. قابلیت هضم پروتئین در تیمار ۶ به‌طور معنی‌دار بیش از دیگر تیمارها بود. تعویض آب منجر به افزایش معنی‌دار pH مخلوط واکنش پس از هضم در مقایسه با شاهد شد.

جدول ۵ قابلیت هضم بلوط خیسانده شده در شرایط مختلف و pH مخلوط هضم شده (میانگین ± خطای استاندارد).

تیمار	قابلیت هضم کربوهیدرات بلوط (میکروگرم مالتوز به ازای هر میلی‌گرم نمونه)	قابلیت هضم پروتئین بلوط (میکروگرم تیروزین به ازای هر میلی‌گرم نمونه)	pH مخلوط هضم شده
۱	۱۱۵/۱۳ ± ۰/۹۱^{c}	۳/۹۷ ± ۰/۹۶^{cd}	۷/۹۸ ± ۰/۰۱^{abc}
۲	۱۲۳/۴۷ ± ۰/۶۳^{a}	۷/۲۴ ± ۰/۹۴^{bc}	۷/۹۳ ± ۰/۰۴^{bc}
۳	۹۹/۷۶ ± ۰/۵۷^{d}	۸/۳۳ ± ۱/۲۶^{b}	۷/۹۸ ± ۰/۰۲^{abc}
۴	۱۱۵/۴۳ ± ۰/۹۸^{c}	۵/۷۳ ± ۰/۸۹^{bcd}	۸/۰۰ ± ۰/۰۲^{ab}
۵	۱۱۲/۷۹ ± ۰/۵۱^{c}	۸/۲۱ ± ۱/۵۳^{b}	۸/۰۲ ± ۰/۰۱^{a}
۶	۹۶/۶۳ ± ۱/۳۰^{d}	۱۴/۵۵ ± ۱/۰۹^{a}	۸/۰۳ ± ۰/۰۲^{a}
شاهد	۱۱۹/۰۹ ± ۲/۰۵^{b}	۲/۸۱ ± ۰/۴۵^{d}	۷/۹۱ ± ۰/۰۲^{c}

در هر ستون، حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار است ($p>۰/۰۵$).

بحث

تانن‌ها به‌طور گسترده در بسیاری از گونه‌های گیاهی مورد استفاده در خوراک ماهی وجود دارند، اما تنها در تعداد معدودی از پژوهش‌ها، میزان تانن غذا گزارش شده است (Omnes et al. 2017). در پژوهش حاضر حتی با کمترین مدت خیساندن در آب معمولی (۲۴ ساعت) و بدون تعویض آب در مدت خیساندن، کاهش معنی‌دار کل ترکیبات فنولی، ترکیبات فنولی غیرتانینی و تانن‌های متراکم مشاهده شد، اما افزایش معنی‌دار قابلیت هضم پروتئین در شرایط برون‌تنی پس از ۴۸ ساعت همزمان با حذف بیشتر ترکیبات فنولی به اثبات رسید. در هر حال، بیشترین میزان حذف ترکیبات فنولی و بالاترین قابلیت هضم پروتئین در بیشترین مدت خیساندن (۷۲ ساعت) و با تعویض آب هر ۱۲ ساعت یک‌بار مشاهده شد. اثر مثبت خیساندن دانه‌های گیاهی در آب معمولی بر کاهش میزان ترکیبات فنولی و افزایش قابلیت هضم آن‌ها در تحقیقات دیگر هم به اثبات رسیده است (Mukhopadhyay and Ray, 1999; Grewal and jood, 2006; Khattab and Arntfield, 2009; Khandelwal et al. 2010; Xavier et al. 2012; Chumwaengwapee et al. 2013; Xu et al. 2016). کاهش ترکیبات فنولی را می‌توان به آب‌شویی و ورود آن‌ها به محیط خیساندن تحت تأثیر گرادیان (شیب) غلظت (Saharan et al. 2002) و حساس بودن ترکیبات فنولی به حرارت (Ghaderi-Ghahfarrokhi et al. 2017) نسبت داد.

در پژوهش حاضر به‌طور معنی‌دار قابلیت هضم کربوهیدرات، تنها در تیمار ۲ (خیساندن به‌مدت ۴۸ ساعت و بدون تعویض آب) بیش از شاهد بود، اما در دیگر تیمارها کمتر از شاهد بود. احتمالاً تغییر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی بلوط از جمله pH آن و آب‌شویی مواد مغذی سبب کاهش کارآیی آمیلاز و در نتیجه کاهش قابلیت هضم کربوهیدرات شده است. در تأیید این مطلب، در مطالعه‌ای، خیساندن مواد گیاهی (کنجاله سویا، کیک روغنی آفتابگردان و کیک روغنی نارگیل) به مدت ۲۴ ساعت در آب معمولی و با تعویض آب هر ۶ ساعت یک‌بار سبب کاهش معنی‌دار محتوای تانینی در جیره غذایی از ۰/۶۳٪ به ۰/۳۲٪ شد، اما فعالیت آنزیم‌های آمیلاز، پروتئاز و لیپاز روده‌ای ماهی روهو (*Labeo rohita*) تغذیه شده با جیره حاوی مواد گیاهی خیسانده شده، بهبود نیافت. آب‌شویی مواد مغذی محلول به‌عنوان عامل احتمالی این نتیجه معرفی، و گفته شد که احتمالاً خیساندن طی دوره زمانی کوتاه‌تر سبب کاهش مؤثر محتوای تانینی و پیشگیری از آب‌شویی مواد مغذی می‌شود (Xavier et al. 2012). در آزمایشی دیگر کنجاله نارگیل با نسبت وزنی-حجمی یک به ۱۰ به‌مدت ۱۲ ساعت در آب

مقطر خیسانده شد. خیساندن سبب تغییر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی کنجاله نارگیل و افزایش معنی‌دار قابلیت هضم کربوهیدرات در شرایط برون‌تنی در تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) شد، اما اثر معنی‌داری بر قابلیت هضم کربوهیدرات در شرایط برون‌تنی در بارب نقره‌ای (*Barbonymus gonionotus*) نداشت (Chumwaengwapee et al. 2013).

لازم به ذکر است که نتایج به‌دست آمده از مطالعات برون‌تنی را نباید مستقیماً به شرایط درون بدن موجود زنده تعمیم داد، زیرا عوامل دیگری مانند وجود غذا، pH، جامعه میکروبی لوله گوارش، ترشحات روده و غیره ممکن است بر اثرات مضر تانن موجود در غذا مؤثر باشند (Mandal and Gosh, 2010). در مجموع، به دلیل اهمیت زیاد حذف تانن‌ها از مواد گیاهی و امکان اثرگذاری آن‌ها بر هضم پروتئین (به عنوان گران‌ترین ریزمغذی) در لوله گوارش، خیساندن بلوط به‌مدت ۷۲ ساعت و با تعویض ۱۲ ساعته به‌عنوان بهترین تیمار برای شیرین کردن بلوط با آب معمولی قبل از استفاده در جیره غذایی کپور پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

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

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافعی را در این پژوهش شناسایی نکردند.

منابع

طالبیان نیک، س.س.، علمداری، ح. ۱۳۹۹. افزودن میوه بلوط ایرانی (*Quercus brantii*) به جیره غذایی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) و اثرات آن بر عملکرد رشد، ترکیبات لاشه و مقاومت در برابر تنش شوری. مجله علمی شیلات ایران ۲۹: ۹۱-۸۳.

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.

Becker, K., Makkar, H.P.S. 1999. Effects of dietary tannic acid and quebracho tannin on growth performance and metabolic rates of common carp (*Cyprinus carpio* L.). Aquaculture 175: 327-335.

Chumwaengwapeea, S., Soontornchaia, 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.

Correia, P.R., Nunes, M.C., Beirao-da-Costa, M.L. 2013. The effect of starch isolation method on physical and functional properties of Portuguese nut starches. II. *Q. rotundifolia* Lam. and *Q. suber* Lam. acorns starches. Food Hydrocolloids 30: 448-455.

Cousin, M., Cuzon, G., Guillaume, J., AQUACOP. 1996. Digestibility of starch in *Penaeus vannamei*: in vivo and in vitro study on eight samples of various origin. Aquaculture 140: 361-372.

Francis, G., Makkar, H.P.S., Becker, K. 2001. Effects of Quillaja saponins on growth, metabolism, egg production and muscle cholesterol in individually reared Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Comparative Biochemistry and Physiology 129C: 105-114.

Ghaderi-Ghahfarrokhi, 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.

Grewal, A., Jood, S. 2006. Effect of processing treatment on nutritional and anti-nutritional contents of green gram.

Journal of Food Biochemistry 30: 535-546.

Kattakdad, 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: 1-6.

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: 853-859.

Khandelwal, S., Udipi, S.A., Ghugre, P. 2010. Polyphenols and tannins in Indian pulses: Effect of soaking, germination and pressure cooking. Food Research International 43: 526- 530.

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.

Lewis, M.J., Francis, D.S., Blyth, D., Moyano, F.J., Smullen, R.P., Turchini, G.M., Booth, M.A. 2019. A comparison of in-vivo and in-vitro methods for assessing the digestibility of poultry by-product meals using barramundi (*Lates calcarifer*); impacts of cooking temperature and raw material freshness. Aquaculture 498: 187-200.

Makkar, H.P.S. 2000. Quantification of tannins in tree 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.

Montoya-Martinez, C., Nolasco-Soria, H., Vega-Villasante, F., Carrillo-Farnes, O., Alvarez-Gonzalez, A., Civera-Cerecedo, R. 2018. In vitro protein digestibility of animal, vegetal and microbial feed ingredients for *Macrobrachium tenellum.* Latin American Journal of Aquatic Research 46: 495-501.

Moyano, F.J., Saenz de Rodriganez, M.A., Diaz, M., Tacon, A.G.J. 2014. Application of in vitro digestibility methods in aquaculture: constraints and perspectives. Reviews in Aquaculture 6: 1-20.

Mukhopadhyay, N., Ray, A.K. 1999. Utilization of copra meal in the formulation of compound diets for rohu, *Labeo rohita*, fingerlings. Journal of Applied Ichthyology 15: 127-131.

Omnes, M.H., Goasduff, J.L., Delliou, H.L., Bayon, N.L., Quazuguel, P., RobinIfremer, J.H. 2017. Effects of dietary tannin on growth, feed utilization and digestibility, and carcass composition in juvenile European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.). Aquaculture Reports 6: 21-27.

Padmaja, G., Steincraus, k. h. 1995. Cyanide detoxification in cassava for food and feed uses. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 35: 299-339.

Rakic, S., Povenovic, D., Tesvic, V., Simic, M., Maletic, R. 2006. Oak acorn, polyphenols and antioxidant activity in function food. Journal of Food Engineering 74: 416-423.

Saharan, K., Khetarpaul, N., Bishnoi, S. 2002. Antinutrients and protein digestibility of faba bean and rice bean as affected by soaking, dehulling and germination. Food Science and Technology 39: 418-421.

Walker, J.M., 2002. The Protein Protocols Handbook. University of Hertfordshire, Hatfield, Humana Press Inc., UK. 1173 p.

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.

Xu, Y., Cartier, A., Obielodan, M., Jordan, K., Hairston, T., Shannon, A., Sismour,

E. 2016. 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 10: 625-633.