بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه صنعتی اصفهان
دانشکده کشاورزی

تاثیر دانه های روغنی بر پروتوزوآی شکمبه، تولید شیر، الگوی اسیدهای چرب شیر و تولید اسید لینولئیک مزدوج

رساله دکترای علوم دامی

امید دیانی

استادان راهنما

دکتر غلامرضا قربانی

دکتر مسعود علیخانی

۱۳۸۲

۱۳۲۷۶۱

بسمه تعالی

جمهوری اسلامی ایران

دانشگاه صنعتی اصفهان

تاریخ ۸۳/۳/۲۲

شماره ۲۰/ت/۴۶۲

پیوست

مرکز تحصیلات تکمیلی

محترماً،

به پیوست اصل پایان نامه خانم/آقای امید رضایی مشتمل برکلیه موارد پیش‌بینی شده در "دستورالعمل تهیه پایان نامه کارشناسی ارشد" جهت تائید ارسال می‌گردد.

دکتری

مسئول تحصیلات تکمیلی دانشکده

دکتری

○ پایان نامه کارشناسی ارشد فوق‌الذکر مورد بررسی قرارگرفت. نکتیراین پایان نامه و صحافی آن منطبق با الگوی مبنابلامانع است.

○ پایان نامه کارشناسی ارشد فوق الذکرمورد بررسی قرارگرفت و موارد زیر غیر منطبق باالگوی مبنا تشخیص داده شد. تأییدنهائی منوط به برطرف نمودن این موارد است.

۱-

۲-

۳-

مرکزتحصیلات تکمیلی

تایپ پایان‌نامه فوق درتاریخ ۸۳/۳/۲۴ مورد تأیید نهایی قرارگرفت. نکتیر و صحافی آن بلامانع است.

مرکز تحصیلات تکمیلی

۸۳/۳/۲۴

دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده کشاورزی

رساله دکترای علوم دامی آقای امید دیانی

تحت عنوان

تاثیر دانه های روغنی بر پروتوزوآی شکمبه، تولید شیر، الگوی اسیدهای چرب شیر و تولید اسید لینولئیک مزدوج

در تاریخ ۱۳۸۲/۱۲/۱۶ توسط کمیته تخصصی زیر مورد بررسی و اصالت صحت مطالب رساله مورد تائید قرار گرفت.

۱- استاد راهنمای رساله	دکتر غلامرضا قربانی
۲- استاد راهنمای رساله	دکتر مسعود علیخانی
۳- استاد مشاور	دکتر حمید رضا رحمانی
٤- استاد مشاور	دکتر غلامحسین سمیع
٥- استاد داور	دکتر جواد ضمیری
٦- استاد داور	دکتر محمد ابراهیم روغنی
۷- استاد داور	دکتر جواد کرامت
۸- استاد داور	دکتر قدرت الله سعیدی

سرپرست تحصیلات تکمیلی دانشکده **دکتر آقافخر میرلوحی**

تشکر و قدردانی

سپاس و ستایش خداوند بی همتا را که توفیق کسب علم و معرفت به من عنایت کرد. پروردگار بزرگ را شاکرم که به من سزاواری شاگردی اساتید بزرگی را در طول زندگی‌ام عطا فرمود. از اساتید راهنمای بزرگوارم آقایان دکتر غلامرضا قربانی و دکتر مسعود علیخانی بسیار سپاسگزارم که علاوه بر راهنمایی علمی رساله به این حقیر درس اخلاق و زندگی داده‌اند. از آقایان دکتر حمید رضا رحمانی و دکتر سمیع به خاطر قبول زحمت مشاورت این رساله تشکر می‌کنم. از دکتر جواد ضمیری، دکتر محمد ابراهیم روغنی، دکتر جواد کرامت، دکتر قدرت الله سعیدی و دکتر اسلامیان که قبول زحمت داوری این رساله را پذیرفتند، صمیمانه سپاسگزارم. در طول تحصیل از محضر اساتید بزرگوار دکتر جواد پوررضا، دکتر ادریس، مهندس حسین موثق، دکتر محمد علیپور، مهندس محمد خوروش استفاده علمی و اخلاقی برده‌ام، که صمیمانه تشکر می‌کنم. در طول ۹ ماه فرصت مطالعاتی بین دوره که اینجانب بخشی از رساله خود را در گروه علوم دامی، مرکز تحقیقات کانادا انجام دادم، از محضر سرکار خانم دکتر پریا میر و دکتر زهیر میر استفاده علمی برده که بدین وسیله از ایشان کمال تشکر را دارم. از کارکنان گروه این مرکز که در کارهای آزمایشگاهی و شخصی اینجانب در کانادا بسیار مساعدت نمودند، صمیمانه متشکرم.

از همسر فداکار و فرزند مهربانم که در راه زندگی و علم راه‌گشا و مشوق من بوده‌اند سپاسگزارم و کمال تشکر را دارم. از خواهر، برادرانم و خانواده همسرم نیز که همواره سبب دلگرمی ام شده اند، سپاسگزارم.

یاد و خاطره دوستی و همفکری با دوستان خوبم: سرکار خانم مهندس شیرمحمد، و آقایان صدری، رنجبری، عبدی، جمشیدی، فروزمند، اسدی، صادقی، افشارمنش، جعفری، پیشنمازی،حیدری، زینلی، وبسیاری دوستان دیگر که ذکرنامشان در این نوشته کوتاه نمی‌گنجد همیشه همراه این رساله خواهد بود.

از سرکار خانم اصلانی به خاطر تلاش و حمایت های بی دریغشان صمیمانه سپاسگزارم. از مسئول سایت کامپیوتر دانشجویان دکتری، آقای مهندس کجانی که در امور مربوطه کمک نمودند، تشکر می کنم.

از پرسنل آزمایشگاه علوم دامی، دانشگاه صنعتی اصفهان آقای مهندس وافی، آقای مهندس خشوئی، آقای مهندس موسوی، آقای مهندس صادقی، آقایان اسماعیلی و اکبر عباسی که در انجام برخی آزمایشات کمک نمودند، سپاسگزارم. از پرسنل مزرعه لورک دانشگاه صنعتی اصفهان به خاطر همکاری در انجام آزمایشات مزرعه‌ای کمال امتنان دارم.

امید دیانی

اسفند ۱۳۸۲

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات و نوآوری‌های ناشی از تحقیق موضوع این رساله متعلق به دانشگاه صنعتی اصفهان است

بخشی از هزینه اجرای این تحقیق از سوی سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی تأمین و پرداخت گردیده است که بدین وسیله تشکر و قدردانی می‌گردد

تقدیم به پدر، مادر و برادرم که
روحشان شاد باد

تقدیم به همسر فداکار و دختر
نازنینم رومینا

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فهرست مطالب ..... نه

فهرست شکل‌ها ..... دوازده

فهرست جداول ..... سیزده

چکیده ۱

فصل اول: مقدمه

فصل دوم: بررسی منابع

۲-۱- اسید لینولئیک مزدوج ۴

۲-۱-۱- کشف (شناسایی) اسید لینولئیک مزدوج ۴

۲-۱-۲- ساختمان اسید لینولئیک مزدوج ۵

۲-۱-۳- شناسایی خصوصیات اسیدهای چرب مزدوج ۷

۲-۱-٤- فعالیتهای بیولوژیکی اسید لینولئیک مزدوج ۸

فعالیت ضد سرطانی ۸

فعالیت ضد تصلب شرائین ۹

اثر اسید لینولئیک مزدوج بر سیستم ایمنی ۱۰

تاثیر اسید لینولئیک مزدوج بر ترکیب بدن ۱۱

تاثیر اسید لینولئیک مزدوج بر استخوان سازی ۱۲

اثر ضد دیابتی اسید لینولئیک مزدوج ۱٤

۲-۱-۵- منابع اسید لینولئیک مزدوج ۱۵

۲-۱-٦- عوامل موثر بر غلظت اسید لینولئیک مزدوج ۱۷

گونه ۱۷

سن و وضعیت ژنتیکی گاوها ۱۸

تاثیر رژیم غذایی ۱۸

- اسیدهای چرب ۱۸

- ماده غذایی و ترکیب جیره ۲۰

تاثیر فصل و مدیریت گاوداری ۲۱

تاثیر یونوفرها ۲۲

۲-۱-۷- بیوسنتز اسید لینولئیک مزدوج ۲٤

سنتز اسید لینولئیک مزدوج در شکمبه ۲۵

سنتز اسید لینولئیک مزدوج در بافت ۲۷
۲-۲- پروتوزوآ شکمبه ۲۹
۲-۲-۱- پروتوزوآ ۲۹
Holotrichs ۲۹
Entodiniomorphs ۳۰
۲-۲-۲- نقش پروتوزوآ در شکمبه ۳۰
۲-۲-۳- راههای انتقال پروتوزوآ به شکمبه ۳۱
۲-۲-٤- عوامل موثر بر کاهش تعداد پروتوزوآ ۳۱
۲-۲-٥- پروتوزوآزدایی و اثرات آن ۳۱

فصل سوم: مواد و روشها
آزمایش ۱: آزمایش *in vitro* ۳٦
آزمایش ۲: آزمایش *in vivo* با گوسفند ۳۷
آزمایش ۳: تغذیه جیره های آزمایشی دارای پنبه دانه به گاوهای شیرده ٤۲
آزمایش ٤: تغذیه مقایسه ای دانه آفتابگردان و سویا در گاوهای شیرده ٤٥

فصل چهارم: نتایج و بحث
آزمایش ۱: آزمایش *in vitro* ٥۰
جیره های آزمایشی دارای پنبه دانه ٥۰
جیره های آزمایشی دارای دانه سویا یا آفتابگردان ٥٤
آزمایش ۲: آزمایش *in vivo* با گوسفند ٥۷
آزمایش ۳: تغذیه جیره های آزمایشی دارای پنبه دانه به گاوهای شیرده ٦٥
مصرف ماده خشک و قابلیت هضم ٦٥
تولید و ترکیب شیر ٦۷
ترکیب اسیدهای چرب شیر ۷۳
اسیدیته مدفوع و ادرار ۸۰
آزمایش ۴: تغذیه مقایسه ای دانه آفتابگردان و سویا در گاوهای شیرده ۸۱
مصرف ماده خشک ۸۲
تولید و ترکیبات شیر ۸٥
تعادل انرژی ۸۷
ترکیب اسیدهای چرب شیر ۸۷
هورمونهای خون ۹٥

نمره وضعیت بدنی و وزن بدن ۹۶
نتیجه گیری و پیشنهادات ۹۸
منابع علمی مورد استفاده ۹۹
چکیده انگلیسی II

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

۲-۱- ساختمان اسید لینولئیک و اسید لینولئیک مزدوج [۱۸٦]. ٦

۲-۲- مکانیسم های فرضی برای اعمال اسیدهای لینولئیک مزدوج بر تولید پروستاگلاندین E2 و متابولیسم استخوان [۱۰۲] . ۱۳

۲-۳ - سطوح مقایسه ای اسید لینولئیک مزدوج شیر در پستانداران [۸۳]..... ۱۷

۲-٤- مقدار اسید لینولئیک مزدوج چربی شیر نشخوارکنندگان در فصل های مختلف [۸۳]..... ۲۲

۲-٥- استراتژیهایی برای افزایش مقدار اسید لینولئیک مزدوج شیر [٥۱]..... ۲٥

۲-٦- راههای هیدروژناسیون اسیدهای چرب ۱۸ کربنه غیر اشباع [٦۰]. ۲٦

۲-۷- راههای بیوهیدروژناسیون شکمبه ای اسیدهای چرب ۱۸ کربنه غیر اشباع درگیر در ایزومرهای ۹-سیس، ۱۰-ترانس [٦۰]. ۲٦

۲-۸- راههای بیوسنتز اسید لینولئیک مزدوج [۱۸٦]..... ۲۸

٤-۱- تاثیر جیره های آزمایشی بر غلظت پروتوزوآی مژکدار در مایع شکمبه گوسفند ٥۷

٤-۲- تاثیر جیره های آزمایشی بر اسیدیته مایع شکمبه درگوسفند..... ٦۱

٤-۳- تاثیر جیره های آزمایشی بر غلظت نیتروژن آمونیاکی در مایع شکمبه گوسفند..... ٦۲

٤-٤- میانگین حداقل مربعات (±SE) مصرف ماده خشک جیرههای دانه سویا و پلت آفتابگردان در طول دوره آزمایش..... ۸٥

٤-٥- میانگین حداقل مربعات (±SE) تولید اسید لینولئیک مزدوج (گرم در روز) برای جیره های دانه سویا و پلت آفتابگردان در طول دوره آزمایش..... ۹۳

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول۲-۱- غلظت‌های نسبی اسید لینولئیک مزدوج در غذاهای پخته نشده [۲۵]..... ۱۶

جدول۳-۱- اجزا و ترکیب شیمیایی جیره ها (براساس درصد ماده خشک)..... ۳۹

جدول۳-۲- ترکیب اسیدهای چرب جیره ها، علوفه و پنبه دانه... ..... ۴۱

جدول۳-۳- اجزا و ترکیب شیمیایی جیره ها (براساس درصد ماده خشک)..... ۴۶

جدول۳-۴- ترکیب اسیدهای چرب جیره ها، علوفه ، دانه سویا و پلت آفتا بگردان..... ۴۸

جدول۴-۱- درصد ناپدید شدن ماده خشک و کینتیک تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی ۵۲

جدول۴-۲-مقدار اسیدهای چرب فرار (درصد مولاری) و کل اسید های چرب فرار(میلی مولار) جیره های آزمایشی پس از ۲۴ و ۷۲ ساعت انکوباسیون در شرایط *in vitro*..... ۵۳

جدول۴-۳- درصد ناپدید شدن ماده خشک و کینتیک تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی جیره های دارای دانه سویا یا پلت آفتابگردان..... ۵۴

جدول۴-۴- مقدار اسیدهای چرب فرار (درصد مولاری) و کل اسید های چرب فرار(میلی مولار) جیره های آزمایشی پس از ۲۴ و ۷۲ ساعت انکوباسیون در شرایط *in vitro*..... ۵۶

جدول۴-۵-تاثیر جیره های آزمایشی بر غلظت ($\times 10^3$ ml^{-1}) گونه های پروتوزوآی مژکدار *Entodinium* sp., (Holotrichs and Cellulolytic) در مایع شکمبه گوسفندان..... ۵۹

جدول۴-۶- تاثیر جیره های آزمایشی بر غلظت نیتروژن آمونیاکی، اسیدیته، غلظت و نسبت مولاری اسیدهای چرب فرار در مایع شکمبه گوسفند..... ۶۴

جدول۴-۷- میانگین مصرف ماده خشک، تولید و ترکیب شیر و راندمان تولید شیر تصحیح شده در جیره های آزمایشی... ۷۳

جدول۴-۸- ترکیب اسیدهای چرب چربی شیر گاوهای تغذیه شده با جیره های آزمایشی دارای پنبه دانه (گرم در هر ۱۰۰ گرم اسید چرب)..... ۷۹

جدول ۴-۹- میانگین قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و ماده آلی، و مقدار اسیدیته مدفوع و ادرار در جیره های آزمایشی.. ۸۱

جدول ۴-۱۰- میانگین مصرف ماده خشک، تولید و ترکیب شیر و شمارش سلول سوماتیک برای گاوهای تغذیه شده با جیره استاندارد ۸۳

جدول ۴-۱۱- میانگین مصرف ماده خشک، تولید و ترکیب شیر، و شمارش سلول های سوماتیک شیر گاوهای تغذیه شده با جیره های دانه سویا یا پلت آفتابگردان..... ۸۴

جدول ۴-۱۲- تاثیر جیره های دارای دانه سویا و یا پلت آفتابگردان بر تعادل انرژی. ۸۸

جدول ۴-۱۳- ترکیب اسیدهای چرب چربی شیر گاوهای تغذیه شده با جیره استاندارد، یا جیره های دارای دانه سویا یا پلت آفتابگردان (گرم در هر ۱۰۰ گرم اسید چرب)..... ۹۰

جدول ۴-۱۴- غلظت کوله سیستوکینین و انسولین در گاوهای تغذیه شده با جیره های دارای دانه سویا یا پلت آفتابگردان... ۹۶

جدول ۴-۱۵- وزن بدن و نمره وضعیت بدنی گاوهای تغذیه شده با جیره های حاوی دانه سویا یا پلت آفتابگردان..... ۹۷

چکیده

اهداف اصلی این طرح بررسی تأثیر پنبه دانه کامل و سطح پروتئین خام جیره بر کاهش جمعیت پروتوزوآ شکمبه و کاهش نیاز به مکمل‌های پروتئینی و همچنین ارزیابی تاثیر تغذیه دانه های روغنی بر تولید و کیفیت چربی شیر به ویژه اسید لینولئیک مزدوج در شیر گاو بود. در این مطالعه، آزمایش های *in vitro* و *in vivo* برای بررسی تاثیر پنبه دانه کامل و سطح پروتئین خام جیره بر جمعیت پروتوزوآ و پارامترهای تخمیری انجام شد. جیره های آزمایشی عبارت بودند از: ۱) جیره شاهد (بدون پنبه دانه) و دارای ۱۶ درصد پروتئین خام، ۲) دارای ۲۰ درصد پنبه دانه سالم و ۱۶ درصد پروتئین خام، ۳) دارای ۲۰ درصد پنبه دانه سالم و ۱۳ درصد پروتئین خام و ٤) دارای ۲۰ درصد پنبه دانه خرد شده و ۱۳ درصد پروتئین خام. درصد ناپدید شدن ماده خشک، تولید گاز و اسیدهای چرب فرار جیره های آزمایشی در مطالعه *in vitro* اندازه گیری شدند. در مطالعه *in vivo*، ۱۶ گوسفند نابینی در قالب یک طرح کاملاً تصادفی و برای ۲۸ روز جیره های آزمایشی را دریافت کردند. مایع شکمبه با روش rumenocentesis (۳ ساعت بعد از تغذیه) در روزهای ۱، ۳، ۵، ۷، ۹، ۱۱، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ از گوسفندان تغذیه شده با جیره ها جمع آوری شد. pH و شمارش پروتوزوآ بر روی هر نمونه مایع شکمبه تخمین زده شد. غلظت نیتروژن آمونیاکی و اسیدهای چرب فرار فقط در نمونه های گرفته شده در روزهای ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ تعیین شد. در شرایط *in vitro*، پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، پنبه دانه کامل نسبت مولاری اسیدهای چرب فرار استیک و پروپیونیک را کاهش داد. کاهش درصد پروتئین خام باعث افزایش درصد مولاری اسید بوتیریک شد. در آزمایش *in vivo*، تغذیه پنبه دانه کامل جمعیت پروتوزوآی شکمبه را از 5×10^{5} به $2/5\times10^{5}$ در میلی لیتر مایع شکمبه گوسفند کاهش داد. از طرفی، گونه های *Holotrich* و *Cellulolytic* از شکمبه حذف شدند و فقط گونه *Entodinium sp.* باقی ماند. این تغییرات، با کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه همراه بود. تاثیر دانه های آفتابگردان و سویا بر پارامترهای تخمیری نیز در آزمایش *in vitro*، ارزیابی شد. جیره های این آزمایش عبارت بودند از: ۱) استاندارد ۲) دانه سویای خرد شده و ۳) دانه آفتابگردان (به شکل پلت یونجه، ۱۸ درصد دانه آفتابگردان و ۸۲ درصد علوفه یونجه). در شرایط *in vitro*، پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، غلظت کل اسیدهای چرب فرار برای جیره دانه سویا نسبت به جیره پلت آفتابگردان بیشتر بود. برای بررسی اثر دانه های روغنی و سطح پروتئین خام جیره بر تولید شیر، الگوی اسیدهای چرب و تولید اسید لینولئیک مزدوج شیر، گاوهای شیرده با جیره های آزمایشی تغذیه شدند. در آزمایش تغذیه جیره های دارای پنبه دانه کامل به گاوهای شیرده، ۸ گاو هلشتاین چند شکم زایش در اواسط شیردهی در یک طرح مربع لاتین ۴×۴ با دو تکرار و دوره های آزمایشی ۲۱ روزه بکارگرفته شد. تغذیه پنبه دانه کامل به گاوهای شیرده باعث افزایش مصرف ماده خشک، تولید شیر تصحیح شده بر اساس چربی، درصد و تولید چربی شیر ، درصد اسیدهای چرب زنجیره بلند، غیر اشباع و نسبت غیر اشباع به اشباع چربی شیر و باعث کاهش درصد پروتئین و لاکتوز شیر و قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و ماده آلی شد. آسیاب کردن پنبه دانه، غلظت و تولید اسید لینولئیک مزدوج چربی شیر را افزایش داد. کاهش درصد پروتئین خام جیره های دارای پنبه دانه موجب کاهش تولید و ترکیبات شیر و هم چنین قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و ماده آلی گردید. در آزمایش مقایسه ای دانه سویا و دانه آفتابگردان، ۸ گاو هلشتاین چند شکم زایش در اواسط شیردهی در یک طرح آزمایشی cross-over برای دو جیره آزمایشی و دو دوره آزمایشی ۲۱ روزه تقسیم بندی شدند. در این آزمایش، با وجود مصرف ماده خشک کمتر برای گاوهای تغذیه شده با جیره پلت آفتابگردان، تولید شیر واقعی، شیر تصحیح شده بر اساس چربی و ترکیبات آن نسبت به گاوهای تغذیه شده با جیره دانه سویا، یکسان بود. غلظت بیشتر اسید لینولئیک مزدوج (۷/۲۸ در مقابل ۴/۰۵ میلی گرم در هر گرم چربی) در چربی شیر باعث افزایش ۸۰ درصدی تولید اسید لینولئیک مزدوج در شیر گاوهای تغذیه شده با جیره پلت آفتابگردان در مقایسه با گاوهای تغذیه شده با جیره دانه سویا شد. با توجه به این یافته ها، می توان نتیجه گرفت که استفاده از دانه های روغنی، تولید و کیفیت اسیدهای چرب شیر به ویژه اسید لینولئیک مزدوج شیر را بهبود می بخشد.

فصل اول

مقدمه و هدف

۱-۱- مقدمه

اسید لینولئیک مزدوج[1] در شکـــــمبه توسط باکتری *Butyrivibrio fibrosolvens* از اسید لینولئیک ساخته می‌شود و متابولیت حدواسط در بیوهیدروژناسیون اسید لینولئیک است [۹۳]. نشان داده شده که اسید لینولئیک مزدوج دارای خاصیت ضدسرطانی، مخصوصاً در مهار تومورهای سینه و خاصیت آنتی اکسیدانی، ضد دیابت، اثر بر سیستم ایمنی، تغییر ترکیب بدن، ضد تصلب شرائین و محرک تشکیل استخوان است[۱۱٤ و ۱۸٦]. به علت اثرات سودمند حاصل از مصرف این اسید چرب، تحقیقات زیادی برای افزایش مقدار آن در شیر و گوشت انجام شده است. کلی و همکاران [۹۱] گزارش کردند که تغذیه گاوهای شیری با روغن دارای اسید لینولئیک بالا (روغن آفتابگردان)، غلظت اسید لینولئیک مزدوج چربی شیر را تا ۲٤/٤ میلی‌گرم در هر گرم چربی شیر افزایش داد درحالی که تغذیه روغن‌های دارای اسید اولئیک و اسید لینولنیک بالا،

1- Conjugated Linoleic acid

اسید لینولئیک مزدوج را به ترتیب ۱۳/۳ و ۱۶/۷ میلی‌گرم در هر گرم چربی شیر، افزایش داد. استانتون و همکاران[۱۶٤] دریافتند که اضافه کردن دانه کلزا در مقایسه با گروه شاهد، مقدار اسید لینولئیک مزدوج شیر را تا ٦٥ درصد افزایش داد. روغن کانولا نیز اسید لینولئیک مزدوج را در شیر بزها افزایش داد [۱۲۱]. اما نکته قابل ذکر این است که استفاده از روغن‌های گیاهی در جیره نشخوارکنندگان خیلی گران است و از نظر اقتصادی قابل توجیه نیست. روش دیگر استفاده از دانه‌های روغنی روغن‌گیری نشده به صورت سالم یا خرد شده است. روغن پنبه دانه از نظر اسید لینولئیک غنی است و پنبه دانه می‌تواند به عنوان یک مکمل برای افزایش اسید لینولئیک مزدوج شیر استفاده شود. تغذیه پنبه دانه علاوه بر اینکه ممکن است بر مقدار اسید لینولئیک مزدوج شیر مؤثر باشد ممکن است بر جمعیت پروتوزوآ شکمبه اثر گذاشته و جمعیت آنها را در شکمبه کاهش دهد، و کاهش جمعیت پروتوزوآ در شکمبه می‌تواند از جهاتی برای محیط زیست و حیوان میزبان مفید باشد.

پروتوزوآهای مژکدار، باکتری‌های شکمبه را مصرف و هضم می‌کنند و با بازیافت نیتروژن و تولید متان (حدود ۲۵ درصد) در شکمبه، در هدر رفتن انرژی و نیتروژن نقش دارند. نیتروژن و متان از آلوده کنندگان محیط هستند، تخمین زده شده است که نشخوارکنندگان سالانه ۷۷/۰۰۰/۰۰۰/ تن متان در جهان تولید می‌کنند که ۳۰-۱۲ درصد از کل متان تولیدی مربوط به حیوانات اهلی بوده و ۹۷ درصد از متان تولیدی توسط حیوانات اهلی، مربوط به نشخوارکنندگان است بطوریکه ۷۵ درصد از این مقدار را گاو تولید می‌کند [۱۱۱].

پروتوزوآ فراهمی اسیدهای آمینه خالص را برای جذب از روده نشخوارکنندگان، حدود ۲۸-۲۰ درصد کاهش می‌دهند [۷۹]. اگر عملکرد حیوان به علت قابلیت دسترسی اسیدهای آمینه برای جذب محدود شود حذف کامل پروتوزوآ از شکمبه مورد توجه است. در حال حاضر ماده خاصی برای پروتوزوآ زدایی بطور تجاری در دسترس نیست که تحت شرایط عملی مورد استفاده قرار گیرد. به هر حال پروتوزوآ زدایی جزیی، تولید شیر را به مقدار ۱۳/۵ درصد و نسبت پروتئین به چربی شیر را به مقدار ۱۳/۳ درصد افزایش داده است [۱۰۰]. پس انتظار می‌رود که کاهش پروتوزوآ برای میزان تولید و کیفیت شیر مفید باشد. روغن آفتابگردان حاوی اسیدهای چرب اولئیک و لینولئیک (حدود ۹۵ درصد از کل) است که در پروتوزوآ زدایی مؤثر هستند. اضافه کردن روغن دانه آفتابگردان (٦ درصد ماده خشک) به جیره گوسفند، تعداد

پروتوزوآ شکمبه را در مدت ۵ روز تقریباً از ۱×۱۰^{۶} به کمتر از ۳×۱۰^{۵} در میلی‌لیتر شیرابه شکمبه کاهش داد [۷٤]. بنابراین به نظر می‌رسد که روغن دانه آفتابگردان توانایی کاهش جمعیت پروتوزوآئی را در نشخوارکنندگان داشته باشد و درنتیجه، باعث افزایش راندمان استفاده از پروتئین جیره‌ای شود.

اهداف اصلی این طرح بررسی تأثیر پنبه دانه بر کاهش غلظت پروتوزوآ شکمبه در گوسفند و کاهش نیاز به مکمل‌های پروتئینی و همچنین بهبود کیفیت شیر و افزایش غلظت اسید لینولئیک مزدوج در چربی شیر گاو بود. همچنین مقایسه دانه آفتابگردان و دانه سویا بر پروفیل اسیدهای چرب شیر و بررسی روند تغییرات تولید اسید لینولئیک مزدوج در چربی شیر از دیگر اهداف این طرح است. از آزمایشهای *in vitro* برای بررسی تأثیر پنبه دانه، دانه آفتابگردان و دانه سویا بر تخمیر شکمبه، تولید گاز و اسیدهای چرب فرار و اسید لاکتیک استفاده شد، درحالی که از گوسفند در آزمایش *in vivo* برای تعیین اثر پنبه دانه بر جمعیت پروتوزوآیی شکمبه، pH شکمبه، غلظت نیتروژن آمونیاکی و غلظت اسیدهای چرب فرار شکمبه استفاده شد. درنهایت دو آزمایش تغذیه‌ای با گاوهای شیرده انجام شد یکی برای بررسی اثر پنبه دانه بر کاهش نیاز پروتئینی برای تولید شیر درنتیجه کاهش جمعیت پروتوزوآ و افزایش کیفیت شیر و دیگری با گاوهای شیرده، برای بررسی تأثیر دانه آفتابگردان و دانه سویا بر ترکیب اسیدهای چرب شیر و روند تغییرات تولید اسید لینولئیک مزدوج در چربی شیر در دوره‌های ۲۱ روزه.

فصل دوم

بررسی منابع

۲-۱- اسید لینولئیک مزدوج

۲-۱-۱- کشف (شناسایی) اسید لینولئیک مزدوج

در سال ۱۹۳۲ دانشمندان مؤسسه تحقیقات بین‌المللی در دانشگاه ریدینگ با همکاری آزمایشگاه تغذیه دان (Dunn) در دانشگاه کمبریج یک مطالعه را برای بررسی تغییرات فصلی در مقدار ویتامین های شیر شروع کردند. مقدار ویتامین A با اندازه‌گیری شدت رنگ آبی تولید شده در نمونه با تری کلراید آنتیموان در محلول کلروفرم، تخمین زده شد (واکنش Carr-Price). آنها دریافتند که چربی کره رنگ آبی واکنش Carr-Price را مهار کرد و این تأثیر مهارکنندگی، در کره تابستانی (هنگامی که گاوها با علوفه تازه تغذیه شدند) نسبت به کره زمستانی بیشتر بود. در ادامه این مطالعه، این گروه بیان کردند که اسیدهای چرب آزاد موجود در کره تابستانی در مقایسه با کره زمستانی جذب اسپکتروفتومتری قوی‌تری در طول موج ۲۳۰ نانومتر دارند و نیز هنگامی که با ماده تری کلراید آنتیموان ترکیب می‌شوند رنگ قهوه‌ای سریع‌تری تشکیل می‌دهند [۱۸۶].

در سال ۱۹۳۵ بوت و همکاران [به نقل از ۱۸۶] گزارش کردند که اسیدهای چرب به دست آمده از چربی کره در طول موج ۲۳۰ نانومتر جذب اسپکتروفتومتری دارند به عبارت دیگر، ترکیبات غیراشباع اصلی چربی کره مانند اسیدهای چرب اولئیک و لینولئیک که به روش مشابهی آماده شده بودند هیچ جذب نوری در طول موج ۲۳۰ نانومتر از خود نشان ندادند. هنگامی که گاوها در تابستان با علوفه تازه تغذیه شدند در مقایسه با زمستان، اسیدهای چرب شیر، جذب نوری بیشتری را در طول موج ۲۳۰ نانومتر داشتند. اگرچه ماهیت اسید چرب مسئول در جذب نوری ۲۳۰ نانومتر ناشناخته بود اما، این نخستین گزارش در پراکنش فصلی در مقدار اسید لینولئیک مزدوج چربی شیر بود. در همان سال این گروه مخلوطی از اسیدهای چرب روغن کبد ماهی کاد، روغن ساردین، روغن کانولا و روغن بزرک را تهیه کردند و نشان دادند که این مخلوط جذب نوری کمی در طول موج ۲۳۰ نانومتر داشت. اما هنگامی که گاو با این روغن‌ها تغذیه شدند، اسیدهای چرب شیر آنها جذب نوری بیشتری در طول موج ۲۳۰ نانومتر داشتند. این، اولین مطالعه‌ای بود که نشان داد مقدار اسید لینولئیک مزدوج چربی شیر می‌تواند با دستکاری جیره افزایش یابد [۱۸۶].

در دهه ۱۹۸۰، میشل پاریزا [۱۴۰] در دانشگاه ویسکانزین دریافت که یک ماده جداسازی شده از گوشت کباب شده گوساله می‌تواند سرطان را مهار کند. این ماده ضدسرطانی از ایزومرهای اسید اوکتادیکانوئیک مزدوج تشکیل شده که دارای دوباند دوگانه هستند و با یک باند ساده کربن – کربن به جای گروه متیل، جدا شده‌اند. درکل، به این ایزومرها، اسید لینولئیک مزدوج گفته می‌شود.

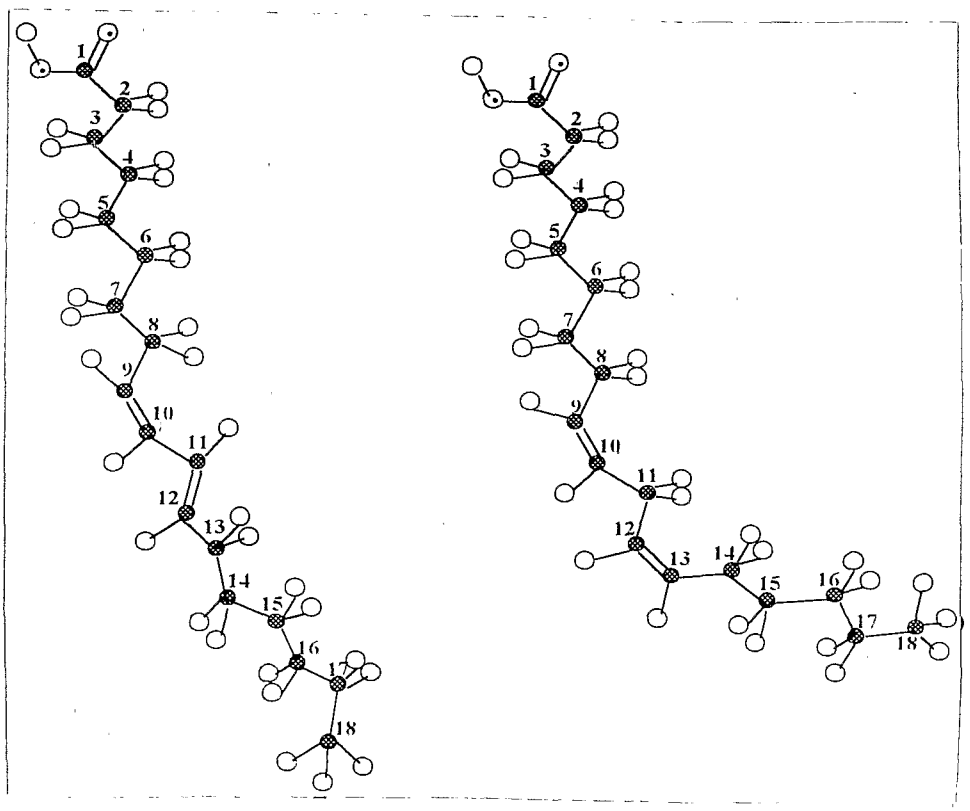
۲-۱-۲- ساختمان اسید لینولئیک مزدوج

اسید چرب مزدوج یک اصطلاح کلی است که در برگیرنده اسیدهای اوکتادیکادینوئیک (18:2) سنتز شده با یک باند دوگانه مزدوج است. ایزومر اصلی اسید چرب مزدوج در چربی شیر اسید ۹-سیس، ۱۱ -ترانس اوکتادیکادینوئیک است که به عنوان ایزومر اصلی اسید چرب مزدوج در تمام محصولات لبنی و گوشت نشخوارکنندگان شناخته شده است [۲۲] (شکل ۲-۱). اخیراً برای این اسید نام اسید شکمبه یا Rumenic acid پیشنهاد شده است [۱۴۳].

دامنه اسیدهای چرب مزدوج از 18:2-8 , 6 تا 18:2-14 , 12 می‌باشد که یا بصورت طبیعی از محصولات لبنی و یا بصورت صنعتی از ایزومراسیون قلیایی اسید لینولئیک (9cis, 12cis-18:2) بدست می آید و به غلط اصطلاح اسید لینولئیک مزدوج نامگذاری گردیده است، چون تعدادی از این اسیدهای چرب مزدوج در شرایط بیولوژیکی (در شکمبه) یا در شرایط شیمیایی (ایزومراسیون قلیایی) از اسید

لینولئیک مشتق نشده‌اند. برای هر ایزومر طبیعی اسید چرب مزدوج، چهار جفت ایزومر هندسی وجود دارد، ترانس – ترانس، سیس – ترانس، ترانس – سیس، و سیس – سیس [١٥٦].

در محصولات طبیعی، این اسیدهای چرب مزدوج بهمراه اسیدهای چرب دیگر دارای طول زنجیره و تعداد ایزومرهای هندسی و وضعیتی باندهای دوگانه متفاوت بعلاوه گروههای فعال اکسیژن، نیتروژن و شاخه جانبی یافت می‌شوند. در چربی شیر بیش از ٤٠٠ نوع اسید چرب متفاوت وجود دارد [٨٧]. این کمپلکس مخلوط اسیدهای چرب، نقش‌های متفاوتی را بازی می‌کنند: تعدادی از این اسیدهای چرب به عنوان منبع انرژی برای نوزادان و تعدادی بعنوان اسیدهای چرب ضروری عمل می‌کنند. دیگر اسیدهای چرب ممکن است دارای اثرات مفیدی در جلوگیری از سرطان، تصلب شرائین و دیابت و یا تحریک سیستم ایمنی و کاهش توده چربی و افزایش ماهیچه باشند [١٧٠].



ب

الف

شکل ٢-١- ساختمان شیمیایی الف. اسید لینولئیک (اسید اوکتادیکادینوئیک ٩- سیس، ١٢- سیس) و ب. اسید لینولئیک مزدوج٩- سیس، ١١- ترانس (اسید اوکتادیکادینوئیک ٩- سیس، ١١- ترانس)[١٨٦].