

Effect of Broiler Row Feather Processing on Chemical composition and Protein Fractions Based on The Cornell Net Carbohydrate and Protein System

Hosseinali Nouri^{1*}, Asadollah Teimori Yansari², Yadollah Chashnidel³

¹ Ph.D. Student of Dept. of Animal and Poultry Nutrition, Animal Sciences Faculty Sari Agricultural and Natural Resources University, Sari, Iran, Email: hosein_nouri90@yahoo.com

² Professor and ³ Associated Prof. of Dept. of Animal and Poultry Nutrition, Animal Sciences Faculty Sari Agricultural and Natural Resources University, Sari, Iran

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:

Received:
Revised:
Accepted:

Keywords:

CNCPS System
Feather meal
Processing
Protease enzyme
Protein Fractionation
Sodium metabisulfite

ABSTRACT

Background and objectives: The demand for high-quality protein sources is likely to increase in the coming years, especially due to the increasing world population, which is estimated to reach about 9 billion by 2050. Therefore, it is important to identify and find alternative sources of protein for sustainable animal nutrition. Considering that millions of tons of feathers are produced worldwide every year, this by-product is considered a potential alternative to more expensive feed ingredients. Many biophysicochemical processes are used to increase the quality of feed sources, especially protein sources. Steam hydrolysis is a process commonly used to convert indigestible raw keratin into highly digestible feather meal. Since the protein digestibility of the feather in the living organism's digestive tract is relatively low, this method is not satisfactory. Addition of exogenous enzymes and reducing agents, along with low temperature processing, will be one of the alternatives used to reduce the effects of overheating of feather meal and improve the quality of the final product and energy saving. Therefore, according to the mentioned cases, the aim of the present study was to determine the effect of poultry feather processing on the chemical composition, total volatile nitrogen and protein fractions of feather meal based on the Cornell Net Carbohydrate and Protein System.

Materials and methods: This research was carried out in a 2x2x2 factorial method based on a completely randomized design with 8 treatments and 5 replications including: 1) raw feathers autoclaved at 120°C and 2 kPa pressure for 20 minutes; 2) raw feathers autoclaved at 120°C and 2 kPa pressure for 20 minutes, 0.25% sodium metabisulfite; 3) raw feathers autoclaved at 120°C and 2 kPa pressure, 0.15% protease enzyme; 4) raw feathers autoclaved 120°C and 2 kPa pressure for 20 minutes, 0.25% sodium metabisulfite, 0.15% of protease enzyme; 5) raw feathers autoclaved at 100°C and 2 kPa pressure for 20 minutes; 6) raw feathers autoclaved at 100°C and 2 kPa pressure for 20 minutes, 0.25% sodium metabisulfite; 7) Raw feathers autoclaved at 100°C and 2 kPa pressure, 0.15% protease enzyme; 8) Raw feathers autoclaved at 100°C and 2 kPa pressure for 20 minutes, 0.25% sodium metabisulfite, 0.15% of

protease enzyme. Chemical composition, including dry and organic matter, crude ash, crude protein and crude fat were determined. The protein fractions (A, B₁, B₂, B₃, C) of the processed feather meal were measured according to the Cornell University method.

Results: Dry and organic matter, crude protein, crude fat and ash were not affected by experimental treatments and showed not significant difference between the treatments. The amount of total volatile nitrogen was affected by the experimental treatments. The processing of raw feather with protease enzyme significantly increased the amount of total volatile nitrogen ($P<0.01$). The protein fractions of the processed raw feather were affected by the treatments. There was a statistically significant difference between fraction B₁, B₃ and C, but there was no statistically significant difference between fraction A and B₂. The addition of sodium metabisulfite during raw feather processing had a significant effect on fraction B₁ ($P<0.01$) and B₃ ($P<0.01$), but it did not have a significant effect on fraction A, B₂, and C, So that the use of sodium metabisulfite in the processing of raw feathers increased the B₁ fraction and decreased the B₃ fraction. The use of protease enzyme during the processing of raw feathers had a significant effect on fraction B₁ ($P<0.01$), but it did not have a significant effect on fraction A, B₂, B₃ and also C, So that the use of protease enzyme in the processing of raw feathers caused an increase in fraction B₁. The effect of different temperatures in raw feather processing was significant on fraction C ($P<0.01$), but it did not have a significant effect on fraction A, B₁, B₂, and B₃, So that the processing at a lower temperature (100 °C) caused the reduction of the C fraction.

Conclusion: According to the results of this research, it can be seen that the use of sodium metabisulfite in the processing of raw feathers causes an increase in the B₁ fraction and a decrease in the B₃ fraction, and also the addition of protease enzyme in the raw feather processing causes an increase in the amount of total volatile nitrogen and B₁ fraction. Also, the results showed that processing at a lower temperature (100 °C) reduces the C fraction. Therefore, it is recommended to use the autoclaving process at 100°C with a pressure of 2 kPa for 20 minutes along with sodium metabisulfite and protease enzyme for industrial and practical processing of raw feathers.

Cite this article: Nouri, H.A., Teimori Yansari, A., Chashnidel, Y. (2025). Effect of Broiler Row Feather Processing on Chemical composition and Protein Fractions Based on The Cornell Net Carbohydrate and Protein System. *Journal of Ruminant Research*, 13(3),



© The Author(s)

DOI:

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

اثرات فرآوری پر خام مرغ گوشتی بر ترکیبات شیمیایی و بخش‌های پروتئین بر اساس سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل

حسینعلی نوری^{۱*}، اسداله تیموری یانسری^۲، یداله چاشنی دل^۳

^۱ دانشجوی دکتری گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران، رایانامه: hosein_nouri90@yahoo.com

^۲ استاد و ^۳ دانشیار گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله:	مقدمه و هدف: احتمالاً تقاضا برای منابع پروتئینی با کیفیت در سال‌های آینده به‌ویژه به دلیل افزایش جمعیت جهان، که تخمین زده می‌شود به حدود ۹ میلیارد تا سال ۲۰۵۰ برسد، افزایش می‌یابد، لذا شناسایی و دستیابی به منابع جایگزین پروتئین مصرفی برای تغذیه پایدار انسان و دام حائز اهمیت است. باتوجه به این‌که سالانه میلیون‌ها تن پر مرغ در سراسر جهان تولید می‌شود، این فرآورده‌ی فرعی می‌تواند جایگزین بالقوه مناسبی برای مواد خوراکی پروتئینی گران‌قیمت‌تر محسوب شود. فرآوری‌های متعدد بیوفیزیک و شیمیایی برای افزایش کیفیت منابع خوراکی به‌ویژه منابع پروتئینی مورد استفاده قرار می‌گیرند. هیدرولیز با بخار آب، فرآیندی است که به‌طور معمول برای تبدیل کراتین غیرقابل هضم پر خام به کراتین پودر پر قابل هضم فرآوری شده استفاده می‌شود. از آنجایی که قابلیت هضم کل پروتئین پر خام در دستگاه گوارش موجود زنده به‌طور نسبی کم است، این روش چندان رضایت‌بخش نیست. امروزه، افزودن آنزیم‌های اگزوزن و عوامل احیاکننده، همراه با تغییرات دمایی به‌ویژه بهره‌گیری از فرآوری در دمای پایین، یکی از روش‌های جایگزین‌های مورد استفاده برای کاهش اثرات گرم شدن بیش از حد پودر پر، بهبود کیفیت فرآورده نهایی و صرفه‌جویی در انرژی خواهد بود. بنابراین با توجه به موارد ذکر شده، هدف از این پژوهش تعیین اثرات نوع فرآوری پر خام طیور بر ترکیبات شیمیایی، مقدار نیتروژن فرار کل و بخش‌های پروتئین خام پودر پر بر اساس سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل بود.
تاریخ دریافت:	
تاریخ ویرایش:	
تاریخ پذیرش:	
واژه‌های کلیدی:	مواد و روش‌ها: این پژوهش به روش فاکتوریل ۲×۲×۲ و در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۸ تیمار و ۵ تکرار شامل: (۱) پر خام اتوکلاو شده در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۲ کیلوپاسکال به مدت ۲۰ دقیقه، (۲) پر خام اتوکلاو شده در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۲ کیلوپاسکال به مدت ۲۰ دقیقه و ۰/۲۵ درصد سدیم متابی سولفیت، (۳) پر خام اتوکلاو شده در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۲ کیلوپاسکال و ۰/۱۵ درصد آنزیم پروتئاز، (۴) پر خام اتوکلاو شده در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۲ کیلوپاسکال به مدت ۲۰ دقیقه و ۰/۲۵ درصد سدیم متابی سولفیت و ۰/۱۵ درصد آنزیم پروتئاز، (۵) پر خام اتوکلاو شده در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۲ کیلوپاسکال به مدت ۲۰ دقیقه، (۶) پر خام اتوکلاو شده در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و

فشار ۲ کیلوپاسکال به مدت ۲۰ دقیقه و ۰/۲۵ درصد سدیم متابی سولفیت، ۷) پر خام اتوکلاو شده در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد و فشار ۲ کیلوپاسکال و ۰/۱۵ درصد آنزیم پروتئاز، ۸) پر خام اتوکلاو شده در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد و فشار ۲ کیلوپاسکال به مدت ۲۰ دقیقه و ۰/۲۵ درصد سدیم متابی سولفیت و ۰/۱۵ درصد آنزیم پروتئاز انجام شد. ترکیبات شیمیایی شامل ماده آلی، خاکستر خام، پروتئین خام، چربی خام و همچنین مقدار نیتروژن فرار کل تعیین شدند. بخش‌های مختلف پروتئین (A, B_۱, B_۲, B_۳, C) پودر پر فرآوری شده بر اساس روش دانشگاه کرنل اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، چربی خام و خاکستر تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. مقدار نیتروژن فرار کل تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت. فرآوری پر خام با آنزیم پروتئاز به‌طور معنی‌داری سبب افزایش مقدار نیتروژن فرار کل ($P < 0/01$) شد. بخش‌های مختلف پروتئین پر خام فرآوری شده تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت. از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین بخش‌های B_۱, B_۲ و C وجود داشت، اما تفاوت معنی‌داری از نظر آماری بین بخش‌های A و B_۲ وجود نداشت. افزودن سدیم متابی سولفیت در طی فرآوری پر خام اثر معنی‌داری بر بخش B_۱ ($P < 0/01$) و B_۳ ($P < 0/01$) داشت، اما اثر معنی‌داری بر بخش‌های A، B_۲ و هم چنین C نداشت، به‌طوری‌که استفاده از سدیم متابی سولفیت در فرآوری پر خام سبب افزایش بخش B_۱ و کاهش بخش B_۳ شد. استفاده از آنزیم پروتئاز در طی فرآوری پر خام اثر معنی‌داری بر بخش B_۱ ($P < 0/01$) داشت، اما اثر معنی‌داری بر بخش‌های A، B_۲ و B_۳ و هم چنین C نداشت، به‌طوری‌که استفاده از آنزیم پروتئاز در فرآوری پر خام، سبب افزایش بخش B_۱ شد. اثر دمای مختلف در فرآوری پر خام بر بخش C ($P < 0/01$) معنی‌دار بوده است، اما اثر معنی‌داری بر بخش‌های A، B_۱، B_۲ و هم چنین B_۳ نداشت، به‌طوری‌که فرآوری در دمای پایین‌تر (۱۰۰ درجه سانتی گراد) سبب کاهش بخش C شد.

نتیجه‌گیری: طبق نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان دریافت که استفاده از سدیم متابی سولفیت در فرآوری پر خام سبب افزایش بخش B_۱ و کاهش بخش B_۳ و همچنین افزودن آنزیم پروتئاز در فرآوری پر خام سبب افزایش مقدار نیتروژن فرار کل و همچنین بخش B_۱ می‌شود. همچنین نتایج نشان داد که فرآوری در دمای پایین‌تر (۱۰۰ درجه سانتی گراد) سبب کاهش بخش C می‌شود. لذا توصیه می‌شود برای فرآوری صنعتی و کاربردی پر خام فرایند اتوکلاو کردن در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد با فشار ۲ کیلوپاسکال به مدت ۲۰ دقیقه همراه با سدیم متابی سولفیت و آنزیم پروتئاز استفاده شود.

استناد: نوری، حسینعلی؛ تیموری یانسری، اسداله؛ چاشنی دل، یداله. (۱۴۰۴). اثرات فرآوری پر خام مرغ گوشتی بر ترکیبات شیمیایی و بخش‌های پروتئین براساس سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل. پژوهش در نشخوارکنندگان، ۱۳(۳)،

DOI:

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان



© نویسندگان.

مقدمه

احتمالاً تقاضا برای منابع پروتئینی با کیفیت در سال‌های آینده به‌ویژه به‌دلیل افزایش جمعیت جهان، که تخمین زده می‌شود به حدود ۹ میلیارد تا سال ۲۰۵۰ برسد، افزایش می‌یابد (Bongaarts, ۲۰۰۹)، لذا یافتن منابع جایگزین پروتئینی برای تغذیه پایدار انسان و دام دارای اهمیت است. صنعت پرورش مرغ یکی از صنایع مهم تولیدی است که گوشت و تخم مرغ را به‌عنوان یکی از منابع اصلی غذایی اکثر مردم دنیا تأمین می‌کنند. از این رو، به موازات توسعه و افزایش تولیدات این صنعت، افزایش رو به رشدی در تولید ضایعات ناشی از بخش صنعت طیور در جهان وجود دارد. پر که ۵ تا ۷ درصد از وزن کل بدن جوجه‌های بالغ را تشکیل می‌دهد (Li, ۲۰۱۹؛ Manczinger و همکاران، ۲۰۰۳)، براساس گزارش سازمان غذا و کشاورزی ملل متحد^۱ (۲۰۲۱)، در مجموع ۱۳۵/۲ میلیون تن مرغ گوشتی و نزدیک به ۹/۵ میلیون تن پر در دنیا تولید می‌شود. با توجه به این که سالانه میلیون‌ها تن پر در سراسر جهان تولید می‌شود (Da Silva, ۲۰۱۸؛ Verma و همکاران، ۲۰۱۷)، این فرآورده‌ی فرعی جایگزینی بالقوه‌ای برای مواد خوراکی گران قیمت‌تر محسوب می‌شود. پرها به‌دلیل ماهیت سختشان به یکی از منابع آلاینده تبدیل شده‌اند (Brandelli و همکاران، ۲۰۱۵). بنابراین تبدیل پر به فرآورده‌های با ارزش با استفاده از روش‌های فرآوری اقتصادی مورد توجه بسیاری از پژوهشگران بوده است (Kang و همکاران، ۲۰۱۸). به‌نظر بتوان با فرآوری‌های بیوفیزیک و شیمیایی با افزایش ارزش تغذیه‌ای پر خام، قابلیت دسترسی پروتئین آن را افزایش، مخاطرات آن را کاهش داده و استفاده بهینه از آن به عمل آورد.

یکی از راه‌های جایگزین برای مدیریت ضایعات پر، بازیافت یا تبدیل این ضایعات به فرآورده‌های مفید مانند پودر پر است (Cheong و همکاران، ۲۰۱۷). زیرا که پر از بیش از ۹۰ درصد پروتئینی به‌نام کراتین تشکیل شده که حاوی سطوح بالایی از سیستمین، گلايسین، آرژنین و فنیل آلانین است (Kumar و همکاران، ۲۰۱۲). از آنجایی که پودر پر فرآوری نشده قابلیت هضم کمی (حدود ۵/۸ درصد) دارد (Achmad, ۲۰۰۱)، بنابراین به‌عنوان یک منبع پروتئین، نیاز به فرآوری دارد (Aderibigbe و Church, ۱۹۸۳). روش‌های فرآوری آن به‌صورت شیمیایی (احیا، اکسیداسیون، هیدرولیز، سولفیتولیز، به کمک مایع یونی)، فیزیکی (حرارت‌دهی، پودر کردن، هیدرولیز با بخار، تابش مایکروویو) و بیولوژیک (میکروبی و آنزیمی) طبقه‌بندی می‌شوند (Wang و همکاران، ۲۰۲۱). هیدرولیز با بخار آب فرآیندی است که به‌طور معمول برای تبدیل کراتین غیرقابل هضم پر خام به کراتین پودر پر قابل هضم فرآوری شده استفاده می‌شود. این فرآیند شامل پختن پرها، که اغلب با سایر منابع فرعی کراتینی (مانند موها، منقار، سم‌ها، شاخ‌ها) مخلوط می‌شوند، تحت شرایط فشار بالای بخار برای افزایش از هم گسیختگی پیوندهای هیدروژنی، پل‌های دی‌سولفیدی و پیوندهای پپتیدی در پروتئین و زیست‌فراهمی پروتئین برای هضم و جذب حیوانی است (Machado و همکاران، ۲۰۲۱). قرار گرفتن بلند مدت پرها در معرض این شرایط ممکن است تأثیر منفی بر دسترسی اسیدهای آمینه که به دما حساس هستند، داشته باشد (Considine, ۲۰۰۰). از آنجایی که قابلیت هضم کل پروتئین پر در دستگاه گوارش موجود زنده نسبتاً کم است، این روش رضایت بخش نیست (Bielorai و همکاران، ۱۹۸۲). افزودن آنزیم‌های اگزوزن، همراه با فرآوری در دمای پایین و فشار کم، یکی از جایگزین‌های مورد

¹ Food and Agriculture Organization (FAO)

۱۰ درصد حل می‌شود که این بخش شامل اسیدهای آمینه، پپتیدها و آمونیاک است و در شکمبه به سرعت به آمونیاک تبدیل می‌شود. (۲) بخش B_۱ پروتئین حقیقی سریع تجزیه شونده که در اسید تری‌کلرواستیک ۱۰ درصد رسوب می‌کند و در بافر محلول است. (۳) بخش B_۲ پروتئین حقیقی با نرخ تجزیه‌پذیری متوسط که نیتروژن باقی‌مانده است. (۴) بخش B_۳ پروتئین حقیقی آهسته تجزیه شونده است، این بخش نامحلول در شوینده خنثی است اما در شوینده اسیدی محلول است. (۵) بخش C که بخش غیر قابل دسترس یا پروتئین متصل است که در شوینده اسیدی نامحلول و این بخش دارای پروتئین همراه با لیگنین، کمپلکس پروتئین-تانن و واکنش‌های میلارد است که مقاومت بالایی در برابر آنزیم‌های پستانداران و میکروب‌ها دارند (Zhao و همکاران، ۲۰۰۸). Guevara-Mesa و همکاران (۲۰۱۱) مقادیر بخش‌های A، B_۱، B_۲، B_۳ و C برای پودر پر رایج را به ترتیب ۲/۸۹، ۳/۹۱، ۸۹/۲۹، ۱/۳۰، ۲/۶۱ درصد پروتئین خام گزارش دادند (Guevara-Mesa و همکاران، ۲۰۱۱). بنابراین هدف از پژوهش حاضر تعیین اثر نوع فرآوری پر طیور بر ترکیبات شیمیایی، مقدار نیتروژن فرار کل و بخش‌های پروتئین پودر پر براساس سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه تغذیه دام دانشکده علوم دامی و شیلات و مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در بهار ۱۴۰۲ انجام شد. به منظور ارزیابی اثرات دما، آنزیم پروتئاز و یک احیاکننده (سدیم متابی سولفیت)، این پژوهش با ۸ تیمار آزمایشی و ۵ تکرار و به روش فاکتوریل ۲×۲×۲ طراحی و انجام شده است. تیمارهای آزمایشی شامل

استفاده برای کاهش اثرات منفی گرم شدن بیش از حد پودر پر، بهبود کیفیت فرآورده نهایی و صرفه‌جویی در انرژی خواهد بود (Pedersen و همکاران، ۲۰۱۲). چندین پژوهش ارزش تغذیه‌ای پودر پر تیمار شده با آنزیم را مورد ارزیابی قرار دادند (Davies و همکاران، ۲۰۰۹؛ Laporte، ۲۰۰۷؛ Serwata، ۲۰۰۷). بررسی‌ها نشان داد که هیدرولیز آنزیمی ترکیبات کراتینی را می‌توان با افزودن احیاکننده‌های شیمیایی به‌طور معنی‌داری افزایش داد (Eslahi و همکاران، ۲۰۱۳؛ Ramnani و Gupta، ۲۰۰۷). ترکیب عوامل احیاکننده و پروتئازها مشابه عملکرد میکروارگانیزم‌های تجزیه‌کننده کراتین است، به‌طوری که احیاکننده‌ها ساختار کراتین را گسسته و به پروتئازها اجازه می‌دهند پیوندهای پپتیدی را بشکنند (Eslahi و همکاران، ۲۰۱۳). عوامل احیاکننده‌ی مناسب برای هیدرولیز کراتین با هدف تولید خوراک شامل سیستئین، گلویتایون، سولفیت سدیم، متابی سولفیت سدیم و تیوگلیکولات است (Pfeuti، ۲۰۱۷). در پژوهشی در عرض ۳۰ دقیقه ۲۶ درصد از کراتین پر را با استفاده از آنزیم ساویناز و یک احیاکننده (سولفیت سدیم) تجزیه شد (Eslahi و همکاران، ۲۰۱۳). به این ترتیب، استفاده از احیاکننده‌های شیمیایی همراه با پروتئازها برای تبدیل پر خام طیور به مواد خوراکی گزینه‌ای است که نیازمند بررسی بیشتر است.

سیستم پویای پروتئین و کربوهیدرات خالص کرنل^۱ سال‌هاست که برای تعیین ارزش تغذیه‌ای مواد خوراکی و احتیاجات دام مورد استفاده قرار می‌گیرد. بر اساس این سیستم، پروتئین خام مواد خوراکی به ۵ بخش تقسیم می‌شوند: (۱) بخش A، ترکیبات نیتروژن‌دار غیر پروتئینی که در اسید تری‌کلرواستیک

^۱ Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNCPS)

اعمال تیمارهای مورد نظر توسط اتوکلاو (کاووش مگا ساخت ایران) انجام شد. در تیمارهای حاوی آنزیم و عامل احیاکننده، به منظور پیش تیمار، پره‌های خام به مدت ۵۰ دقیقه در درمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با سدیم متابی سولفیت و آنزیم پروتئاز انکوباسیون شدند و سپس تحت تیمار به شرح فوق قرار گرفتند.

تعیین ترکیبات شیمیایی: جهت تعیین ترکیبات شیمیایی، ابتدا نمونه‌ها با آسیاب مجهز به الک یک میلی‌متر آسیاب شده و سپس ماده خشک (دمای ۶۵ درجه به مدت ۴۸ ساعت)، پروتئین خام (روش کجلدال)، چربی خام (روش سوکسله) و خاکستر خام (کوره الکتریکی با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد) مطابق با توصیه‌های انجمن رسمی شیمی دانان کشاورزی (AOAC، ۲۰۰۵) در ۵ تکرار تعیین شدند.

تعیین نیتروژن فرار کل: مقدار نیتروژن فرار کل^۱ بر حسب میلی گرم در صد گرم نمونه براساس روش Hollingworth و Wekell (۱۹۹۷) و از رابطه زیر محاسبه شد (Hollingworth و Wekell، ۱۹۹۷؛ Maghraby و همکاران، ۲۰۱۳):

$$TVN = \frac{V \times N \times 14}{W} \times 100 \quad (\text{رابطه ۱})$$

که در این رابطه، TVN: نیتروژن فرار کل (بر حسب میلی گرم در صد گرم نمونه)؛ V: حجم اسید مصرفی (بر حسب میلی لیتر)؛ N: نرمالیه اسید مصرفی؛ W: وزن نمونه هستند.

اندازه‌گیری بخش‌بندی پروتئین به روش سیستم پروتئین و کربوهیدرات خالص کرنل: بخش‌های مختلف پروتئین (A، B_۱، B_۲، B_۳، C) پودر پر فرآوری شده با روش ارائه شده توسط دانشگاه کرنل اندازه‌گیری شد (Licitra و همکاران، ۱۹۹۶). در این روش، در ابتدا ۰/۵ گرم از نمونه خشک و آسیاب شده با الک ۱ میلی‌متری توزین شده و سپس ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شد. پس از ۳۰ دقیقه، ۱۰ میلی لیتر

دو سطح دما (دمای ۱۰۰ و ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد)، دو سطح سدیم متابی سولفیت (صفر و ۰/۲۵ درصد) و دو سطح آنزیم پروتئاز (صفر و ۰/۱۵ درصد) به ترتیب زیر بودند:

۱. پر خام اتوکلاو شده در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۲ کیلوپاسکال به مدت ۲۰ دقیقه
۲. پر خام اتوکلاو شده در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۲ کیلوپاسکال به مدت ۲۰ دقیقه تیمار شده با ۰/۲۵ درصد سدیم متابی سولفیت
۳. پر خام اتوکلاو شده در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۲ کیلوپاسکال تیمار شده با ۰/۱۵ درصد آنزیم پروتئاز
۴. پر خام اتوکلاو شده در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۲ کیلوپاسکال به مدت ۲۰ دقیقه تیمار شده با ۰/۲۵ درصد سدیم متابی سولفیت و ۰/۱۵ درصد آنزیم پروتئاز
۵. پر خام اتوکلاو شده در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۲ کیلوپاسکال به مدت ۲۰ دقیقه
۶. پر خام اتوکلاو شده در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۲ کیلوپاسکال به مدت ۲۰ دقیقه تیمار شده با ۰/۲۵ درصد سدیم متابی سولفیت
۷. پر خام اتوکلاو شده در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۲ کیلوپاسکال تیمار شده با ۰/۱۵ درصد آنزیم پروتئاز
۸. پر خام اتوکلاو شده در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۲ کیلوپاسکال به مدت ۲۰ دقیقه تیمار شده با ۰/۲۵ درصد سدیم متابی سولفیت و ۰/۱۵ درصد آنزیم پروتئاز

پرخام استفاده شده در این پژوهش از کشتار یک دوره جوجه گوشتی تهیه شد و پس از تفکیک سایر بخش‌های اضافی نظیر ناخن، تاج، پنجه، منقار و ... به‌طور کامل شسته شده و در معرض هوا خشک شد. فرآوری پر خام تهیه شده از کشتارگاه طیور پس

¹ Total Volatile Nitrogen (TVN)

تعیین شد. پس از تعیین پروتئین نامحلول در شوینده اسیدی یا بخش C و کسر کردن آن از بخش پروتئین نامحلول در شوینده خنثی که دارای هر دو بخش B_۲ و C است، بخش B_۲ به دست می‌آید و نتایج به صورت درصد پروتئین خام گزارش شد. بخش B_۲ براساس رابطه $B_2(\%cp) = 100 - (A(\%cp) + B_1(\%cp) + C(\%cp))$ محاسبه شد.

مدل و تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های حاصل از با استفاده از رویه GLM در نرم‌افزار آماری SAS, V 9.1 (۲۰۰۲) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۸ تیمار و ۵ تکرار و به روش فاکتوریل ۲×۲×۲ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. مقایسه‌ی میانگین‌های تیمارهای آزمایشی از طریق آزمون دانکن در سطح احتمال معنی‌داری ۰/۰۵ انجام شد. مدل آماری این طرح به این ترتیب است:

$$X_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + C_k + AB_{(ij)} + AC_{(ik)} + BC_{(jk)} + ABC_{(ijk)} + e_{ijkl}$$

به‌طوری‌که μ اثر میانگین، δ_i اثر فاکتور A (اثر دما)، δ_j اثر فاکتور B (اثر افزودن سدیم متابی سولفیت)، δ_k اثر فاکتور C (اثر افزودن آنزیم پروتئاز)، δ_{ijk} اثر متقابل سه فاکتور و δ_{ik} اثر متقابل فاکتورهای A و C و δ_{jk} اثر متقابل فاکتورهای B و C و e_{ijkl} اشتباه آزمایشی است.

نتایج و بحث

ترکیبات شیمیایی پر خام فرآوری شده: درصد ماده خشک و ترکیبات شیمیایی پودر پر فرآوری شده در دمای مختلف با سدیم متابی سولفیت و آنزیم پروتئاز در جدول ۱ ارائه شده است. ماده خشک، پروتئین خام و چربی خام تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند ولی مقدار ماده آلی و خاکستر خام در بین تیمارها تمایل به معنی‌داری داشت. میانگین ماده خشک برای تیمارهای آزمایشی مشابه مقدار گزارش شده از سوی Pacheco و همکاران (۲۰۱۶) (۹۲/۸)

محلول اسید تری کلرواستیک ۱۰ درصد بدان افزوده و به مدت ۲۰ تا ۳۰ دقیقه در شرایط آزمایشگاه نگهداری شد. سپس با صاف کردن و شستشوی باقیمانده‌ها بر روی کاغذ صافی واتمن (کاغذ فیلتر #۵۴)، محتوای نیتروژن مواد باقی‌مانده به وسیله دستگاه کج‌دال اندازه‌گیری شد. به منظور محاسبه بخش نیتروژن غیر پروتئینی^۱ محتوای نیتروژن مواد باقی‌مانده بر روی کاغذ صافی واتمن از نیتروژن کل کسر شد. به منظور محاسبه بخش B_۱، ۵۰ میلی‌لیتر بافر بورات فسفات را به ۰/۵ گرم از نمونه اضافه کرده و به مدت ۳ ساعت در دمای اتاق قرار داده، میزان نیتروژن مواد باقی‌مانده بر روی کاغذ صافی واتمن (کاغذ فیلتر #۵۴) توسط دستگاه کج‌دال اندازه‌گیری شد و با کسر این مقدار از کل پروتئین خام میزان پروتئین محلول به دست آمد. بخش قابل حل پروتئین حقیقی نیز با کسر مقدار نیتروژن غیر پروتئینی از این بخش محاسبه شد.

جهت تعیین پروتئین نامحلول در شوینده خنثی (C و B_۲)، ابتدا الیاف نامحلول در شوینده خنثی^۲ نمونه‌ها در دستگاه انکوم (Van Soest، ۱۹۹۴) تعیین شده و سپس بعد از خشک شدن در آون و تعیین میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی، مقدار پروتئین متصل شده به آن یا همان پروتئین خام نامحلول در شوینده خنثی^۳ توسط دستگاه کلدال تعیین شد. جهت تعیین پروتئین همراه با الیاف نامحلول در شوینده اسیدی^۴ (C) از محلول شوینده اسیدی در دستگاه انکوم (Van Soest، ۱۹۹۴) استفاده شد و سپس بعد از خشک شدن در آون و تعیین مقدار الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، مقدار پروتئین متصل شده به آن یا همان پروتئین نامحلول در شوینده اسیدی^۵ توسط دستگاه کلدال

^۱ Non-Protein Nitrogen (NPN)

^۲ Neutral Detergent Fiber (NDF)

^۳ Neutral Detergent Insoluble Crude Protein (NDICP)

^۴ Acid Detergent Fiber (ADF)

^۵ Acid Detergent Insoluble Crude Protein (ADICP)

گرفت، به طوری که بیشترین مقدار نیتروژن فرار کل در پر خام فرآوری شده در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد با سدیم متابی سولفیت و آنزیم پروتئاز (۹۰/۴۰ میلی گرم در صد گرم نمونه) و کمترین آن در پر خام فرآوری شده در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد با سدیم متابی سولفیت (۸۰/۴۰ میلی گرم در صد گرم نمونه) مشاهده شد. فرآوری پر خام با آنزیم پروتئاز نسبت به فرآوری بدون آنزیم به طور معنی داری بر مقدار نیتروژن فرار کل اثر داشت ($P < 0.01$) به طوری که افزودن این آنزیم سبب افزایش مقدار نیتروژن فرار کل شد. فرآوری پر خام در دمای مختلف و افزودن سدیم متابی سولفیت سبب تغییر در مقدار نیتروژن فرار کل در بین تیمارهای آزمایشی نشد. تعیین سطح نیتروژن فرار کل به عنوان شاخصی از کیفیت خوراکی های پروتئینی بسیار حائز اهمیت است (Bekhit و همکاران، ۲۰۲۱) و مقدار آن بازتابی از فرایندهای میکروبی پروتئولیتیکی است که در طول فرآوری، حمل و نقل و ذخیره سازی در مواد خوراکی رخ می دهد (Özoğul و Özoğul، ۲۰۰۰). نیتروژن فرار کل به طور عمده شامل تری متیل آمین (تولید شده توسط باکتری های فسادزا)، دی متیل آمین (تولید شده توسط آنزیم های اتولیتیک)، آمونیاک (تولید شده توسط اسیدهای آمینه و کاتابولیت های نوکلئوتیدی) و سایر ترکیبات نیتروژنی فرار مرتبط با فساد مواد خوراکی است (Etienne، ۲۰۰۵؛ Malle و Poumeyrol، ۱۹۸۹؛ Riquixo، ۱۹۹۸). نتایج به دست آمده در این پژوهش در رابطه با پودر پر تجاری (پر خام فرآوری شده در دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد) نزدیک به نتایج ارائه شده توسط Beketov و همکاران (۲۰۲۰) (۹۳ میلی گرم در صد گرم نمونه) بوده است. همچنین این پژوهشگران مقدار بالاتری را برای پودر پر فرآوری شده با آنزیم (۱۹۲ میلی گرم در صد گرم نمونه) گزارش کردند.

درصد) و Barbour و همکاران (۲۰۰۲) (۹۵/۷ درصد) و Abedian Kenari و Motamedzadegan (۲۰۱۹) (۹۳/۴۵ درصد) بود (Abedian Kenari و Motamedzadegan، ۲۰۱۹؛ Barbour و همکاران، ۲۰۰۲؛ Pacheco و همکاران، ۲۰۱۶). Pacheco و همکاران (۲۰۱۶) و Barbour و همکاران (۲۰۰۲) گزارش دادند که فرآوری پودر پر با آنزیم پروتئاز اثری بر محتوای ماده خشک نمونه ها نداشت. نتایج به دست آمده از مقدار پروتئین خام در این پژوهش مشابه نتایج به دست آمده توسط Barbour و همکاران (۲۰۰۲) (۸۵/۸ درصد) بود اما Pacheco و همکاران (۲۰۱۶) (۷۵/۳ درصد) و Abedian Kenari و Motamedzadegan (۲۰۱۹) (۷۸/۱ درصد) مقدار پایین تری را برای پروتئین خام گزارش کردند. همچنین نتایج Pacheco و همکاران (۲۰۱۶) و Barbour و همکاران (۲۰۰۲) نشان داد که هیدرولیز آنزیمی پودر پر با آنزیم پروتئاز تأثیری بر محتوای پروتئین خام ندارد. مقدار پروتئین خام پودر پر هیدرولیز شده در انجمن تحقیقات ملی آمریکا ۹۲ درصد گزارش شده است (NRC، ۲۰۰۰). محتوای چربی خام کمتر از نتایج گزارش شده توسط Abedian Kenari و Motamedzadegan (۲۰۱۹) (۶/۸۳ درصد) و Barbour و همکاران (۲۰۰۲) (۵/۹۷ درصد) بود. Barbour و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که فرآوری پودر پر با آنزیم پروتئاز تأثیری بر مقدار چربی خام ندارد. محتوای خاکستر مشابه نتایج به دست آمده توسط Barbour و همکاران (۲۰۰۲) (۵/۰۸ درصد) ولی بیشتر از محتوای خاکستر خام گزارش شده توسط Abedian Kenari و Motamedzadegan (۲۰۱۹) (۳/۵۱ درصد) بود.

نیتروژن فرار کل: مقدار نیتروژن فرار کل پر خام فرآوری شده در جدول ۱ ارائه شده است. مقدار نیتروژن فرار کل تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار

Table 1- Effect of raw feather processing on chemical composition (%) and total volatile nitrogen (mg100g⁻¹)

$(P\text{-value})$ ^۲ احتمال داری				خطای استاندارد میانگین		تیمارهای آزمایشی ^۱ (Experimental treatments)								ترکیب شیمیایی (Chemical composition)	
ABC	BC	AC	AB	C	B	A	8	7	6	5	4	3	2	1	
0.9955	0.3748	0.8508	0.6836	0.8479	0.0978	0.6453	0.432	94.56	93.39	93.77	92.82	95.49	93.28	94.36	ماده خشک (Dry matter)
0.0509	0.3165	0.8965	0.3494	0.9147	0.0562	0.8965	0.107	93.77	94.45	93.98	94.08	94.46	94.78	93.76	ماده آلی (Organic material)
0.2875	0.2291	0.9221	0.2807	0.9383	0.7435	0.2934	0.361	89.25	88.22	89.37	89.20	86.94	87.38	88.51	پروتئین خام (Crude protein)
0.0509	0.3165	0.8965	0.3494	0.9147	0.0562	0.8965	0.107	6.23	5.55	6.02	5.92	5.54	5.22	6.24	خاکستر (Ash)
0.8805	0.7883	0.9891	0.7468	0.5410	0.7195	0.6727	0.090	3.56	3.46	3.53	3.60	3.45	3.46	3.36	چربی خام (Crude fat)
0.4899	0.3962	0.4474	0.4775	0.0015	0.6165	0.8910	0.808	87.50 ^{abc}	80.40 ^c	82.60 ^{bc}	86.60 ^{abc}	88.33 ^{ab}	81.40 ^{bc}	83.67 ^{abc}	نیپوزون فرار کل (TVN)

^{a,b,c,d} The mean of each row with different letters have significant difference ($P < 0.05$).

[illegible]

Experimental treatments: 1) raw feathers autoclaved at 120°C and 2 kPa pressure for 20 minutes, 0.25% sodium metabisulfite 3) raw feathers autoclaved at 120°C and 2 kPa pressure for 20 minutes, 0.15% protease enzyme 4) raw feathers autoclaved 120°C and 2 kPa pressure for 20 minutes, 0.25% sodium metabisulfite, 0.15% of protease enzyme 5) raw feathers autoclaved at 100°C and 2 kPa pressure for 20 minutes 6) raw feathers autoclaved at 100°C and 2 kPa pressure for 20 minutes, 0.25% sodium metabisulfite 7) Raw feathers autoclaved at 100°C and 2 kPa pressure for 20 minutes, 0.15% protease enzyme 8) Raw feathers autoclaved at 100°C and 2 kPa pressure for 20 minutes, 0.25% sodium metabisulfite, 0.15% of protease enzyme.

A: اثر دما؛ B: اثر افزودن سدیم متانی سولفیت؛ C: اثر افزودن آنزیم پروتاز؛ AB: اثر متقابل فاکتورهای A و B؛ AC: اثر متقابل فاکتورهای A و C؛ BC: اثر متقابل فاکتورهای B و C؛ ABC: اثر متقابل سه فاکتور A، B و C؛ A: effect of temperature; B: effect of sodium metabisulfite addition; C: the effect of protease enzyme addition; AB: interaction effect between factors A and B; AC: interaction effect between factors A and C; BC: interaction effect between factors B and C; ABC: interaction effect of three factors A, B and C.

که توسط Ljokjel و همکاران (۲۰۰۰) برای کنجاله سویا و پودر ماهی تحت تیمار حرارتی در ۱۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه در مقایسه با دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه مشاهده شد (Ljokjel و همکاران، ۲۰۰۰). Davidek و همکاران (۱۹۹۰) گزارش کردند که یکی از اولین تغییرات قابل توجه پروتئین‌ها در طی حرارت دادن از دست دادن اسیدهای آمینه حساس مانند سیستین و لیزین است (Davidek و همکاران، ۱۹۹۰).

بخش B_۱ پروتئین پر خام فرآوری شده تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت و از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین بخش‌های B_۱ وجود داشت. افزودن سدیم متابی سولفیت و آنزیم پروتئاز در طی فرآوری پر خام اثر معنی‌داری بر بخش B_۱ ($P < 0.01$) داشت به طوری که استفاده از سدیم متابی سولفیت و آنزیم پروتئاز در فرآوری پر خام سبب افزایش بخش B_۱ شد. همچنین اثر دمای مختلف در فرآوری پر خام بر بخش B_۱ ($P < 0.05$) معنی‌داری بوده است به طوری که فرآوری در دمای پایین (۱۰۰ در مقایسه با ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد) سبب افزایش بخش B_۱ شد (جدول ۳). در راستای نتایج به دست آمده در این پژوهش، نتایج تقریباً مشابهی توسط Guevara-Mesa و همکاران (۲۰۱۱) برای بخش‌های A (۲/۸۹ درصد پروتئین خام) و B_۱ (۳/۹۱ درصد پروتئین خام) برای پودر پر رایج ارائه دادند. کاهش حلالیت پروتئین خام و متعاقباً حلالیت بافر و تجزیه پذیری شکمبه در نتیجه حرارت دادن به خوبی شناخته شده و اغلب گزارش شده است (Mustafa و همکاران، ۱۹۹۹؛ Nasri و همکاران، ۲۰۰۸). علاوه بر این، تغییرات در درصد ساختارهای ثانویه پروتئین از قبیل کاهش مارپیچ‌های α و افزایش صفحات β می‌تواند به عنوان یک عامل در تیمارهای حرارتی در نظر گرفته شود (Yu، ۲۰۰۵). نسبت بالایی از پروتئین و اسیدهای آمینه حساس به

افزایش سطح نیتروژن فرار کل در پودر پر هیدرولیز شده با آنزیم در مقایسه با پودر پر رایج نشان دهنده افزایش غلظت اسیدهای آمینه آزاد در آن است (Beketov و همکاران، ۲۰۲۰). نیتروژن آمونیاکی یا ترکیبات نیتروژنی فرار در نتیجه‌ی تجزیه پروتئین‌ها و پپتیدها به اسیدهای آمینه آزاد و نیتروژن فرار تشکیل می‌شوند (Beddows و همکاران، ۱۹۸۰). در این پژوهش افزودن سدیم متابی سولفیت در طی فرآوری اثری بر مقدار نیتروژن فرار کل نداشت ولی برخی از مطالعات انجام شده نشان دادند که افزودن غلظت‌های مناسبی از عوامل احیاکننده می‌تواند مقادیر نیتروژن فرار کل خوراک فرآوری شده را کاهش دهد (Gokoglu و Yerlikaya، ۲۰۰۸؛ Manju و همکاران، ۲۰۰۷). همچنین فرآوری در دمای مختلف تأثیری بر مقدار نیتروژن فرار کل نداشت ولی پژوهشی در رابطه با اثر دمای فرآوری بر مقدار نیتروژن فرار کل انجام شد، نتایج این مطالعه نشان داد که با افزایش دمای فرآوری (از ۵۰ به ۹۰ درجه سانتی‌گراد) مقدار نیتروژن فرار کل به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (Ruiz- Capillas و Moral، ۲۰۰۴).

بخش‌بندی پروتئین به روش سیستم پروتئین و کربوهیدرات خالص کرنل پر خام فرآوری شده:
بخش A پروتئین پر خام فرآوری شده تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت و از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین بخش‌های A وجود داشت. افزودن سدیم متابی سولفیت و آنزیم پروتئاز در طی فرآوری پر خام اثر معنی‌داری بر بخش A نداشت ولی فرآوری در دمای مختلف اثر معنی‌داری بر بخش A ($P < 0.05$) داشت به طوری که فرآوری در دمای پایین (۱۰۰ در مقایسه با ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد) سبب افزایش بخش A شد (جدول ۳). در راستای نتایج حاضر، کاهش نیتروژن غیر پروتئینی در اثر حرارت بالا احتمالاً به دلیل از دست دادن اسیدهای آمینه است

حرارت (سیستین)، آن را مستعد اثرات گرمایی می‌کند (Van Soest, ۱۹۹۴). بخش‌های A و B_۱ بخش‌های محلول هستند و به سرعت در شکمبه تجزیه می‌شوند (Alzueta و همکاران، ۲۰۰۱). دلیل افزایش بخش محلول در پر فرآوری شده با سدیم متابی سولفیت و آنزیم پروتاز را می‌توان به شکسته شدن پیوندهای دی‌سولفیدی و هیدروژنی و آزاد شدن قسمتی از پپتیدها و اسیدهای آمینه‌ی پودر پر نسبت داد. نتایج پژوهشی که توسط Tham و همکاران (۲۰۰۸) انجام شد نشان داد که با افزایش دمای فرآوری (از ۱۰۰ به ۱۴۰ درجه سانتی‌گراد) مقادیر بخش‌های A و B_۱ به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. McKinnon و همکاران (۱۹۹۵) گزارش دادند که فرآوری کنجاله کانولا در دمای ۱۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ دقیقه سبب کاهش تجزیه پذیری شکمبه‌ای آن می‌شود (McKinnon و همکاران، ۱۹۹۵). در این پژوهش، افزایش در بخش محلول با افزودن آنزیم پروتاز و سدیم متابی سولفیت در طی فرآوری مشاهده شد. به‌طوریکه، افزودن سدیم متابی سولفیت به‌طور چشمگیری ظرفیت آنزیمی را افزایش داد. نتایج ما در تطابق با نتایج ارائه شده توسط چندین نویسنده است، به‌طوریکه یک عامل احیاکننده (احیاکننده دی‌سولفید یا احیاکننده شیمیایی)، در مورد ما سدیم متابی سولفیت، تجزیه کراتین را با گسستن پل‌های دی‌سولفیدی افزایش می‌دهد و در نتیجه دسترسی پروتازها به پیوندهای پپتیدی را تسهیل می‌کند (Eslahi و همکاران، ۲۰۱۳؛ Gupta و Ramnani، ۲۰۰۷؛ Yamamura و همکاران، ۲۰۰۲). کراتین حاوی غلظت بالایی از سیستمین، یک اسید آمینه با خاصیت تشکیل پل‌های دی‌سولفید قوی با سایر مولکول‌های سیستمین واقع در زنجیره‌های پپتیدی مجاور یا در قسمت‌های مختلف یک زنجیره پپتیدی، است. پیوندهای دی‌سولفیدی که توسط محتوای بالای

سیستمین ایجاد می‌شوند، پلی پپتیدهای کراتین را محکم در کنار هم نگه می‌دارند و ساختاری مقاوم در برابر پروتازها ایجاد می‌کنند (Wrześniewska-Tosik و Adamiec، ۲۰۰۷). میکروارگانیزم‌های تجزیه کننده کراتین، احیاکننده‌های دی‌سولفید اگزوزن ترشح می‌کنند که با گسستن پیوندهای دی‌سولفید، ساختار پروتئین کراتین را باز می‌کند، پیوندهای پپتیدی را در معرض قرار می‌دهند و شکاف پپتیک را توسط پروتاز امکان پذیر می‌کنند (Bockle و Muller، ۱۹۹۷؛ Ramnani و Gupta، ۲۰۰۷؛ Yamamura و همکاران، ۲۰۰۲).

بخش B_۲ پروتئین پر خام فرآوری شده تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت و از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین بخش‌های B_۲ وجود نداشت. افزودن سدیم متابی سولفیت و آنزیم پروتاز در طی فرآوری پر خام و فرآوری در دمای مختلف اثر معنی‌داری بر بخش B_۲ نداشت (جدول ۳). در راستای نتایج به‌دست آمده در این پژوهش، Guevara-Mesa و همکاران (۲۰۱۱) نتایج تقریباً مشابهی برای B_۲ (۸۹/۲۹ درصد پروتئین خام) و B_۳ (۱/۳۰ درصد پروتئین خام) برای پودر پر رایج ارائه دادند. برخلاف نتایج به‌دست آمده در این پژوهش که فرآوری در دماهای بالا و پایین اثری بر مقادیر بخش‌های B_۲ و B_۳ نداشت، Tham و همکاران (۲۰۰۸) گزارش دادند که با افزایش دمای فرآوری به‌طور معنی‌داری مقدار بخش B_۲ کاهش و مقدار بخش B_۳ افزایش می‌یابد.

از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین بخش B_۳ وجود داشت و بخش B_۳ پروتئین پر خام فرآوری شده تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت. افزودن سدیم متابی سولفیت در طی فرآوری پر خام اثر معنی‌داری بر بخش B_۳ ($P < 0.01$) داشت به‌طوری که استفاده از سدیم متابی سولفیت در فرآوری پر خام سبب کاهش بخش B_۳ شد. استفاده از آنزیم پروتاز

در طی فرآوری پر خام و فرآوری در دمای مختلف اثر معنی داری بر بخش B_2 نداشت (جدول ۳). در این پژوهش از سدیم متابی سولفیت به عنوان یک عامل احیاکننده برای شکافتن پیوندهای دی سولفید و یک پروتئاز تجاری برای هیدرولیز پیوندهای پپتیدی استفاده شد. در طی این فرآیند، سدیم متابی سولفیت پل های دی سولفید را می شکافد و تیول های سیستمین و سیستمین- S سولفونات (نمک بانته^۱) تولید می کند. نمک بانته آزاد شده به اندازه سیستمین زیست فراهم است به طوریکه وقتی در معرض شرایط اسیدی معده قرار می گیرد دوباره به سیستمین تبدیل می شود (Damodaran و همکاران، ۲۰۰۷). Pfeuti (۲۰۱۷) گزارش داد که احیا سیستمین با سدیم سولفیت در پودر پر ساختار پروتئین را باز می کند و پروتئازهای تجاری را قادر می سازد تا به پیوندهای پپتیدی دسترسی پیدا کرده و پپتیدها را به اسیدهای آمینه تبدیل کنند. با استفاده از این پیش تیمار، نیتروژن موجود در پودر پر به طور مؤثر تا ۴۵ درصد حل شد.

بخش C پروتئین یا همان پروتئین خام نامحلول در شویندهی اسیدی پر خام فرآوری شده تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت و از نظر آماری تفاوت معنی داری بین بخش C یا پروتئین خام نامحلول در شویندهی اسیدی وجود داشت. اثر دمای مختلف در فرآوری پر خام بر بخش C ($P < 0.01$) معنی داری بوده است، به طوری که فرآوری در دمای پایین تر (۱۰۰ درجه سانتی گراد) سبب کاهش بخش C یا پروتئین خام نامحلول در شویندهی اسیدی پر خام فرآوری شد. افزودن سدیم متابی سولفیت و آنزیم پروتئاز در طی فرآوری پر خام اثر معنی داری بر بخش C یا همان پروتئین خام نامحلول در شویندهی اسیدی نداشت (جدول ۳). در راستای نتایج به دست آمده در این

پژوهش، Guevara-Mesa و همکاران (۲۰۱۱) نتایج تقریباً مشابهی برای بخش C (۲/۶۱ درصد پروتئین خام) برای پودر پر تجاری رایج ارائه دادند. علت بالا بودن بخش پروتئین غیرقابل دسترس که از نظر زیستی برای حیوان غیرقابل استفاده است (بخش C) در پر فرآوری شده در دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد احتمالاً به دلیل تغییر شکل پپتیدها با حرارت بالاتر بوده است که منجر به غیرقابل حل شدن و قرار دادن آنها در بخش رسوب کرده شده است. بخش پروتئین غیرقابل دسترس یا باند شده (بخش C) که در سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل در شکمبه غیرقابل تجزیه در نظر گرفته می شود رابطه ی مستقیمی با تخریب حرارتی پروتئین (Mjoun و همکاران، ۲۰۱۰) و پروتئین غیرقابل هضم (Plegge و همکاران، ۱۹۸۵) دارد. این بخش در برابر آنزیم های میکروبی و آنزیم های ترشحاتی از دستگاه گوارش مقاومت بالایی دارد و نقشی در تأمین احتیاجات اسید آمینه ای دام ندارد (Schwab و همکاران، ۲۰۰۷؛ Sniffen و همکاران، ۱۹۹۲). Tham و همکاران (۲۰۰۸) اثر دماهای مختلف فرآوری بر بخش های مختلف پروتئین مورد بررسی قرار دادند نتایج نشان داد که با افزایش دمای فرآوری (۱۰۰ درجه سانتی گراد) به طور معنی داری مقدار بخش C افزایش یافت. تیمار حرارتی اثر بخشی متفاوتی در کنجاله پروتئینی مختلف نشان داده است (Tham و همکاران، ۲۰۰۸). فرآوری در دمای بالا سبب تخریب پروتئین و نامحلول شدن بخش B_2 و افزایش بخش B_2 و C می شود. این فرآیند منجر به واکنش میلارد و تولید ترکیباتی با حلاطیت کمتر می شود (Calsamiglia و Stern، ۱۹۹۵؛ Licitra و همکاران، ۱۹۹۶).

¹ Bunte Salt

جدول ۳- اثر فراوری پر خام بر بخش های پروتئین براساس سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل (درصد پروتئین خام)

Table 3- Effect of raw feather processing on protein fractions based on cornell net carbohydrate and protein system (%CP)

Fractions	تیمارهای آزمایشی ^۱ (Experimental treatments)									
	خطای استاندارد میانگین									
	8	7	6	5	4	3	2	1		
بخش A (Fraction A) بخش B _۱ (Fraction B ₁) بخش B _۲ (Fraction B ₂) بخش B _۳ (Fraction B ₃) بخش C (Fraction C) NDICP ADICP	3.60 ^b	3.75 ^b	3.61 ^b	3.61 ^b	3.35 ^a	3.34 ^a	3.57 ^b	3.33 ^a		
	0.055	0.052	0.052	0.052	0.052	0.052	0.052	0.052		
	84.03	85.52	84.84	89.31	82.71	85.67	83.90	87.95		
	0.739	0.739	0.739	0.739	0.739	0.739	0.739	0.739		
	1.2 ^b	2.06 ^a	1.46 ^b	1.43 ^b	1.20 ^b	1.99 ^a	1.53 ^b	1.93 ^a		
	0.039	0.039	0.039	0.039	0.039	0.039	0.039	0.039		
	1.13 ^c	1.70 ^b	1.27 ^{bc}	1.33 ^{bc}	2.57 ^a	2.55 ^a	2.58 ^a	2.67 ^a		
	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054		
	2.33 ^b	2.76 ^b	2.73 ^b	2.76 ^a	3.77 ^a	4.54 ^a	4.11 ^a	4.61 ^a		
	0.091	0.091	0.091	0.091	0.091	0.091	0.091	0.091		
	1.13 ^c	1.70 ^b	1.27 ^{bc}	1.33 ^{bc}	2.57 ^a	2.55 ^a	2.58 ^a	2.67 ^a		
	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054		

abc,d The mean of each row with different letters have significant difference ($P < 0.05$).

۱. تیمارهای آزمایشی: ۱) پر خام اتوکلاو شده در دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد و فشار ۲ کیلوپاسکال به مدت ۲۰ دقیقه، ۲) پر خام اتوکلاو شده در دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد و فشار ۲ کیلوپاسکال به مدت ۲۰ دقیقه، ۳) پر خام اتوکلاو شده در دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد و فشار ۲ کیلوپاسکال به مدت ۲۰ دقیقه، ۴) پر خام اتوکلاو شده در دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد و فشار ۲ کیلوپاسکال به مدت ۲۰ دقیقه، ۵) پر خام اتوکلاو شده در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد و فشار ۲ کیلوپاسکال به مدت ۲۰ دقیقه، ۶) پر خام اتوکلاو شده در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد و فشار ۲ کیلوپاسکال به مدت ۲۰ دقیقه، ۷) پر خام اتوکلاو شده در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد و فشار ۲ کیلوپاسکال به مدت ۲۰ دقیقه، ۸) پر خام اتوکلاو شده در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد و فشار ۲ کیلوپاسکال به مدت ۲۰ دقیقه، ۹) پر خام اتوکلاو شده در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد و فشار ۲ کیلوپاسکال به مدت ۲۰ دقیقه، ۱۰) پر خام اتوکلاو شده در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد و فشار ۲ کیلوپاسکال به مدت ۲۰ دقیقه.

Experimental treatments: 1) raw feathers autoclaved at 120°C and 2 kPa pressure for 20 minutes 2) raw feathers autoclaved at 120°C and 2 kPa pressure for 20 minutes 3) raw feathers autoclaved at 120°C and 2 kPa pressure for 20 minutes 4) raw feathers autoclaved at 120°C and 2 kPa pressure for 20 minutes 5) raw feathers autoclaved at 100°C and 2 kPa pressure for 20 minutes 6) raw feathers autoclaved at 100°C and 2 kPa pressure for 20 minutes 7) raw feathers autoclaved at 100°C and 2 kPa pressure for 20 minutes 8) raw feathers autoclaved at 100°C and 2 kPa pressure for 20 minutes 9) raw feathers autoclaved at 100°C and 2 kPa pressure for 20 minutes 10) raw feathers autoclaved at 100°C and 2 kPa pressure for 20 minutes.

A: effect of temperature; B: effect of sodium metabisulfite addition; C: the effect of protease enzyme addition; AB: interaction effect between factors A and B; AC: interaction effect between factors A and C; BC: interaction effect between factors B and C; ABC: interaction effect of three factors A, B and C.

کاهش پروتئین محلول در این پژوهش می‌تواند به دلیل افزایش پروتئین خام نامحلول در شوینده‌ی خشتی و پروتئین خام نامحلول در شوینده‌ی اسیدی در تیمارهای فرآوری شده در دمای بالا باشد. به‌طور معمول، تیمارهای حرارتی ممکن است پروتئین خام نامحلول در شوینده‌ی خشتی را افزایش دهد، اما تأثیر آن بر پروتئین خام نامحلول در شوینده‌ی اسیدی بسته به تفاوت در محتوی و ترکیب الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و الیاف نامحلول در شوینده‌ی خشتی، محتوی پروتئین خام خوراک و بخش‌های آن، محتوی پروتئین محلول، همراه با نوع و مدت حرارت دادن متغیر است (Rafiee-Yarandi و همکاران، ۲۰۱۶). برخی گزارش‌ها بازیابی پروتئین‌های کمتر محلول و دنا توره شده حرارتی را در الیاف نامحلول در شوینده‌ی خشتی نشان دادند، اما بازیابی پروتئین در بخش الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ممکن است به گرمای بالاتری نسبت به آنچه برای افزایش پروتئین خام نامحلول در شوینده‌ی خشتی نیاز است نیاز داشته باشد (Waltz و همکاران، ۱۹۸۹).

نتیجه‌گیری کلی

طبق نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان دریافت که استفاده از سدیم متابی سولفیت در فرآوری پر خام

سبب افزایش بخش B_۱ و کاهش بخش B_۳ و همچنین افزودن آنزیم پروتئاز در فرآوری پر خام، سبب افزایش مقدار نیتروژن فرار کل و همچنین بخش B_۱ می‌شود. همچنین نتایج نشان داد که فرآوری در دمای پایین‌تر (۱۰۰ درجه سانتی‌گراد) سبب کاهش بخش C پروتئین یا همان پروتئین خام نامحلول در شوینده‌ی اسیدی پر خام فرآوری شده می‌شود. با توجه به عدم تفاوت در ترکیبات شیمیایی در بین تیمارها و همچنین افزایش بخش محلول و کاهش بخش نامحلول پروتئین در تیمارهای فرآوری شده در دمای پایین‌تر (۱۰۰ درجه سانتی‌گراد) همراه با آنزیم پروتئاز و عوامل احیاکننده، تیمار هشتم یعنی پر خام اتوکلاو شده در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۲ کیلوپاسکال به مدت ۲۰ دقیقه تیمار شده با ۰/۲۵ درصد سدیم متابی سولفیت و ۰/۱۵ درصد آنزیم پروتئاز یکی از جایگزین‌های مورد استفاده برای کاهش اثرات منفی گرم شدن بیش از حد پودر پر، بهبود کیفیت فرآورده نهایی و صرفه‌جویی در انرژی خواهد بود. لذا توصیه می‌شود برای فرآوری صنعتی و کاربردی پر خام فرایند اتوکلاو کردن در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد با فشار ۲ کیلوپاسکال به مدت ۲۰ دقیقه همراه با سدیم متابی سولفیت و آنزیم پروتئاز استفاده شود.

References

- Abedian Kenari, A., & Motamedzadegan, A. (2019). Evaluation of apparent protein and amino acids digestibility of some animal and plant proteins in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt 1869) diet. *Fisheries Science and Technology*, 8(2), 83-89.
- Achmad, W. (2001). *Potential of Agroindustry Waste as Cow Dieting* Bogor Agricultural University.
- Aderibigbe, A., & Church, D. (1983). Feather and hair meals for ruminants. I. Effect of degree of processing on utilization of feather meal. *Journal of Animal Science*, 56(5), 1198-1207.
- Alzueta, C., Caballero, R., Rebole, A., Trevino, J., & Gil, A. (2001). Crude protein fractions in common vetch (*Vicia sativa* L.) fresh forage during pod filling. *Journal of Animal Science*, 79(9) 2449-2455.
- AOAC. (2005). *Official Method of Analysis* (15th Edn ed.) .
- Barbour, G., Werling, M., Yersin, A., & Lilburn, M. (2002). The effect of enzyme predigestion on the nutritional quality of prepressed turkey feather meal. *Poultry Science*, 81(7), 1032-1037.

- Beddows, C. G., Ardeshtir, A. G., & Daud, W. J. B. (1980). Development and origin of the volatile fatty acids in budu. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 31(1), 86-92.
- Beketov, S. V., Kozlov, A. V., Gorbunov, O. V., & Golovacheva, N. A. (2020). Development of an integrated approach to assessing the sanitary quality of feed for fur-bearing animals. *BIO Web of Conferences* ,
- Bekhit, A. E.-D. A., Holman, B. W., Giteru, S. G., & Hopkins, D. L. (2021). Total volatile basic nitrogen (TVB-N) and its role in meat spoilage: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 109, 280-302.
- Bielorai, R., Iosif, B., Neumark, H., & Alumot, E. (1982). Low nutritional value of feather-meal protein for chicks. *The Journal of Nutrition*, 112(2), 249-254.
- Bockle, B., & Muller, R. (1997). Reduction of disulfide bonds by *Streptomyces pactum* during growth on chicken feathers. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(2), 790-792.
- Bongaarts, J. (2009). Human population growth and the demographic transition. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1532), 2985-2990.
- Brandelli, A., Sala, L., & Kalil, S. J. (2015). Microbial enzymes for bioconversion of poultry waste into added-value products. *Food Research International*, 73, 3-12.
- Calsamiglia, S., & Stern, M. D. (1995). A three-step in vitro procedure for estimating intestinal digestion of protein in ruminants. *Journal of Animal Science*, 73(5), 1459-1465.
- Cheong, C. W., Ahmad, S. A., Ooi, P. T., & Phang, L. Y. (2017). Treatments of Chicken Feather Waste. *Pertanika Journal of Scholarly Research Reviews*, 3(1).
- Considine, M. (2000). New enzyme technologies for poultry by-products. *Australian Poultry Science Symposium* ,
- Da Silva, R. R. (2018). Keratinases as an alternative method designed to solve keratin disposal on the environment: its relevance on agricultural and environmental chemistry. In: ACS Publications.
- Damodaran, S., Parkin, K. L., & Fennema, O. R. (2007). *Fennema's Food Chemistry*. CRC press .
- Davídek, J., Velíšek, J., & Pokorný, J. (1990). *Chemical Changes During Food Processing* .
- Davies, S. J., Gouveia, A., Laporte, J., Woodgate, S. L., & Nates, S. (2009). Nutrient digestibility profile of premium (category III grade) animal protein by-products for temperate marine fish species (European sea bass, gilthead sea bream and turbot). *Aquaculture Research*, 40(15), 1759-1769.
- Eslahi, N., Dadashian, F., & Nejad, N. H. (2013). An investigation on keratin extraction from wool and feather waste by enzymatic hydrolysis. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 43(7), 624-648.
- Etienne, M. (2005). Volatile amines as criteria for chemical quality assessment. *Seafoodplus traceability* .
- Gokoglu, N., & Yerlikaya, P. (2008). Inhibition effects of grape seed extracts on melanosis formation in shrimp (*Parapenaeus longirostris*). *International Journal of Food Science and Technology*, 43(6), 1004-1008.
- Guevara-Mesa, A. L., Miranda-Romero, L. A., Ramírez-Bribiesca, J., González-Muñoz, S., Crosby-Galvan, M. M., Hernandez-Calva, L. M., & Del Razo-Rodriguez, O. E. (2011). Protein fractions and in vitro fermentation of protein feeds for ruminants. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14(2), 421-429 .
- Hollingsworth, T., & Wekell, M. (1997). *Association of Official Analytical Chemistry (AOAC).D.C., USA*, 2, 869-870 .
- Kang, D., Herschend, J., Al-Soud, W. A., Mortensen, M. S., Gonzalo, M., Jacquiod, S., & Sørensen, S. J. (2018). Enrichment and characterization of an environmental microbial consortium displaying efficient keratinolytic activity. *Bioresource Technology*, 270, 303-310.
- Kumar, D. M., Priya, P., Balasundari, S. N., Devi, G., Rebecca, A. I. N., & Kalaichelvan, P. (2012). Production and optimization of feather protein hydrolysate from *Bacillus* sp. MPTK6 and its antioxidant potential. *Middle-east Journal of Scientific Research*, 11(7), 900-907 .

- Laporte, J. (2007). Nutritional evaluation of animal by-products for the partial replacement of fishmeal in diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.).
- Li, Q. (2019). Progress in microbial degradation of feather waste. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2717.
- Licitra, G., Hernandez, T., & Van Soest, P. (1996). Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 57(4), 347-358.
- Ljøkjel, K., Harstad, O. M., & Skrede, A. (2000). Effect of heat treatment of soybean meal and fish meal on amino acid digestibility in mink and dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 84(1-2), 83-95.
- Machado, G. S., Correa, A. P. F., Pires, P. G. d. S., Marconatto, L., Brandelli, A., Kessler, A. d. M., & Trevizan, L. (2021). Determination of the Nutritional Value of Diet Containing *Bacillus subtilis* Hydrolyzed Feather Meal in Adult Dogs. *Animals*, 11(12), 3553.
- Maghraby, O., Hassouba, M., & El-Mossalami, E. (2013). Effect of methodology on the determination of total volatile basic nitrogen as an index of quality of meat and fish. *Egyptian Journal of Food Safety*, 1(1), 23-34.
- Malle, P., & Poumeyrol, M. (1989). A new chemical criterion for the quality control of fish: trimethylamine/total volatile basic nitrogen (%). *Journal of Food Protection*, 52(6), 419-423.
- Manczinger, L., Rozs, M., Vágvölgyi, C., & Kevei, F. (2003). Isolation and characterization of a new keratinolytic *Bacillus licheniformis* strain. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19, 35-39.
- Manju, S., Gopal, T. S., Jose, L., Ravishankar, C., & Kumar, K. A. (2007). Nucleotide degradation of sodium acetate and potassium sorbate dip treated and vacuum packed Black Pomfret (*Parastromateus niger*) and Pearlscale (*Europlus suratensis*) during chill storage. *Food chemistry*, 102(3), 699-706.
- McKinnon, J., Olubobokun, J., Mustafa, A., Cohen, R., & Christensen, D. (1995). Influence of dry heat treatment of canola meal on site and extent of nutrient disappearance in ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 56(4-3), 243-252.
- Mjoun, K., Kalscheur, K., Hippen, A., & Schingoethe, D. (2010). Ruminant degradability and intestinal digestibility of protein and amino acids in soybean and corn distillers grains products. *Journal of Dairy Science*, 93(9), 4144-4154.
- Mustafa, A., McKinnon, J., & Christensen, D. (1999). Effect of moist heat treatment on in-vitro degradability and ruminal escape protein and amino acids of mustard meal. *Animal Feed Science and Technology*, 76(3-4), 265-274.
- Nasri, M. F., France, J., Mesgaran, M. D., & Kebreab, E. (2008). Effect of heat processing on ruminal degradability and intestinal disappearance of nitrogen and amino acids in Iranian whole soybean. *Livestock Science*, 113(1), 43-51.
- NRC. (2000). Nutrient requirements of beef cattle. Seventh. In: The National Academies Press, editor. Washington, DC.
- Özoğul, F., & Özoğul, Y. (2000). Comparison of methods used for determination of total volatile basic nitrogen (TVB-N) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turkish Journal of Zoology*, 24(1), 113-120.
- Pacheco, G. F. E., Pezzali, J. G., Kessler, A. d. M., & Trevizan, L. (2016). Inclusion of exogenous enzymes to feathers during processing on the digestible energy content of feather meal for adult dogs. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 45(6), 288-294.
- Pedersen, M. B., Yu, S., Plumstead, P., & Dalsgaard, S. (2012). Comparison of four feed proteases for improvement of nutritive value of poultry feather meal. *Journal of Animal Science*, 90(4), 350-352.
- Pfeuti, G. (2017). Improving and characterizing the nutritive value of feather meal using rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) as a biological model: Insights into determinants of digestibility of proteins University of Guelph.
- Plegge, S., Berger, L., & Fahey Jr, G. (1985). Effect of roasting temperature on the proportion of soybean meal nitrogen escaping degradation in the rumen. *Journal of Animal Science*, 61(5), 1211-1218.

- Rafiee-Yarandi, H., Ghorbani, G. R., Alikhani, M., Sadeghi-Sefidmazgi, A., & Drackley, J. K. (2016). A comparison of the effect of soybeans roasted at different temperatures versus calcium salts of fatty acids on performance and milk fatty acid composition of mid-lactation Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 99(7), 5422-5435.
- Ramnani, P., & Gupta, R. (2007). Keratinases vis-à-vis conventional proteases and feather degradation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23, 1537-1540.
- Riquixo, C. (1998). Evaluation of suitable chemical methods for seafood products in Mozambique. *United Nation University Fisheries Training Programme*, 58.
- Ruiz-Capillas, C., & Moral, A. (2004). Free amino acids and biogenic amines in red and white muscle of tuna stored in controlled atmospheres. *Journal of Amino Acids*, 26, 125-132.
- Schwab, C., Boucher, S., & Sloan, B. (2007). Metabolizable protein and amino acid nutrition of the cow: Where are we in 2007. Proceedings of the 68th annual minnesota nutrition conference ,
- Serwata, R. D. (2007). Nutritional evaluation of rendered animal by products and blends as suitable partial alternatives for fishmeal in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) .
- Sniffen, C. J., O'connor, J., Van Soest, P. J., Fox, D. G., & Russell, J. (1992). A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *Journal of Animal Science*, 70(11), 3562-3577.
- Tham, H. T., Man, N., & Preston, T. (2008). Estimates of protein fractions of various heat-treated feeds in ruminant production. *Livestock Research for Rural Development*, 20.
- Van Soest, P. (1994). *Nutritional Ecology of The Ruminant* (Vol. 476). Cornell University Press.
- Verma, A., Singh, H., Anwar, S., Chattopadhyay, A., Tiwari, K. K., Kaur, S., & Dhillon, G. S. (2017). Microbial keratinases: industrial enzymes with waste management potential. *Critical Reviews in Biotechnology*, 37(4), 476-491.
- Waltz, D., Stern, M., & Illg, D. (1989). Effect of ruminal protein degradation of blood meal and feather meal on the intestinal amino acid supply to lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 72(6), 1509-1518.
- Wang, X., Shi, Z., Zhao, Q., & Yuh, Y. (2021). Study on the structure and properties of biofunctional keratin from rabbit hair. *Materials*, 14(2), 379.
- Wrześniewska-Tosik, K., & Adamiec, J. (2007). Biocomposites with a content of keratin from chicken feathers. *Fibres & Textiles in Eastern Europe*, 15(1), 60.
- Yamamura, S., Morita, Y., Hasan, Q., Yokoyama, K., & Tamiya, E. (2002). Keratin degradation: a cooperative action of two enzymes from *Stenotrophomonas* sp. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 294(5), 1138-1143.
- Yu, P. (2005). Protein secondary structures (α -helix and β -sheet) at a cellular level and protein fractions in relation to rumen degradation behaviours of protein: a new approach. *British journal of nutrition*, 94(5), 655-665.
- Zhao, G., Xue, Y., Li, Y., & Zhang, W. (2008). The estimation of duodenal utilizable true protein in sheep fed mixed rations using the nitrogenous fractions of the Cornell Net Carbohydrate and Protein System. *Small Ruminant Research*, 76(3), 190-194.