مجموعه مقالات
چهارمین همایش ملی کاربرد فناوری هسته‌ای در علوم کشاورزی و منابع طبیعی
(۲۹-۳۰ اردیبهشت، ۱۳۹٤، پژوهشکده کشاورزی هسته ای)
The 4th National Congress on Nuclear Technology Application in Agricultural & Natural Resource Sciences (19-20 May, 2015, Nuclear Agriculture Research School)

مقایسه اثر دزهای مختلف پرتوی گاما و تخمیر بر ارزش غذایی کنجاله سویا مورد استفاده در جیره ماهیان

ابراهیم ستوده[۱]، غلامرضا شاه حسینی*[۲]، جمشید امیری مقدم[۳]، علیرضا نیسی[۳]
۱. عضو هیأت علمی دانشگاه خلیج فارس، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی
*۲. عضو هیأت علمی پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای
۳. کارشناس ارشد، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای
نویسنده مسئول:*gshahhosseini@nrcam.org

چکیده: سویا به عنوان یکی از منابع پروتئینی در خوراک آبزیان می باشد که حاوی عوامل ضد تغذیه‌ای زیادی مانند لکتین و مهار کننده‌های تریپسین است که باعث کاهش عملکرد رشد ماهیان می‌گردد. این تحقیق اثرات پرتو گاما، تخمیر (*Saccharomyces cerevisiae*) و اثر ترکیبی این دو روش بر کمیت و کیفیت سویا به منظور استفاده از کنجاله آن در جیره ماهیان را مورد بررسی قرار داد. برای این منظور کنجاله سویا با پنج روش شامل: تیمار شاهد (کنجاله سویای تیمار نشده)، پرتو گاما در دزهای ۱۵ (ISB ۱۵)، ۳۰ کیلوگری (ISB ۳۰)، تخمیر (FSB) و ترکیبی از پرتو گاما و تخمیر (IFSB ۱۵) تمیار شد و تغییرات پروتئین خام، ترکیب اسیدهای آمینه و الکتروفورز (SDS-PAGE) پروتئین‌های آن مورد ارزیابی قرار گرفت. بر طبق نتایج بدست آمده پرتودهی سویا تاثیری بر میزان پروتئین خام و ترکیب اسیدهای آمینه و کیفیت پروتئین آن ندارد، با این حال استفاده از تخمیر یا ترکیبی از تخمیر و پرتو دهی باعث افزایش پروتئین سویا می‌گردد. در مجموع نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که پرتو گاما و تخمیر می‌تواند به عنوان یک رویکرد جدید به منظور کاهش مواد ضد مغذی و ارتقاء ارزش تغذیه‌ای کنجاله سویا برای استفاده در جیره ماهیان بکارگرفته شود.

واژگان کلیدی: پرتو گاما، تخمیر، کنجاله سویا، تغذیه ماهیان، مواد ضد تغذیه‌ای

Comparison of gamma irradiation and fermentation on nutritional value of soybean meal for fish

E. Sotoudeh[1], G. Shahhosseini[2] *, J. Amirimoghaddam[2], A. Neissi[2]
Nuclear Agriculture Research School – Nuclear Science and Technology Research Institute[1], Agriculture and natural Recourses Department - Persian Gulf University[2]
*gshahhosseini@nrcam.org

Abstract: Soybean is a protein source in fish meal. Soy bean have anti-nutritional factors such as lectins and trypsin that decrease growth performance of fish. This study examined the effects of radiation (gamma ray), fermentation (*Saccharomyces cerevisiae*) and the combined effect of these two methods on quantity and quality of this protein source for use in fish diets. For this purpose, soybean meal with five treatments including: Control (untreated soybean meal), gamma rays at doses of 15 (15ISB) kGy, 30 (30ISB) kGy, fermented (FSB) and the combination of gamma and fermentation (IFSB 15) were treated and changes in crude protein, amino acid composition and electrophoresis (SDS-PAGE) of proteins was studied. The results showed that irradiation of soy had no effect on its crude protein, amino acid composition and protein quality. However, use of fermentation or combination of fermentation and irradiation increased soy protein. Generally these results suggest that gamma irradiation and fermentation can be used as a new approach to reduce anti-nutrients and enhance the nutritional value of soybean meal for fish diets.

Keywords: Gamma rays, Fermentation, Soybean meal, Fish feeding, Anti-Nutritional substances

مقدمه

پودر ماهی به علت قابلیت هضم بالا، ترکیب اسیدهای آمینه و اسید چرب ضروری بسیار عالی به عنوان عمده‌ترین منبع پروتئینی مورد استفاده در جیره ماهیان پرورشی می‌باشد. با وجود این ویژگی‌های منحصر به فرد، این منبع پروتئینی یکی ازگران قیمت ترین مواد تشکیل دهنده خوراک تجاری محسوب می‌شود [1]. پیش بینی می‌شود در آینده نزدیک به دلیل ثابت شدن یا کاهش صید قیمت پودر ماهی در بازار جهانی افزایش پیدا کند. بنابراین، کاهش سطح استفاده از پودر ماهی در جیره و تلاش برای پیدا کردن جایگزین‌های مناسب برای پودر ماهی از اولویت‌های تحقیقاتی بین‌المللی در صنعت آبزی-پروری است [2].

در مقایسه با دیگر منابع پروتئینی گیاهی، سویا به دلیل حجم بالای تولید، قیمت مناسب، پروتئین بالا، اسیدهای آمینه نسبتاً متعادل و قابلیت هضم بالا یکی از موفق‌ترین گزینه‌ها برای جایگزینی پودر ماهی است [3, 4]. با این حال عدم تعادل اسیدهای آمینه، یکی از محدودیت‌های پروتئین سویا است که با احتیاجات ماهیان پرورشی مطابقت ندارد [5]. از سوی دیگر حضور عوامل ضد تغذیه‌ای متعددی مثل مهار کننده‌های آنزیم‌های تریپسین، کیموتریپسین و الفا-آمیلاز، لکتین و فیتات‌ها، استفاده از این منبع پروتئینی را محدود ساخته است. به منظور غیر فعال‌سازی و یا کاهش مواد ضد مواد مغذی روش‌های فرآوری مختلفی مانند حرارت دادن، جوشاندن، غوطه‌ورسازی در آب، استفاده از قلیا و اسید، استخراج با حلال و تخمیر استفاده می‌شود [6, 7, 8]. با این حال، هیچ یک از این روش‌ها قادر به حذف کامل مواد ضد تغذیه‌ای نمی‌باشند. اما به طور کلی استفاده ترکیبی از چند روش در حذف این مواد موثرتر است و هر یک از روش‌های فوق مزایا و معایب خاص خود را دارند. یکی از روش‌های جدیدتر مورد استفاده در کاهش مواد ضد مغذی استفاده از پرتوهای یونیزان می‌باشد که برای از بین بردن آلودگی غذا با کشتن باکتری‌ها، حشرات و دیگر عوامل بیماری‌زا جهت افزایش ماندگاری مواد غذایی تازه و خشک استفاده می‌شود [9]. از آنجا عناصر تولید کننده پرتو گاما فرآورده تجزیه اتمی بوده و جزء ضایعات اتمی محسوب می‌شود، پرتو مذکور ارزان بوده و از قدرت نفوذ بسیار مناسبی برخوردار است [10]. پرتودهی باعث تغییرات شیمیایی غذاها می‌شوند که این تغییرات به طور مستقیم وابسته به دز پرتو می‌باشد. این تغیرات ناشی از بروز واکنش‌هایی مثل اکسیداسیون فلزات و یونها، اکسیداسیون و کاهش کربونیل‌ها ، حذف پیوندهای دوگانه، کاهش پیوند آروماتیکی در ترکیبات آروماتیکی و هتروسیکلیکی و هیدروکسیلاسیون ترکیبات آروماتیکی و هتروسیکلیکی می‌باشد [11]. بنابراین هدف پژوهش حاضر بررسی اثر تابش دزهای مختلف پرتوی گاما و تخمیر کنجاله سویا به عنوان یک منبع پروتئینی مناسب در جیره ماهی ماهی با تاکید بر حفظ کیفیت پروتئین می باشد.

مواد و روش ها

در ابتدا کنجاله سویای موجود در بازار تهیه و با استفاده از آسیاب برقی پودر شد. میزان پروتئین خام کنجاله سویا با استفاده از روش AOAC (۱۹۹۵) [12] تعیین شد. جهت انجام پرتودهی ابتدا رطوبت کنجاله سویا به ۲۵ درصد رسانیده شد و پرتودهی بوسیله دستگاه گاماسل (مدل PX-30-IssIedovapel, Russia) با نرخ دز ۰/۲۲ گری در ثانیه با دزهای

۱۵ و ۳۰ کیلوگری در میدان پرتوهای گامای کبالت ۶۰ صورت گرفت. میزان پرتو جذب شده با استفاده از سیستم استاندارد Fricke اندازه‌گیری شد. عملیات پرتودهی در پژوهشکده کشاورزی، پزشکی و صنعتی هسته‌ای کرج انجام شد.

برای انجام تخمیر در تیمار مربوطه ابتدا مخمر ساکارومایسس سرویزیه (*Saccharomyces cerevisiae*) در محلول گلوکز به مدت ۴۵ دقیقه فعال گردید و سپس درون ارلن‌های ۵ لیتری اتوکلاو شده و به خمیر سویا اضافه گردید به نحوی که رطوبت آن ۵۰ درصد بود. سپس به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه تخمیر صورت گرفت. در انتها خمیر بالا آمده جهت ساخت جیره مورد استفاده قرار گرفت. بدین ترتیب پنج تیمار تهیه و به صورت زیر نامگذاری شدند: گروه شاهد (کنجاله سویای تیمار نشده)، ISB ۱۵ و ISB ۳۰ (به ترتیب کنجاله سویای تیمار شده با دزهای ۱۵ و ۳۰ کیلوگری پرتو گاما)، FSB (کنجاله سویای تخمیر شده) و IFSB ۱۵ (کنجاله سویای تخمیر شده و پرتودهی شده با دز ۱۵ کیلوگری).

برای تعیین ترکیب اسیدهای آمینه سویا، نمونه هایی که قبلاً در دستگاه فریز درایر (مدل Operon-Model:OPRFDU 7012)، خشک شده بود را در لوله‌های هضم ریخته و اسید کلریدریک ۶ نرمال به آن اضافه شد. پس از انجام اشتقاق اسیدهای آمینه، برای شناسایی اسیدهای آمینه ۲۰ میکرولیتر از ترکیب نهایی توسط سرنگ مخصوص به دستگاه HPLC (Wissenschaftliche Gerätebau, Germany) مجهز به آشکارساز فلوروسنت (excitation 330 nm, emission 450 nm) تزریق شد. برای جداسازی و بررسی پروتئین‌های هر یک از تیمارها از روش الکتروفورز پلی اکریل آمید (SDS-PAGE یا Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis) استفاده شد. پس از استخراج پروتئین، ۳۰ میکرولیتر از نمونه‌ها در چاهک‌های ژل الکتروفورز لود شد.

تجزیه و تحلیل آماری نتایج

قبل از تجزیه تحلیل، نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smironov مورد ارزیابی قرار گرفت. برای مقایسه کلی داده‌ها از روش آنالیز واریانس یک طرفه One-way-ANOVA استفاده گردید. برای مقایسه‌ی میانگین‌ها از آزمون آماری Duncan در سطح اعتماد ۹۵ درصد استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS 18 انجام شد.

نتایج

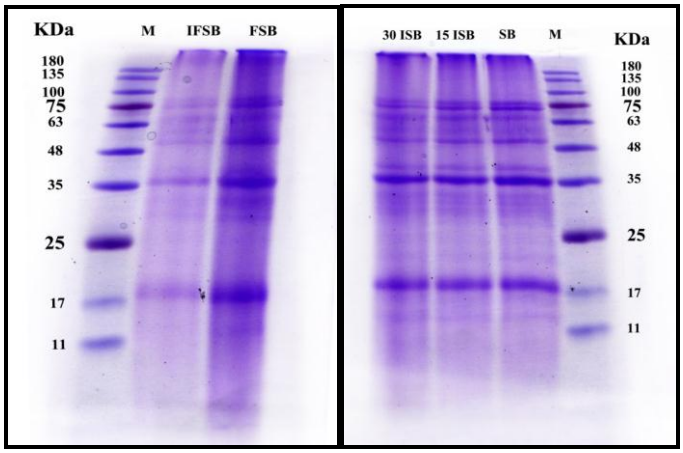
میزان پروتئین خام و ترکیب اسیدهای آمینه کنجاله سویا تیمار شده با دزهای مختلف پرتو گاما و تخمیر ساکارومایسس سرویزیه در جدول ۱ آورده شده است. نتایج این بررسی نشان داد میزان پروتئین خام کنجاله سویای تخمیر شده و یا تیمار شده ترکیبی از دو روش تخمیر و پرتودهی به طور معنی داری نسبت به دزهای ۱۵ و ۳۰ کیلوگری بالاتر است. نتایج حاصل از آنالیز آماری اسیدهای آمینه کنجاله سویا نشان داد در بین اسیدهای آمینه ضروری ایزولوسین، متیونین، تائورین و والین تغییرات معنی‌داری نشان دادند. در بین اسیدهای آمینه غیر ضروری نیز اسیدهای آمینه آلانین، آسپارتیک اسید و گلوتامیک اسید تغییرات معنی‌داری داشتند.

جدول ۱ میزان پروتئین خام و ترکیب اسیدهای آمینه (درصد) پودر سویا تحت تاثیر تیمارهای مختلف پرتودهی و تخمیر

اسیدهای آمینه (درصد)	تیمارهای مختلف[1]				
	شاهد	۱۵ ISB	۳۰ ISB	FSB	FISB
پروتئین خام (٪)	۴۷/۱۶^{b}	۴۷/۵۸^{b}	۴۷/۵۲^{b}	۵۱/۸۲^{a}	۵۱/۶۹^{a}
اسیدهای آمینه ضروری (٪)					
آرژنین	۶/۲۸	۶/۳۶	۶/۴۲	۶/۰۸	۶/۲۵
هیستیدین	۱/۲۹	۱/۱۵	۱/۱۸	۱/۳۲	۱/۱۵
ایزولوسین	۵/۹۲^{b}	۶/۰^{b}	۶/۲۶^{b}	۷/۰۶^{a}	۶/۸۷^{a}
لوسین	۸/۱۷	۸/۱۵	۸/۵۷	۸/۲۴	۸/۳۱
لیزین	۱/۸۳	۱/۸۹	۱/۷۴	۱/۹۲	۱/۶۸
متیونین	۱/۱۵^{a}	۱/۰۸^{a}	۰/۹۲^{ab}	۰/۹۶^{ab}	۰/۷۱^{b}
فنیل آلانین	۴/۶۲	۴/۲۲	۴/۱۷	۴/۲۳	۴/۲۸
تائورین	۰/۱۴^{b}	۰/۰۸^{b}	۰/۱^{b}	۰/۲۵^{a}	۰/۱۲^{b}
والین	۶/۸^{b}	۶/۸^{b}	۷/۴۳^{a}	۶/۹۱^{b}	۶/۸۴^{b}
اسیدهای آمینه غیر ضروری (٪)					
آلانین	۶/۷۷^{b}	۶/۵۱^{b}	۶/۸۵^{b}	۷/۲۴^{a}	۶/۶۸^{b}
آسپارتیک اسید	۱۳/۲۶^{a}	۱۲/۸۶^{ab}	۱۳/۴۳^{a}	۱۱/۶۳^{b}	۱۲/۷۴^{ab}
گلوتامیک اسید	۱۹/۲۱^{ab}	۱۹/۸^{ab}	۲۱/۰۵^{a}	۱۷/۹۹^{b}	۱۹/۸۲^{a}
سرین	۸/۴۱	۸/۳۲	۹/۴۵	۹/۷۹	۸/۴۵
گلیسین	۵/۵۹	۵/۶۳	۶/۲۸	۶/۰۸	۵/۸۱
ترئونین	۵/۲	۴/۸	۴/۳۱	۵/۲۲	۵/۰۲
تیروزین	۲/۶۷	۲/۶۱	۲/۷	۲/۱۹	۲/۷۶

[1]شاهد (کنجاله سویای تیمار نشده)، ISB ۱۵ و ISB ۳۰ (به ترتیب کنجاله سویای تیمار شده با دزهای ۱۵ و ۳۰ کیلوگری پرتو گاما)، FSB (کنجاله سویای تخمیر شده) و IFSB (کنجاله سویای پرتودهی و تخمیر شده با دز ۱۵ کیلوگری).

بررسی الکتروفورزی پروتئین‌های کنجاله سویا نشان داد الگوی پروتئین‌ها در تیمارهای پرتودهی شده و تیماره تخمیر شده یکسان است. اما در تیمار IFSB (کنجاله سویای پرتودهی و تخمیر شده با دز ۱۵ کیلوگری) زیر واحد اسیدی و قلیایی گلایسینین با وزن مولکولی ۲۲ و ۳۸ کیلو دالتون کاهش یافت.



شکل ۱. الگوی الکتروفورز پروتئین‌های سویای تیمارهای مختلف. M (مارکر) ، SB (شاهد، کنجاله سویای تیمار نشده)، ISB ۱۵ و ISB ۳۰ (به ترتیب کنجاله سویای تیمار شده با دزهای ۱۵ و ۳۰ کیلوگری پرتو گاما)، FSB (کنجاله سویای تخمیر شده) و IFSB ۱۵ (کنجاله سویای تخمیر شده و پرتودهی شده با دز ۱۵ کیلوگری).

بحث

به طور کلی ترکیبات پروتئینی گیاهی مانند کنجاله سویا نسبت به منابع پروتئین حیوانی ارزان قیمت‌تر می‌باشند. با این حال وجود مواد ضد تغذیه‌ای مانند گلیسینین و بتا-کونگلایسینین استفاده از این منابع را محدود ساخته است. از این رو تحقیقات گسترده‌ای در زمینه بهبود ارزش تغذیه‌ای پودر سویا در جیره حیوانات و بویژه آبزیان انجام شده است. تا کنون از روش‌های مختلفی مانند حرارت دادن، جوشاندن، غوطه‌ور ساختن در آب، استفاده از قلیا و اسید، استخراج با حلال و تخمیر استفاده شده است. استفاده از پرتو گاما به عنوان یک روش جدید می‌تواند در ارتقاء کیفیت سویا موثر باشد. این پرتو از قدرت نفوذ بالایی برخوردار بوده و از آنجا که جزو ضایعات اتمی می‌باشد، ارزان قیمت است [10]. بررسی‌ها نشان می‌دهد تابش پرتو گاما می‌توانید برخی از عوامل ضد تغذیه‌ای در ترکیبات گیاهی را غیر فعال سازد [13]. چرا که این پرتو آبگریزی پروتئین را از طریق قرار دادن در معرض گروه غیر قطبی با از بین بردن پیچش‌ها ساختارهای پروتئین و دناتوراسیون افزایش می‌دهد [14]. همچنین تابش این پرتو می‌تواند قابلیت هضم مواد اولیه گیاه در مهره‌داران را بهبود بخشد [15]. در این پژوهش جنبه‌های دیگر تاثیرات پرتو گاما و اثر ترکیبی پرتودهی و تخمیر بر کیفیت پروتئین کنجاله سویا مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد استفاده از پرتوی گاما در دزهای ۱۵ و ۳۰ کیلوگری تاثیر معنی‌داری بر پروتئین خام و ترکیب اسیدهای آمینه و کیفیت پروتئین کنجاله سویا به عنوان یکی از اصلی‌ترین ترکیبات پروتئینی گیاهی در جیره ماهیان ندارد. اخیرا در یک مطالعه *invivo* Zhang و همکاران (۲۰۱۴) گزارش دادند که با پرتودهی کنجاله سویا با دز ۱۰۰ کیلوگری می‌توان میزان این

پروتئین گیاهی را تا میزان ۱۶ درصد جیره در جیره ماهی باس دریایی ژاپنی (*Lateolabrax japonicus*) افزایش داد[16]. این نتایج نشان می‌دهد استفاده از پرتو گاما علاوه بر کاهش مواد ضد مغذی سویا، فاقد اثرات منفی بر کمیت و کیفیت پروتئین سویا می‌باشد.

فرآیند تخمیر می‌تواند قابلیت هضم مواد مغذی را افزایش و عوامل ضد تغذیه‌ای پودر سویا را کاهش دهد [17]. علاوه بر این تخمیر پودر سویا با باکتری‌های اسید لاکتیکی (*C. utilis*) باعث افزایش قابل توجه پروتئین و چربی خام می‌گردد [18]. Zhou و همکاران گزارش کردند سویای در پودر سویای تخمیر شده مقادیر پایین‌تری از مواد ضد مغذی مانند اسید فیتیک، لکتین، و اوره‌آز در مقایسه با سویای غیر تخمیر شده وجود دارد[18] . نتایج این مطالعه نشان داد نخمیر سویا نه تنها باعث حفظ کیفیت پروتئین سویا می‌گردد، بلکه میزان پروتئین خام آن را نیز افزایش می‌دهد که این نتایج با تحقیقات Zhou و همکاران [18] همخوانی دارد. استفاده ترکیبی از تخمیر و پرتودهی باعث کاهش برخی از اسیدهای آمینه ضروری مثل متیونین، تائورین و به میزان کمتر والین گردید. نتایج ارزیابی کیفی پروتئین سویا نیز با نتایج آنالیز اسیدهای آمینه هم راستا بود. بطوریکه زیر واحد اسیدی و قلیایی گلایسینین با وزن مولکولی ۲۲ و ۳۸ کیلو دالتون کاهش یافت. زیر واحد با وزن ۳۸ کیلو دالتونی گلایسینین نسبت به سایر زیر واحدهای این پروتئین و بتا-کونگلایسینین از نظر دارا بودن اسیدهای آمینه گوگرددار مثل میتونین غنی‌تر است. در نتیجه می‌توان گفت احتمالا کاهش این اسید آمینه به دلیل کاهش زیر واحد ۳۸ کیلو دالتونی گلایسینین بوده است.

در مجموع نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که روش تخمیر و بکارگیری پرتو گاما می‌تواند به عنوان یک رویکرد جدید به منظور کاهش مواد ضد مغذی و ارتقاء ارزش تغذیه‌ای کنجاله سویا برای استفاده در جیره ماهیان بکارگرفته شود. چرا که کمیت و کیفیت پروتئین در این روش تقریباً حفظ گردیده و حتی در خصوص برخی از اسیدهای آمینه اندکی بهبود می‌یابند. با این حال استفاده ترکیبی از این دو روش (تخمیر و پرتودهی) برای این منظور نیازمند انجام مطالعات بیشتر می باشد.

منابع

1- S. J. Lim and K. J. Lee. "Partial replacement of fish meal by cottonseed meal and soybean meal with iron and phytase supplementation for parrot fish *Oplegnathus fasciatus*", Aquaculture. 290, 283–289 (2009).
2- H. Peres and A. Oliva-Teles, "The effect of dietary protein replacement by crystalline amino acid on growth and nitrogen utilization of turbot *Scophthalmus maximus* juveniles, Aquaculture. 250, 755–764 (2005).
3- B. J. Min, J. H. Cho, Y. J. Chen, H. J. Kim, Y. S. Yoo, C. Y. Lee, B. C. Park, J. H. Lee and I. H. Kim, "Effects of fermented soy protein on growth performance and blood protein contents in nursery pigs", Asian-Aust. J. Anim. Sci. 22, 1038-1042 (2009).
4- X. Ao, H. J. Kim, Q. Meng, W. L. Yan, J. H. Cho and I. H. Kim, "Effects of diet complexity and fermented soy protein on growth performance and apparent ileal amino acid digestibility in weanling pig", Asian-Aust. J. Anim. Sci. 23, 1496-1502 (2010).
5- E. A. Floreto, R. C. Bayer and P. B. Brown, "The effects of soybean-based diets, with and without amino acid supplementation, on growth and biochemical composition of juvenile American lobster, *Homarus americanus*", Aquaculture. 189, 211–235 (2000).
6- S. K. Sathe and D. K. Salunkhe, "Technology of removal of unwanted components of dry beans", Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 21, 263–287 (1984).

7- P. Siddhuraju and K. Becker, "Effect of various indigenous processing methods on alpha-galactoside, mono-and disaccharide content of an Indian tribal pulse, *Mucuna pruriens* var. utilis", Journal of the Science of Food and Agriculture. 81, 718–725 (2001).
8- A. F. B. Van der Poel, Effects of Processing on antinutrional factors (ANF) and nutritional value of legume seeds for non-ruminant feeding. In J. Huisman, A. F. B. van der Poel, & I. E. Liener (Eds.), Recent advances of research in antinutritional factors in legume seeds (pp. 213–229). (1989).
9- S. Thorne, "Food irradiation". London: Elsevier Applied Science. Tjaberg, T. B., Underdal, B., & Lunde, G. The effect of ionising radiation on the microbiological content and volatile constitutents of spices", Journal of Applied Bacteriology. 35, 473–478 (1991).
10- G. E. Lester and G. J. Hallman, "Γ-irradiation dose: effects on baby-leaf spinach ascorbic acid, carotenoids, folate, r-tocopherol, and phylloquinone concentrations", Journal of Agricultural and Food Chemistry. 58, 4901-4906 (2010).
11- P. Siddhuraju, H. P. S. Makkar and K. Becker, "The effect of ionizing radiation on antinutritional factors and the nutritional value of plant materials with reference to human and animal food", Food Chem. 78,185-205 (2002).
12- Association of Official Analytical Chemists, (AOAC), "Official methods of analysis of Official Analytical Chemists International", 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA. (1995).
13- A. Kumar, V. Dixit, A. Kumar, J. Rani, Manjaya, G and D. Bhatnagar, "Effect of gamma irradiation on lipoxygenases, trypsin inhibitor, raffinose family oligosaccharides and nutritional factors of different seed coat colored soybean (*Glycine max* L.)". Radiation Physics and Chemistry. 80(4), 597–603 (2011).
14- M. H. Gaber, "Effect of γ-irradiation on molecular properties of bovine serum albumin". J. Biosci. Bioengin. 100, 203-206 (2005).
15- F. Ghanbari, T. Ghoorchi, P. Shawrang, H. Mansouri and N.M. Torbati-Nejad, "Comparison of electron beam and gamma ray irradiations effects on ruminal crude protein and amino acid degradation kinetics, and in vitro digestibility of cottonseed meal". Radiat. Phys. Chem. 81, 672–678 (2012).
16- Y. Q. Zhang, Y. B. Wu, D. L. Jiang, J. G. Qin and Y. Wang, "Gamma-irradiated soybean meal replaced more fish meal in the diets of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*)". Animal Feed Science and Technology, 197, 155–163 (2014).
17- K. J. Hong, C. H. Lee and S. W. Kim, "Aspergillus oryzae GB-107 fermentation improves nutritional quality of food soybeans and feed soybean meals". J. Med. Food. 7, 430-436 (2004).
18- F. Zhou, W. Song, Q. Shao, X. Peng and J. Xiao, "Partial Replacement of Fish Meal by Fermented Soybean Meal in Diets for Black Sea Bream, *Acanthopagrus schlegelii*, Juveniles". Journal of the World Aquaculture Society, 42(2), 184–197 (2011).