

## تعیین ترکیب شیمیایی و فراسنجه‌های تولید گاز دانه ماشک، خلر و گاودانه با استفاده از روش تولید گاز

شهرام میرشادی<sup>۱\*</sup>، اکبر تقی‌زاده<sup>۲</sup> و بیژن نویدگبلو<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۵/۳/۱۷

<sup>۱</sup> دانش آموخته کارشناس ارشد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

<sup>۲</sup> استاد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

<sup>۳</sup> دانش آموخته کارشناس ارشد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی

\*مسئول مکاتبه: Email: shahrammirshadi@yahoo.com

### چکیده

زمینه مطالعه: ترکیب شیمیایی دانه‌ها می‌تواند بر تخمیرپذیری آنها در دستگاه گوارش موثر باشد. هدف: این تحقیق به منظور تعیین ترکیب شیمیایی و فراسنجه‌های تولید گاز دانه ماشک، خلر و گاودانه در شهرستان تبریز صورت گرفت. روش کار: داده‌های بدست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. نتایج: دانه‌های ماشک، خلر و گاودانه از لحاظ پروتئین خام به ترتیب ۳۰/۰۶، ۲۸/۵۲ و ۲۳/۲۹ درصد ماده خشک، NDF (دیواره سلولی) ۳۴/۵۵، ۳۱/۷۷ و ۳۰/۶۵ درصد ماده خشک و خاکستر ۳/۶۸، ۴/۳۲ و ۳/۰۵ درصد بودند. در بین دانه‌های آزمایشی دانه گاودانه با پتانسیل تولید گاز ۲۷۸/۱۹ میلی‌لیتر، نرخ تولید گاز ۰/۱۰۶ میلی‌لیتر بر ساعت، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر ۱۱/۲۲ میلی‌مول و انرژی قابل متابولیسم ۹/۲۴ مگاژول بر کیلوگرم دارای بالاترین پارامترهای تخمیری و دانه ماشک با پتانسیل تولید گاز ۲۶۳/۲۲ میلی‌لیتر، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر ۱۰/۴۸ میلی‌مول و انرژی قابل متابولیسم ۸/۷۹ مگاژول بر کیلوگرم دارای کمترین بود. دانه گاودانه نسبت به سایر دانه‌های مورد آزمایش به دلیل ویژگی‌های تخمیر و ترکیبات شیمیایی از ارزش غذایی بالاتری برخوردار می‌باشد. نتیجه‌گیری نهایی: نتایج این مطالعه نشان داد که دانه‌های مورد آزمایش یک منبع مناسب پروتئین برای نشخوارکنندگان می‌باشند.

واژگان کلیدی: تولید گاز، خلر، فراسنجه‌های تخمیر، گاودانه، ماشک

### مقدمه

سه برابر دانه‌های غلات می‌باشد و از آنها می‌توان به عنوان مکمل پروتئینی در جیره‌های غذایی دام‌ها استفاده کرد (عربی ۱۹۹۷ و هادجی پناویوتو و همکاران ۲۰۰۱). بقولات از مهمترین منابع تامین‌کننده مواد مغذی می‌باشند. ماشک گیاهی است که در آب و هوای معتدل مرطوب و خاک لومی به خوبی رشد می‌کند. دانه ماشک

در سال‌های اخیر توجه به بقولات به دلیل ارزش غذایی بالا و دوره رشد کوتاه و نیاز به رسیدگی کم از طرف کشاورزان، دامپروران و کارخانه‌های تولید خوراک دام در اکثر کشورهای جهان افزایش یافته است (روتگر و همکاران ۲۰۰۶). میزان پروتئین خام دانه بقولات دو تا

روش تولید گاز منک و همکاران (۱۹۷۹) به طور گسترده‌ای برای ارزیابی ارزش غذایی مواد خوراکی، بررسی مکانیزم تخمیر میکروبی و نحوه‌ی عمل مواد ضد تغذیه‌ای، افزودنی‌ها و مکمل‌ها (لوپز و همکاران ۲۰۰۷) بکار می‌رود.

هدف از انجام این تحقیق تعیین ترکیبات شیمیایی و تولید گاز و انرژی قابل متابولیسم دانه ماشک، خلر و گاو دانه در شرایط آزمایشی می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

#### محل آزمایش

اجرای مراحل مختلف آزمایشات در ایستگاه تحقیقاتی و آموزشی خلعت پوشان و آزمایشگاه تغذیه دام پیشرفته واقع در ساختمان تحصیلات تکمیلی دانشگاه تبریز صورت گرفت.

#### تهیه نمونه‌های بقولات ایرانی

نمونه‌های بقولات مورد آزمایش از سازمان جهاد کشاورزی شهرستان تبریز تهیه شدند. سپس نمونه‌های هر کدام با یکدیگر جداگانه مخلوط شد تا یک نمونه همگن بدست آید.

#### آنالیز شیمیایی

ترکیبات شیمیایی خوراک آزمایشی شامل ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام و خاکستر طبق روش‌های پیشنهادی AOAC (۲۰۰۵) و میزان NDF و ADF با استفاده از دستگاه انکوم طبق روش زیر انجام شد (ریاسی و همکاران ۱۳۸۸).

کیسه‌های داکرون به ابعاد ۶×۴ سانتی‌متر در آون (دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ ساعت) خشک شده و به وزن ثابت رسیدند. آنگاه معادل ۱ گرم از نمونه‌های آسیاب شده خشک داخل کیسه‌ها ریخته شد و درب آنها با ماشین دوخت حرارتی چسبانده شد (بازای هر نمونه ۳ کیسه ی). کیسه‌ها بر روی صفحه‌های دستگاه چیده شده و به دستگاه منتقل شدند. حدود ۳۶۰۰ میلی لیتر محلول الیاف نامحلول

با دارا بودن ۲۸/۰۶ درصد پروتئین و ۱/۶۹ درصد چربی خام منبع مهم پروتئین و انرژی برای دام می‌باشد. دانه ماشک از نظر اسیدهای آمینه گوگرددار متیونین و سیستئین فقیر است (حسینی ۱۳۷۲ و ویریان ۱۹۹۷).

خلر گیاهی سازگار به شرایط آب و هوای گرمسیری و نیمه گرمسیری و متعلق به خانواده بقولات است. این گیاه مقاوم به خشکی است و در مناطقی با میزان بارندگی کم تا متوسط و خاک‌های قلیایی به خوبی رشد می‌کند. گزارش شده است که دانه خلر حاوی ۳۵/۹-۲۵/۶ درصد ماده خشک پروتئین، ۲/۸-۳/۵ درصد خاکستر، ۰/۷-۱/۷ درصد چربی و ۵/۳-۵/۹ درصد فیبر خام می‌باشد (یان و همکاران ۲۰۰۶). دانه خلر مقدار زیادی انرژی و پروتئین دارد و سرشار از لیزین است، اما مقدار اسیدهای آمینه گوگرددار (متیونین، سیستئین و تریپتوفان) آن محدودیت دارد (گاتل ۱۹۹۴، لائو و همکاران ۱۹۹۰ و هانوری و همکاران ۲۰۰۰). گاو دانه از سال‌های قبل در غرب و شمال غرب ایران کشت شده و به دلیل ارزش غذایی بالا، توان تثبیت ازت خاک و توان رشد در خاک‌های کم عمق و قلیایی همواره مورد توجه بوده است (صادقی و همکاران ۲۰۰۹ و لوپز بلیدو ۱۹۹۴). دانه گاو دانه ماده خوراکی غنی از انرژی، پروتئین و منبع مناسبی از مواد معدنی و اسید آمینه‌های ضروری می‌باشد. اما از نظر اسیدهای آمینه گوگرددار کمبود دارد. این دانه حاوی ۲۵/۶۵ درصد پروتئین و ۱۸/۱۰ مگاژول بر کیلوگرم انرژی خام است (صادقی و همکاران ۲۰۰۹). بقولات محتوی دامنه وسیعی از ترکیبات ضد تغذیه‌ای نظیر مواد بازدارنده تریپسین، لکتین یا هم‌گلوتین‌ها، سیانوژن‌ها، ساپونین‌ها و اسیدهای آمینه سمی مثل کاناوانین و غیره هستند. مقدار این مواد در گونه‌ها و واریته‌های مختلف، متفاوت است و لگوم‌ها مواد سمی بیشتری نسبت به غلات دارند (حسینی ۱۳۷۲).

شد و دوباره درب دستگاه را بسته و برای مدت ۵ دقیقه کیسه‌ها در آب مقطر جوشیده شدند. پس از آن مخزن تخلیه شده و درب دستگاه باز شد. کیسه‌ها توسط یک پارچه تمیز آب‌گیری شدند و در داخل ظرف حاوی استن ریخته شدند و به آرامی ۵ بار بهم زده شده و در بین دو لایه پارچه ی تمیز خشک شدند. بعد از این مرحله کیسه‌ها به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند و پس از سرد شدن توزین گردیدند. درصد الیاف نامحلول در شوینده خنثی یا اسیدی نمونه‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

وزن اولیه کیسه-وزن کیسه همراه نمونه بعد از آون‌گذاری = الیاف نامحلول در شوینده

خنثی یا اسیدی

در شوینده خنثی یا محلول الیاف نامحلول در شوینده اسیدی در مخزن دستگاه ریخته و دستگاه روشن شد. تایمر دستگاه روی ۷۵ دقیقه تنظیم گردید (۵ دقیقه برای رسیدن به دمای ۱۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۶۰ دقیقه برای جوشیدن نمونه‌ها در محلول شوینده). بطور همزمان حدود ۴۰۰۰ میلی لیتر آب مقطر جوشیده تهیه شد. پس از سپری شدن زمان مورد نظر و شنیدن بوق اخطار دستگاه، شیر تخلیه باز شده و تمام محلول خارج گردید. سپس درب آن به آرامی باز شده و شیر تخلیه بسته شد. آنگاه ۴۰۰۰ میلی لیتر آب مقطر داغ به داخل مخزن ریخته

وزن اولیه نمونه

#### اندازه‌گیری تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی

داخل فلاکس، سریعاً به آزمایشگاه منتقل شد. قبل از انتقال مایع شکمبه به داخل شیشه‌های سرم، مایع شکمبه با بافر تهیه شده به روش (مکدوگال ۱۹۴۸) به نسبت ۲ به ۱ (۲ قسمت بافر و یک قسمت مایع شکمبه) مخلوط شد. شیشه‌های سرم قبل از انتقال مایع شکمبه و بافر، جهت جلوگیری از شوک حرارتی، به مدت نیم ساعت در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد گرم شدند. در مرحله انتقال بافر و مایع شکمبه از ارلن به شیشه‌های سرم، جریان مداوم گاز دی‌اکسیدکربن به ارلن که بر روی هیتر ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار دارد، تزریق شد. در هر شیشه حاوی تیمار آزمایش مقدار ۲۰ میلی لیتر مخلوط مایع شکمبه و بافر افزوده شد و بعد از بی‌هوازی نمودن داخل شیشه با تزریق گاز دی‌اکسید کربن، درب شیشه‌ها توسط درپوش لاستیکی و پرس فلزی، بطور محکم بسته شد. به منظور تصحیح گاز تولیدی با منشاء مایع شکمبه تعداد ۴ عدد شیشه بدون ماده خوراکی و فقط دارای مایع شکمبه در نظر گرفته شد.

به منظور اندازه‌گیری تولید گاز از روش (فدوراک و هرودی ۱۹۸۳) استفاده شد. در این روش میزان جابجایی مایع در داخل لوله‌های آزمایشی مدرج که در ارتباط با شیشه‌های حاوی مایع شکمبه و نمونه خوراک می‌باشند، معرف میزان تولید گاز است (فدوراک و هرودی ۱۹۸۳). مقدار ۳۰۰ میلی‌گرم از دانه‌های بقولات با ال ک ۲ میلی‌متری با دقت توزین و به داخل شیشه‌های سرم استریل ۵۰ میلی‌لیتری منتقل گردید. برای هر نمونه ۴ تکرار در نظر گرفته شد. جهت جمع‌آوری مایع شکمبه ۲ ساعت بعد از وعده خوراک صبحگاهی، از سه رأس میش فیستولاگذاری شده نژاد قزل با میانگین وزن (۴۵±۲) استفاده شد. این حیوانات به مدت یک ماه با جیره غذایی در سطح نگهداری شامل ۴۰ درصد مواد غذایی متراکم (دانه جو ۳۰ درصد، سبوس گندم ۴ درصد، کنجاله پنبه دانه ۵ درصد، مکمل مواد معدنی و ویتامینی ۵/۰ درصد و نمک ۰/۵ درصد) و ۶۰ درصد علوفه (یونجه خشک ۶۰ درصد) تغذیه شدند. مایع شکمبه جمع‌آوری شده با پارچه توری صاف شد و در

ویژه شیردهی، CP پروتئین خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک)، OM ماده آلی (گرم در کیلوگرم ماده خشک)، Ash خاکستر (گرم در کیلوگرم ماده خشک)، EE چربی خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک)، Gas تولید گاز (میلی لیتر به ازای ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک در ۲۴ ساعت تخمیر پایه) بود (منک و استینگس ۱۹۸۸). داده‌های بدست آمده از این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار SAS با رویه ANOVA و مقایسه میانگین آنها با آزمون دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد صورت گرفت. مدل آماری طرح به قرار زیر بود:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

$Y_{ij}$  = صفت مورد ارزیابی در هر خوراک،  $\mu$  = میانگین کل،  $T_i$  = اثر تیمار،  $e_{ij}$  = اثر خطا می‌باشد. مقایسه میانگین آنها با آزمون دانکن در سطح معنی‌دار ۵ درصد صورت گرفت.

### نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی دانه‌های مورد آزمایش در جدول ۱ آمده است. دانه گاودانه بیشترین میزان پروتئین خام را نسبت به دانه ماشک و خلر داشت. بین میزان پروتئین خام دانه ماشک و خلر تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ولی مقدار پروتئین این دو با دانه گاودانه معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). یکی از خصوصیات مهم دانه‌های بقولات مورد مطالعه میزان پروتئین خام بالای آنها بوده و می‌توانند به عنوان مکمل پروتئینی جایگزین منابع پروتئینی وارداتی نظیر کنجاله سویا شوند. میزان خاکستر دانه خلر بطور معنی‌داری بیشتر از دانه گاودانه بود ( $P < 0.05$ ). میزان NDF دانه ماشک بطور معنی‌داری از دانه خلر و دانه گاودانه بیشتر بود ( $P < 0.05$ ).

نتایج تحقیق حاضر از نظر میزان ماده خشک، پروتئین خام و خاکستر دانه ماشک و گاودانه در انطباق با گزارش طباطبایی و همکاران (۱۳۹۰) می‌باشد ولی

کل شیشه‌ها جهت اندازه‌گیری گاز تولیدی به داخل دستگاه انکوباتور شیکر با ۱۲۰ دور در دقیقه و دمای ۳۹ درجه سانتیگراد، منتقل شده و عمل قرائت و ثبت میزان گاز ناشی از تخمیر دانه‌ها در ساعات ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۳۶، ۴۸ ساعت بعد از انکوباسیون انجام شد. جهت تعیین فراسنجه‌های تخمیر یا تولید گاز مواد خوراکی از معادله (ارسکوف و مکدونالد ۱۹۷۹) استفاده شد:  $P = a + b(1 - e^{-c(t-LD)})$  که در آن،  $a$  میزان تولید گاز بخش محلول (میلی لیتر)،  $b$  بخش نامحلول ولی قابل تخمیر (میلی لیتر)،  $c$  نرخ تولید گاز (میلی لیتر بر ساعت) و  $t$  زمان انکوباسیون (ساعت) است که با استفاده از نرم افزار فیت کرو (fitcurve) محاسبه گردید.

حجم گاز تولیدی بر اساس وزن نمونه ماده خوراکی در هر زمان توسط رابطه  $V = (V_t - V_b) \times 1000 / W$  تصحیح گردید. در این رابطه  $V$  حجم گاز تصحیح شده بر حسب میلی لیتر به ازای هر گرم ماده خشک،  $V_t$  حجم گاز تولیدی در شیشه‌های حاوی ماده خوراکی بر حسب میلی لیتر،  $V_b$  حجم گاز تولیدی در شیشه‌های فاقد ماده خوراکی بر حسب میلی لیتر و  $W$  وزن نمونه ماده غذایی بر حسب میلی گرم ماده خشک است.

### برآورد فراسنجه‌های تخمیری با روش تولید گاز

میزان انرژی قابل متابولیسم، اسیدهای چرب زنجیره کوتاه، درصد ماده آلی قابل هضم و انرژی ویژه شیردهی هر دانه‌های ماشک، گاودانه و خلر با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شدند (منک و استینگس ۱۹۸۸، پایا و همکاران ۲۰۰۷).

$$ME \text{ ( MJ/kg DM )} = 1/0.6 + 0/10570 GP + 0/0.084 CP + 0/0.220 EE - 0/0.081 Ash \text{ ( n = 200, } r^2 = 0/94 \text{ )}$$

$$SCFA \text{ ( m mol/200 mgDM )} = 0/0.222 GP - 0/0.0420$$

$$DOM \text{ ( \% DM )} = 9/00 + 0/9991 GP + 0/0.090 CP + 0/0.181 Ash \text{ ( n=200, } r^2 = 0/92 \text{ )}$$

$$NE_L \text{ ( MJ/kg DM )} = -0/36 + 0/1149 GP + 0/0.004 CP + 0/0.139 - 0/0.004 Ash \text{ ( n=200, } r^2 = 0/93 \text{ )}$$

در این معادلات ME انرژی قابل متابولیسم ( مگاژول در کیلوگرم)، DOM ماده آلی قابل هضم،  $NE_L$  انرژی

گزارش کرده‌اند با میزان ماده خشک و پروتئین خام این تحقیق مشابه می‌باشد. میزان پروتئین خام، خاکستر و چربی خام دانه خلر با گزارشات یان و همکاران (۲۰۰۶) مطابقت دارد.

میزان چربی و NDF بیشتر بود. همچنین، میزان ماده خشک ۹۰/۷ درصد، پروتئین خام ۲۳/۱ درصد، چربی خام ۵/۶۹ درصد، ADF ۶/۹ درصد و NDF ۲۱/۳ درصد را که عبدالله و همکاران (۲۰۱۰) برای دانه گاودانه

جدول ۱- مقایسه میانگین ترکیب شیمیایی دانه ماشک، خلر و گاودانه.

Table 1- comparison of average chemical composition grain common vetch, grass pea and bitter vetch

مواد خوراکی Feeds	ماده خشک Dry matter	پروتئین خام Crude protein	چربی خام Crude fat	خاکستر ash	NDF	ADF
دانه ماشک Common vetch	89.64	30.06 <sup>a</sup>	1.37	3.68 <sup>ab</sup>	34.55 <sup>a</sup>	9.18
دانه خلر Grass pea	89.88	28.56 <sup>a</sup>	1.64	4.32 <sup>a</sup>	31.77 <sup>b</sup>	9.5
دانه گاودانه Bitter vetch	90.51	23.29 <sup>b</sup>	1.2	3.06 <sup>b</sup>	30.65 <sup>b</sup>	8.7
S.E.M	0.6	1.19	0.13	0.14	0.53	0.2
p-value	0.62	0.004	0.09	0.018	0.023	0.147

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد ( $P < 0.05$ ).

NDF: الیاف نامحلول در شوینده خنثی ADF: الیاف نامحلول در شوینده اسیدی

Means within same row different superscripts differ ( $P < 0.05$ ).

NDF: Neutral detergent fiber

ADF: Acid detergent fiber

در همه زمان‌ها میزان گاز تولیدی نمونه‌های خوراک با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند. با افزایش زمان انکوباسیون میزان گاز تولیدی هر سه تیمار افزایش یافت (شکل ۱).

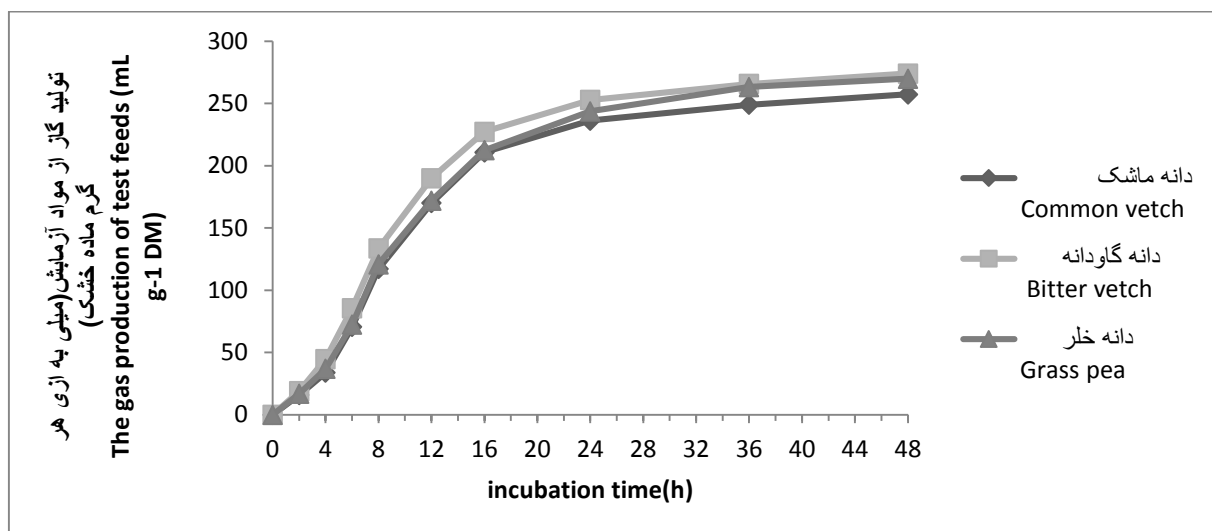
وقتی که از روش تولید گاز برای تعیین خصوصیات هضمی مواد خوراکی استفاده می‌شود فرض بر این است که گاز تولیدی تحت تأثیر هیچ عامل دیگری جز ترکیبات شیمیایی و خصوصیات فیزیکی خوراک قرار نمی‌گیرد (منک و استینگس ۱۹۸۸). هنگامی که یک ماده خوراکی با مایع شکمبه دارای بافر در شرایط آزمایشگاهی انکوباسیون می‌شود، کربوهیدرات‌ها به اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، گاز (عمدتاً دی اکسید کربن و متان) تخمیر می‌گردند. تولید گاز حاصل از پروتئین در مقایسه با کربوهیدرات‌ها نسبتاً اندک است. همچنین، سهم چربی نیز در تولید گاز قابل صرف نظر می‌باشد (دانش مسگران ۱۳۸۸). شاید یکی از علت‌های

همچنین، از نظر مقدار ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام، خاکستر، NDF و ADF دانه خلر نتایج این تحقیق مشابه با گزارش رزم آذر و همکاران (۱۳۹۱) بود. ترکیبات شیمیایی دانه‌های بقولات مربوط به یکسانی خانواده دانه‌ها (ویسیاسه آ) و تفاوت در جنس (لاتیروس در مقابل ویسیا) دانه‌ها بوده است. این اختلاف در ترکیبات شیمیایی دانه‌های مورد آزمایش با نتایج سایر محققین شاید دلیل تفاوت در اندازه و نوع مغز دانه که فیبر و دیواره سلولی آن را در بر گرفته است همچنین تفاوت در شرایط محیطی، نوع خاک، وارپته و عملیات کشاورزی انجام شده برای دانه‌های بقولات باشد (خانوم و همکاران ۲۰۰۷).

داده‌های مربوط به تولید گاز حاصل از تخمیر دانه ماشک، دانه خلر و دانه گاودانه در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶ و ۴۸ ساعت پس از انکوباسیون در جدول ۲ گزارش شده است. به جز در ۲ ساعت اول انکوباسیون

می‌باشد. همبستگی زیادی بین اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و تولید گاز وجود دارد (دانش مسگران ۱۳۸۸ و پرند و تقی زاده ۱۳۸۹). گاز عمدتاً هنگامی که ماده خوراکی به اسید استیک و بوتیریک تخمیر می‌شود، تولید می‌گردد. موادی که تنها به اسید پروپیونیک تخمیر می‌شوند، تنها به صورت غیر مستقیم و از طریق بافر شدن اسید پروپیونیک گاز تولید می‌نمایند. در نتیجه گاز کمتری از تخمیر ماده خوراکی به اسید پروپیونیک تولید می‌گردد (دانش مسگران ۱۳۸۸).

این که دانه ماشک در مقایسه با دو دانه دیگر تولید گاز کمتری دارد بالاتر بودن میزان پروتئین خام و دیواره سلولی آن باشد. بیشتر بودن میزان گاز تولیدی دانه گاودانه نسبت به دانه ماشک و خلر در تمام زمان‌های انکوباسیون ناشی از کمتر بودن میزان ADF و NDF آن می‌باشد که این مطابق با گزارش (ماهالا و همکاران ۲۰۰۷) می‌باشد که در مقایسه گاز تولیدی برگ و دانه تعدادی از درختان علوفه‌ای بیان کردند که مهمترین عامل تأثیرگذار بر بیشتر بودن میزان گاز تولید دانه‌ها بر برگ‌ها کمتر بودن میزان ADF و NDF آنها



شکل ۱- منحنی تولید گاز دانه گاودانه، خلر و ماشک در زمان‌های مختلف انکوباسیون

Figure 1- gas production curve common vetch, bitter vetch and grass pea grain at different times of incubation

جدول ۲- میزان تولید گاز دانه ماشک، گاودانه و خلر در زمان‌های مختلف انکوباسیون (میلی‌لیتر در گرم ماده خشک)

Table 2- the gas production volume common vetch, bitter vetch and grass pea grain at different times of incubation (ml per g dry matter)

زمان انکوباسیون Incubation time (h)	دانه ماشک Common vetch	دانه گاودانه Bitter vetch	دانه خلر Grass pea	S.E.M	P-value
2	15.82	18.81	16.82	1.35	0.38
4	33.72 <sup>b</sup>	44.71 <sup>a</sup>	36.8 <sup>b</sup>	2.03	0.065
6	70.51 <sup>b</sup>	85.58 <sup>a</sup>	72.51 <sup>b</sup>	2.17	0.028
8	117.05	133.53 <sup>a</sup>	120.8 <sup>b</sup>	2.37	0.032
12	170 <sup>b</sup>	189.98 <sup>a</sup>	171.99 <sup>b</sup>	2.77	0.023
16	210.79 <sup>b</sup>	227.27 <sup>a</sup>	212.45 <sup>b</sup>	4.02	0.031
24	236.18 <sup>b</sup>	252.83 <sup>a</sup>	243.67 <sup>ab</sup>	4.09	0.052
36	249 <sup>b</sup>	265.65 <sup>a</sup>	263.15 <sup>a</sup>	4.32	0.052
48	257.24 <sup>b</sup>	273.98 <sup>a</sup>	269.9 <sup>ab</sup>	4.58	0.046

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد ( $P < 0.05$ ).

Means within same row different superscripts differ ( $P < 0.05$ ).

برای مواد خوراکی مورد آزمایش ناشی از تفاوت در ترکیب شیمیایی آنها می‌باشد. بیشتر بودن بخش نامحلول اما قابل تخمیر دانه گاودانه ناشی از کمتر بودن میزان ADF و همچنین NDF آن در مقایسه با دانه ماشک و دانه خلر است که مطابق با گزارش رزم آذر و همکاران (۱۳۹۱) بود. ماهال و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند کربوهیدرات‌هایی (ADF و NDF) که توسط میکروبه‌های شکمبه به آهستگی هضم می‌شوند، میزان و نرخ تولید گاز را کاهش می‌دهد. این کربوهیدرات‌ها در دانه گاودانه نسبت به دو دانه دیگر کمتر هستند. نرخ ثابت گاز تولیدی نشان دهنده‌ی نرخ گاز تولید شده طی زمان انکوباسیون است که میزان گاز بالای گزارش شده برای دانه گاودانه در بخش قبلی تأییدی بر بالا بودن این بخش در دانه گاودانه نسبت به دانه ماشک و دانه خلر است (شکل ۱).

در جدول ۳ فراسنجه‌های تولد گاز نشان داده شده است. گاز تولیدی حاصل از بخش محلول (a) دانه ماشک و دانه خلر اختلاف معنی‌داری نداشتند ولی دانه خلر با دانه گاودانه اختلاف معنی‌داری داشت ( $P < 0.05$ ). دانه گاودانه بالاترین مقدار بخش نامحلول اما قابل تخمیر در مقایسه با دانه خلر و دانه ماشک داشت. پتانسیل تولید گاز و ثابت نرخ تولید گاز دانه گاودانه نسبت به دو دانه دیگر بیشتر بود. فاز تأخیر بدست آمده بین دانه‌ها اختلاف معنی‌داری ( $P > 0.05$ ) با هم نداشتند ولی فاز تأخیر دانه خلر بیشتر از دو دانه دیگر بود. احتمالاً فاز تأخیر بیشتر دانه خلر به دلیل پوسته سخت‌تر آن نسبت به دیگر دانه‌های مورد آزمایش می‌باشد که زمان زیادی طول می‌کشد که میکروارگانیسم‌ها شروع به چسبیدن و تجزیه آن نمایند. تفاوت در میزان فراسنجه‌های تخمیر به دست آمده

جدول ۳- مقایسه فراسنجه‌های تولید گاز دانه ماشک، خلر و گاودان.

Table 3- comparison of gas production parameters common vetch, bitter vetch and grass pea grain

ماده خوراکی	a	b	c	(a+b)	100-(a+b)	L.T
دانه ماشک Common vetch	-58.05 <sup>ab</sup>	321.25	0.099 <sup>b</sup>	263.22 <sup>a</sup>	-163.22 <sup>a</sup>	2.55 <sup>a</sup>
دانه گاودانه Bitter vetch	-59.79 <sup>a</sup>	337.93	0.106 <sup>a</sup>	278.19 <sup>a</sup>	-178.19 <sup>a</sup>	2.5 <sup>a</sup>
دانه خلر Grass pea	-53.83 <sup>a</sup>	331.23	0.093 <sup>c</sup>	277.41 <sup>a</sup>	-177.41 <sup>a</sup>	2.6 <sup>a</sup>
SEM	1	8.56	0.003	7.87	7.87	0.081
p-value	0.051	0.47	0.11	0.42	0.42	0.71

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد ( $P < 0.05$ ).

a: بخش محلول (میلی لیتر)، b: بخش نامحلول اما قابل تخمیر (میلی لیتر)، c: ثابت نرخ تولید گاز (بر حسب میلی لیتر بر ساعت)، (a+b): پتانسیل تولید گاز (میلی لیتر)، L.T: فاز تأخیر (ساعت).

Means within same row different superscripts differ ( $P < 0.05$ ).

a: Washing loss(ml), b: Degradability of water insoluble(ml), c: Rate constant(ml/h), (a+b): potential degradability(ml), L.T: lag time (h).

متابولیسم دانه گاودانه بالاتر از دانه خلر و دانه ماشک برآورد شد. ماده آلی قابلیت هضم و انرژی ویژه شیردهی دانه گاودانه به‌طور معنی‌داری بیشتر از دیگر مواد خوراکی بود ( $P < 0.05$ ). روابط رگرسیونی،

در جدول ۴ میزان پارامترهای تخمینی دانه ماشک، خلر و گاودانه با روش تولید گاز ارائه شده است. میزان اسید چرب کوتاه زنجیر دانه گاودانه در مقایسه با دانه خلر و دانه ماشک بیشتر بود ( $P < 0.05$ ). انرژی قابل

قابل متابولیسم یک خوراک نشان‌دهنده بخشی از انرژی خوراک است که توسط حیوان مورد استفاده قرار می‌گیرد. میزان تفاوت در انرژی قابل متابولیسم خوراکی‌های مختلف منعکس‌کننده تفاوت در میزان کربوهیدرات‌های قابل تخمیر و نیتروژن قابل دسترس آنها می‌باشد (خانوم و همکاران ۲۰۰۷).

خواص فیزیکی متفاوت خوراکی‌ها را در شکمبه و همچنین تفاوت‌های هضمی در قسمت‌های پایین تر دستگاه گوارش را در نظر نمی‌گیرند. بلکه روابط رگرسیونی تنها میزان کل اسیدهای چرب فرار را برآورد می‌کند (پرنده و تقی‌زاده ۱۳۸۹). ماده آلی قابلیت هضم قسمتی از ماده آلی خوراک است که در دستگاه گوارش هضم می‌شود (پایا و همکاران ۲۰۰۷). انرژی

جدول ۴- پارامترهای تخمینی برای دانه‌های ماشک، گاودانه و خلر با استفاده از روش تولید گاز

Table 4- estimated parameters for common vetch, bitter vetch and grass pea grain using gas production technique

پارامترهای تخمینی estimated parameters	ME	NE <sub>L</sub>	SCFA	DOM
دانه ماشک Common vetch	8.79 <sup>c</sup>	5.24 <sup>c</sup>	10.48 <sup>c</sup>	73.76 <sup>ab</sup>
دانه گاودانه Bitter vetch	9.24 <sup>a</sup>	5.58 <sup>a</sup>	11.22 <sup>a</sup>	73.02 <sup>b</sup>
دانه خلر Grass pea	9.02 <sup>b</sup>	5.41 <sup>b</sup>	10.81 <sup>b</sup>	74.37 <sup>a</sup>
SEM(n=3)	0.004	0.002	0.00	0.22
p-value	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.051

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد ( $P < 0.05$ ).

ME: انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)، NE<sub>L</sub>: انرژی ویژه شیردهی (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)، DOM: ماده آلی قابل هضم (% ماده خشک)، SCFA: میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی مول در 200 میلی گرم ماده خشک).

ME: Metabolizable energy (MJ/kg DM), NE<sub>L</sub>: Net Energy Lactation (MJ/kg DM), DOM: digestible organic matter (% DM), Short-chain fatty acid (mmol/200 mg DM).

۱۹۸۸). که در این تحقیق نیز دانه گاودانه میزان گاز تولیدی در ۲۴ ساعت پس از انکوباسیون و در نتیجه انرژی قابل متابولیسم بیشتری را در مقایسه با دانه ماشک و خلر داشت. به طور کلی وجود تفاوت‌های معنی‌دار بین ترکیبات شیمیایی، قابلیت هضم و میزان تولید گاز دانه ماشک، دانه خلر و دانه گاودانه باعث اختلاف در فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری، اسیدهای چرب فرار، انرژی قابل متابولیسم و در کل ارزش غذایی آنها شد. با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان بیان کرد که دانه ماشک، خلر و گاودانه به عنوان یک ماده خوراکی با پروتئین خام متوسط، قابلیت هضم و تجزیه

اختلاف بین میزان گاز تولیدی تیمارهای مورد نظر به دلیل تفاوت در تولید میزان اسیدهای چرب فرار است. تحقیقات زیادی همبستگی بالایی را بین گاز تولید شده از سوبسترا و اسید چرب کوتاه زنجیر تولید شده گزارش کرده‌اند، کربوهیدرات‌های سریع الهضم طی تخمیر نسبت به استات، پروپیونات بیشتری را تولید می‌کنند و زمانیکه کربوهیدرات‌های کند هضم تخمیر می‌شوند برعکس آن رخ می‌دهد (قورباز ۲۰۰۷).

همچنین، همبستگی بالای بین میزان انرژی قابل متابولیسم و گاز تولید شده در ۲۴ ساعت و ترکیب شیمیایی مواد خوراکی وجود دارد (منک و استنگس



اندک بود. تفاوت بین ترکیبات شیمیایی و میزان گاز تولیدی دانه ماشک، دانه خلر و دانه گاودانه منجر به تفاوت‌های معنی‌داری بین فراسنجه‌های تولید گاز و پارامترهای تخمینی شدند. در بین دانه‌های مورد آزمایش، دانه گاودانه از ارزش غذایی بالاتری، به دلیل NDF و ADF کمتر، بخش نامحلول اما قابل تخمیر بیشتر، ثابت نرخ تولید گاز بیشتر و میزان انرژی قابل متابولیسم بیشتر، برخوردار بود.

پذیری بالا ماده غذایی مناسبی برای نشخوار کنندگان می‌باشد و دانه گاودانه به دلیل میزان تولید گاز و قابلیت هضم بالاتر نسبت به ماشک و خلر ارزش غذایی بالاتری را داشت.

### نتیجه‌گیری

در این تحقیق، دانه ماشک از پروتئین خام بالائی در مقایسه با دو دانه دیگر برخوردار بود. بجز NDF و خاکستر تغییرات سایر ترکیبات شیمیایی در بین دانه‌ها

### منابع مورد استفاده

- پرند ا و تقی زاده ا، ۱۳۸۹. بررسی قابلیت هضم دانه جو فرآوری شده با روش‌های مختلف با استفاده از روش تولید گاز و دو منبع آنزیمی، مجله پژوهشی علوم دامی، جلد ۲۰، شماره ۲، صفحه‌های ۲ تا ۱۳.
- حسینی م ن، ۱۳۷۲. حبوبات در ایران. چاپ اول. انتشارات جهاد دانشگاهی دانشگاه تهران.
- دانش مسگران م، ۱۳۸۸. روش‌های نوین برون تنی *in vitro* در پژوهش‌های علوم دامی، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، صفحه ۱۹۱.
- رزم آذر و، تربتی نژاد ن م، سیف دواتی ج و حسینی ح، ۱۳۹۱. بررسی خصوصیات شیمیایی، تخمیر شکمبه‌ای و قابلیت هضم دانه ماشک، خلر و گاودانه به روش‌های آزمایشگاهی، نشریه پژوهش‌های علوم دامی، جلد ۲۲، شماره ۲، صفحه‌های ۱۰۷-۱۱۹.
- ریاسی ا، اله رسانی ع، نعیمی پوریونسی ح و فتحی نسری م ح، ۱۳۸۸. مقایسه روش‌های اندازه گیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی در علوفه‌ها و محصولات فرعی خوراک، مجله پژوهش‌های علوم دامی، جلد ۱۹، شماره ۱، صفحه‌های ۹۱-۱۰۳.
- طباطبایی م م، نجف نژاد ب، زمانی پ، احمدی ا، تقی‌زاده ا و علی‌عربی ح، ۱۳۹۰. بررسی ارزش غذایی دانه جو و دانه برخی حبوبات خام و برشته شده به روش‌های *in vivo* و *in vitro*. نشریه پژوهش‌های علوم دامی، جلد ۲۱، شماره ۲، صفحه‌های ۱۱-۲۱.
- Abdullah A, Marwan MM, Rashai Q and Hosam HT, 2010. Effect of bitter vetch (*Vicia ervilia*) seeds as a replacement protein source of soybean meal on performance and carcass characteristics of finishing Awassi lambs. *Trop Animal Health Prod* 42: 293-300.
- AOAC, 2005. Official Methods of Analysis of AOAC international. AOAC international. Maryland, USA.
- Arabi A, 1997. Nutritional value of *Vicia ervilia* seed and forage by In vitro and in vivo methods in Hamedan province. M Sc. Thesis, Buali University.
- Fedorak PM and Hrudey SE, 1983. A Simple apparatus for measuring gas production by methanogenic cultuvesin for serum bottles. *Environ Technology letters* 4: 425-435.
- Gatel F, 1994. Protein quality of legume seeds for non ruminant animals: A literature review. *Animal Feed Science Technology* 45: 317-348.
- Getachew G, Crovetto GM, Fondevila M, Krishna Moorthy U, Singh B, Spanghero M, Steingass, H, Robinson PH and Kailas MM, 2002. Laboratory variation of 24 h in vitro gas production and estimated metabolizable energy values of ruminant feeds. *Animal Feed Science Technology* 102: 169-180.

- Gurbuz Y, 2007. Determination of nutritive value of leaves of several *Vitis vinifera* varieties as a source of alternative feedstuff for sheep using in vitro and in situ measurements. *Small Ruminant Research* 71: 59–66.
- Hadjipanayiotou M and Economides S, 2001. Chemical composition in situ degradability and amino acid composition of protein supplements fed to livestock and poultry in Cyprus. *Agricultural Research Institute*, 1516 Nicosia. 22016, Cyprus.
- Hanbury CD, White CI, Mullan BP and Siddique KHM, 2000. A review of the potential of *Lathyrus sativus* L. and *Lathyrus Cicera* L. grain for use as animal feed. *Animal Feed Science Technology* 87: 1-27.
- Khanum SA, Yaqoob T, Sadaf S, Hussain M, Jabbar MA, Hussain HN, Kausar R and Rehman S, 2007. Nutritional evaluation of various feedstuffs for livestock production using in vitro gas method. *Pakistan Veterinary Journal* 27(3): 129-133.
- Lopez Bellido L, 1994. Grain legumes for animal feed: Hernando Bermejo, JE and Len J (eds.). *Neglected Crops: from a gas production of some tropical feeds used in ruminant diets estimated by in vivo and in vitro gas production techniques*. *American Journal Animal and Plant Sciences* 2 (4): 108-113.
- Lopez S, Dhanoa MS, Dijkstra J, Bannink A, Kebreab E, and France J 2007. Some methodological and analytical considerations regarding application of the gas production technique. *Animal Feed Science Technology* 135: 139-156.
- Low RKC, Rotter RG, Marquardt RR, and Campbell GC, 1990. Use of khesari (*Lathyrus sativus*) in chick diets. *Journal British Poultry Science* 31: 615-625.
- Mahala AG, Fadel E and Abdel Nasir MA, 2007. Chemical composition and in vitro gas production characteristics of six fodder trees leaves and seeds. *Research Journal of Agricultural and Biological Sciences* 3(6): 983-986.
- McDougall EI, 1948. Studies on Ruminant Saliva The composition and output of sheep's saliva. *Biochemical Journal* 43: 99-109.
- Menke KH and Steingass H, 1988. Estimation of the energetic feed value from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research Development* 28: 7– 55.
- Paya H, Taghizadeh A, Janmohammadi H and Moghadam GA, 2007. Nutrient digestibility and gas production of some tropical feeds used in ruminant diets estimated by the in vivo and in vitro gas production techniques. *American Journal Animal Veterinary Sciences* 2: 108-113.
- Qrskov ER and McDonald I, 1979. The estimation of protein degradability in rumen from incubation measurements according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science Cambridge* 92: 449 – 503.
- Rotger A, Ferret A, Calasamigalia S and Monteca X, 2006. In situ degradability of seven plant protein supplements in heifers fed high concentration diet with different forage to concentrate ratio. *Animal Feed Science and Technology*. 125: 73-87.
- Sadeghi GH, Pourreza J, Samei A and Rahmani H, 2009. Chemical composition and some anti-nutrient content of raw and processed bitter vetch (*Vicia ervilia*) seed for use as feeding stuff in poultry diet. *Tropical Animal Health Production* 41: 85–93.
- Wiryanan KG, 1997. New vegetable protein for layers. PhD Thesis, University of Queensland, Australia.
- Yan ZY, Spender PS Li ZX, Liang YM, Wang YF, Wang CY and Li FM, 2006. *Lathyrus sativus* (grass pea) and its neurotoxin ODAP. *Phytochemistry* 67: 107-121.

## Determine the chemical composition and gas production parameters *Vicia sativa*, *Lathyrus sativus* and *Vicia ervilia* grain by in Vitro Gas Production Technique

Sh Mirshadi<sup>1\*</sup>, A Taghizadeh<sup>2</sup> and B navidgbloo<sup>3</sup>

Received: January 9, 2016

Accepted: June 06, 2016

<sup>1</sup>MSc Graduated Student, Department of Animal Science, University of Tabriz, Tabriz Iran

<sup>2</sup>Professor, Department of Animal Science, University of Tabriz, Tabriz, Iran

<sup>3</sup>MSc Graduated Student, Department of Animal Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

\*Corresponding author: Email: shahrammirshadi@yahoo.com

### Abstract

**BACKGROUND:** Chemical composition can affect fermentability of grains in the gastrointestinal tract. **OBJECTIVES:** This study was carried out to determine the chemical composition and gas production parameters of grain of *Vicia sativa*, *Lathyrus sativus* and *Vicia ervilia* cultivated in tabriz province. **METHODS:** Data obtained in a completely randomized design were used for statistical analysis. **RESULTS:** *Vicia sativa*, *Lathyrus sativus* and *Vicia ervilia* were in terms of crude protein 30.06, 28.56 and 23.29%DM, NDF 34.55, 31.77 and 30.65%DM and ash 3.68, 4.32 and 3.05%DM respectively. Among the tested grains, the grain of *Vicia ervilia* had the highest fermentation parameters, potential gas production, rate of gas production, short chain fatty acids and metabolizable energy that estimated as 278.19 mL, 0.106 mL h<sup>-1</sup>, 11.22 mmol and 9.24 MJ/kg respectively and *Vicia sativa* grain had the lowest potential gas production 263.22 ML, Short Chain Fatty Acid 10.48 mmol, and metabolizable energy 8.79 MJ/kg content. The grain of *Vicia ervilia*, had higher nutritive value than other tested feeds due to its in vitro fermentation characteristics as well as chemical composition. **CONCLUSIONS:** The results of this study indicated that tested grains are appropriate source of the protein for ruminant nutrition.

**Key words:** Gas production, *Lathyrus sativa*, Fermentation Parameters, *Vicia ervilia*, *Vicia tativa*