مقاله علمی پژوهشی/نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۳۰ شماره ۱/ سال۱۳۹۹/ صفحات ۴۵ تا ۵۶

DOI: 10.22034/AS.2020.11002

ارزیابی استفاده از سرنگ‌های پلاستیکی به جای سرنگ‌های شیشه‌ای در روش تولید گاز برای ارزیابی برخی از مواد خوراکی

جمال سیف دواتی*[۱]، طاهر یلچی[۲]، رضا سیدشریفی[۱] و حسین عبدی بنمار[۱]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۶/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۹

[۱] دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی

[۲] استادیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان دانشگاه محقق اردبیلی

* مسئول مکاتبه: Email: jseifdavati@uma.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: هزینه انکوباتور گردان اندازه‌گیری آزمون گاز به همراه سرنگ‌های شیشه‌ای بالا بوده و امکان نصب و راه‌اندازی آن از جمله حساس و شکننده بودن سرنگ‌ها دارای مشکلات عمده‌ای است به نظر می رسد، که انجام روش آزمون تولید گاز با استفاده از سرنگ‌های پلاستیکی مدرج و بن ماری کم هزینه و راه اندازی آن آسان باشد. **هدف:** این پژوهش به منظور ارزیابی استفاده از سرنگ‌های پلاستیکی به جای سرنگ‌های شیشه‌ای در روش تولید گاز برای ارزیابی برخی از مواد خوراکی انجام شد. **روش کار:** مواد خوراکی شامل علوفه یونجه، علوفه چچم، دانه جو، دانه ذرت، کنجاله سویا و کنجاله کلزا بود. از سرنگ‌های شیشه‌ای و دو نوع از سرنگ‌های پلاستیکی شامل نوع اول و دوم (به ترتیب با کیفیت بالا و متوسط) استفاده شد. فراسنجه‌های تولید گاز با استفاده از مدل‌های رایج تعیین شده و داده‌های حاصل در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل شدند. **نتایج:** نتایج مربوط به حجم خالص گاز تولید شده از مواد خوراکی (به جز دانه جو) در ساعت ۶ اندازه‌گیری بین سرنگ‌های شیشه‌ای و پلاستیکی نوع اول تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. در ساعت ۲۴ تفاوت معنی‌داری بین سرنگ‌های شیشه‌ای و پلاستیکی از نظر حجم گاز تولید شده به جز دانه ذرت و کنجاله کلزا وجود داشت. بین سرنگ‌های شیشه‌ای و پلاستیکی نوع اول و دوم از نظر پتانسیل تولید گاز برای همه مواد خوراکی به جز کنجاله کلزا تفاوت معنی‌داری وجود داشت. انرژی قابل متابولیسم، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و قابلیت هضم ماده آلی برآورد شده از مواد خوراکی مختلف نشان داد که بین سرنگ‌های شیشه‌ای و پلاستیکی نوع اول فقط برای دانه ذرت و کنجاله کلزا تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. ضرایب همبستگی بالایی (r = ۰/۹۰ – ۰/۹۸) بین نتایج حاصل از سرنگ‌های شیشه‌ای با سرنگ‌های پلاستیکی نوع اول مشاهده شد.

نتیجه گیری نهایی: عدم معنی‌داری نتایج در برخی از مواد خوراکی و وجود ضرایب همبستگی بالا بین نتایج حاصل از سرنگ‌ها نشان می‌دهد که امکان جایگزینی سرنگ‌های پلاستیکی با کیفیت بالا به جای سرنگ‌های شیشه‌ای وجود دارد.

واژگان کلیدی: آزمون تولید گاز، سرنگ پلاستیکی، فراسنجه‌های تولید گاز، مواد خوراکی

مقدمه

تعیین ارزش تغذیه‌ای مواد خوراکی مورد مصرف در تغذیه دام یا جیره‌های غذایی با استفاده از دام زنده پرهزینه و وقت‌گیر بوده بنابراین تمایل زیادی برای ارزیابی آن‌ها با استفاده از روش‌های آزمایشگاهی در سراسر دنیا وجود دارد. اندازه‌گیری فراسنجه‌های تولید

گاز حاصل از تخمیر مواد خوراکی در شرایط آزمایشگاهی توسط منک و همکاران (۱۹۷۹) پایه گذاری شد. در این روش تخمیر نمونه خوراکی و اندازه‌گیری فراسنجه‌های تولید گاز در سرنگ‌های مدرج شیشه‌ای و در انکوباتور گردان که به صورت افقی در جایگاه‌های مخصوص قرار می‌گرفتند با الگو برداری از شرایط شکمبه انجام می‌شد. پژوهش‌های انجام شده نشان می‌دهد که تلاش‌هایی برای رفع معایب و بهبود روش اصلی آزمون تولید گاز که توسط منک و همکاران (۱۹۷۹) ارائه شده بود توسط پژوهشگران مختلف از جمله منک و استانگاس (۱۹۸۸) انجام شده است. تغییر لوازم آزمایشگاهی آزمون گاز به طور عمده توسط بلومل و ارسکوف (۱۹۹۳) انجام شد به طوری که به جای انکوباتور گردان از حمام آب یا بن‌ماری استفاده شده و چرخش سرنگ‌ها در انکوباتور با تکان دادن سرنگ‌ها به وسیله دست جبران می‌شد. در گزارشی فدوراک و هورودی (۱۹۸۳) روش ساده‌ای را با استفاده از لوله شیشه‌ای باریک و مدرج مشابه پی پت که به بطری حاوی محیط کشت وصل شده و بر اساس جابجایی سطح آب داخل پی‌پت حجم گاز تولیدی مشخص می‌شد را برای اندازه‌گیری گاز تولیدی پیشنهاد کردند. در گزارشی دیگر تئودورو و همکاران (۱۹۹۴) نیز با استفاده از فشارسنج که با شلنگ‌های رابط به بطری حاوی محیط کشت وصل می‌شد را برای برآورد گاز تولید شده ارائه کردند. برای برآورد تجزیه پذیری پروتئین نمونه‌های مواد خوراکی کالرسسون و همکاران (۲۰۰۹) تغییراتی را در انجام روش آزمون تولید گاز با افزودن کربوهیدرات‌های سریع التخمیر به مایع شکمبه تهیه شده سه ساعت قبل از شروع آزمایش انجام دادند.

به نظر می رسد که عمده تلاش‌های پژوهشگران پیشین بر اساس بهبود و ارتقاء روش اصلی و همچنین ساده سازی آن استوار بوده است. سرنگ‌های شیشه‌ای کالای وارداتی است و سبب خروج ارز از کشور می‌شود. لذا در صورتی که امکان جایگزینی آن با سرنگ‌های پلاستیکی میسر باشد سبب کاهش وابستگی به واردات و کاهش هزینه‌های پژوهش‌های مرتبط خواهد شد. جستجوی منابع معتبر علمی در داخل و خارج از کشور نشان می دهد که تاکنون گزارشی مبنی بر مقایسه سرنگ‌های پلاستیکی با شیشه‌ای در آزمون تولید گاز منتشر نشده است. بنابراین سوابق پژوهشی کمی در دسترس بود. با توجه به این‌که هزینه تهیه انکوباتور گردان مخصوص اندازه‌گیری آزمون گاز به همراه سرنگ‌های شیشه‌ای بالا بوده و امکان نصب و راه‌اندازی آن از جمله حساس بودن و شکننده بودن سرنگ‌ها دارای مشکلات عمده‌ای است به نظر می رسد، که انجام روش آزمون تولید گاز با استفاده از سرنگ‌های پلاستیکی مدرج و بن ماری بر پایه روش بلومل و ارسکوف (۱۹۹۳) کم هزینه و راه اندازی آن آسان باشد. لذا این پژوهش با هدف امکان جایگزینی سرنگ‌های پلاستیکی تولید داخل کشور و ارزان قیمت به جای سرنگ‌های شیشه‌ای وارداتی و گران قیمت و استفاده از بن ماری به جای انکوباتور گردان برای کاهش هزینه‌های اجرای آزمایش انجام گردید.

مواد و روش‌ها

مواد خوراکی معمول در تغذیه دام شامل علوفه یونجه، علوفه چچم پایدار (*Lolium perenne*)، دانه جو، دانه ذرت، کنجاله سویا و کنجاله کلزا جمع‌آوری شده و ترکیبات شیمیایی آن‌ها شامل ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام و خاکستر با روش‌های رایج و مرسوم اندازه‌گیری شدند (AOAC۲۰۰۰). در تعیین الیاف نامحلول در شوینده خنثی برای حذف کامل بقایای نشاسته از نمونه از آنزیم آلفا آمیلاز مقاوم به حرارت استفاده شد (ون سوست و همکاران ۱۹۹۱). کربوهیدرات‌های غیرالیافی از تفاضل مجموع پروتئین خام، چربی خام، خاکستر و الیاف نامحلول در شوینده خنثی از کل بخش ماده خشک محاسبه شد (NRC ۲۰۰۱).

در این آزمایش علاوه بر سرنگ‌های شیشه‌ای ۱۰۰ میلی‌لیتری معمول (ساخت کشور آلمان) که در اندازه‌گیری آزمون تولید گاز استفاده می‌شود از دو نوع سرنگ پلاستیکی ۶۰ میلی‌لیتری (تولید شده در داخل کشور) نیز استفاده شد. سرنگ پلاستیکی نوع اول از

کیفیت بالایی برخوردار بود به طوری‌که بدنه محکمی داشته و پیستون داخل آن به راحتی حرکت می‌کرد. سرنگ پلاستیکی نوع دوم از کیفیت متوسطی برخوردار بوده به طوری‌که بدنه چندان محکمی نداشته و پیستون داخل آن در برخی فواصل به ویژه در دمای ۳۹ درجه سلسیوس حرکت روانی نداشت. قبل از استفاده از هر سه نوع سرنگ دیواره داخلی آن‌ها با مقدار کمی وازلین آغشته شد تا علاوه بر حرکت آسان و بدون اصطکاک پیستون از نشت گاز تولیدی داخل سرنگ از اطراف سرپیستون جلوگیری شود.

آزمون تولید گاز مواد خوراکی با روش مرسوم و بر پایه روش پیشنهادی منک و همکاران (۱۹۷۹) و تغییر یافته توسط بلومل و ارسکوف (۱۹۹۳) به شرح زیر انجام شد. مواد خوراکی ابتدا با آسیاب دارای الک یک میلی‌متری آسیاب و همگن شده و ۲۰۰ میلی‌گرم از نمونه براساس ماده خشک در داخل هر سه نوع سرنگ تحت آزمایش ریخته شده و برای هر نمونه سه تکرار در نظر گرفته شد. تکرار آزمایش با فاصله دو هفته برای هر نمونه انجام شد. مایع شکمبه از ۳ رأس گوسفند دارای فیستوله شکمبه‌ای قبل از خوراک‌دهی صبح تهیه شده و بعد از صاف کردن با پارچه متقال دولایه با هم دیگر مخلوط شد. مایع شکمبه با بافر تهیه شده به روش منک و استانگاس (۱۹۸۸) با نسبت‌های یک (مایع شکمبه) به دو (بافر) با هم مخلوط شد. مایع شکمبه از زمان اخذ از دام تا مخلوط شدن با بافر تحت گاز دی‌اکسید کربن قرار گرفت. مقدار۳۰ میلی لیتر از محیط کشت تهیه شده (مخلوط مایع شکمبه و بافر) در داخل هر سرنگ حاوی نمونه ریخته و در داخل آب ۳۹ درجه سلسیوس موجود در یک بن‌ماری قرار داده شد. برای حذف خطای ناشی از گاز تولیدی در اثر عمل میکروارگانیسم‌ها روی مواد خوراکی موجود در مایع شکمبه از سرنگ‌های شاهد (فقط حاوی ۳۰ میلی‌لیتر از محیط کشت) استفاده شد. برای حذف خطای ناشی از نمونه‌گیری مایع شکمبه در روزهای مختلف از نمونه استاندارد طبق روش منک و همکاران (۱۹۷۹) استفاده شد. میزان گاز تولیدی در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت ثبت شد. فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری بر اساس داده‌های حاصل از قرائت گاز با استفاده از مدل فرنس و همکاران (۱۹۹۳) با احتساب زمان تأخیر برآورد شد.

$$G = A\ (1-e^{-c\ (t-L)-d\ (\sqrt{t}-\sqrt{L})}) \quad \text{(رابطه ۱)}$$

جایی که G برابر با تجمع گاز تولید شده در واحد زمان است، A برابر با مقدار کل تولید گاز (میلی لیتر)، c برابر با نرخ ثابت تولید گاز (میلی لیتر در ساعت)، d برابر با یک ثابت نرخ تولید گاز (میلی لیتر در ساعت ۱/۲)، L برابر با فاز تاخیر، t زمان و $t_{½}$ زمان برابر نیمی از کل زمان تولید گاز تجمعی است.

برای برآورد انرژی قابل متابولیسم و قابلیت هضم ماده آلی از رابطه پیشنهادی منک و استانگاس (۱۹۸۸) و برای برآورد اسیدهای چرب کوتاه زنجیر از رابطه پیشنهادی گتاچیو و همکاران (۱۹۹۸) استفاده شد.

$$ME\ (MJ/kgDM) = 2.20 + 0.136GP + 0.057CP + 0.0029EE^2 \quad \text{(رابطه ۲)}$$

$$ME\ (MJ/kgDM) = 1.06 + 0.157GP + 0.084CP + 0.22EE - 0.081Ash \quad \text{(رابطه ۳)}$$

$$OMD = 16.49 + 0.9042GP + 0.0492CP + 0.0387Ash \quad \text{(رابطه ۴)}$$

$$SCFA\ (mmol/200\ mgDM) = 0.0239GP - 0.0601 \quad \text{(رابطه ۵)}$$

از رابطه ۲ برای برآورد انرژی قابل متابولیسم مواد علوفه‌ای (علوفه یونجه و چچم) و از رابطه ۳ برای برآورد انرژی قابل متابولیسم مواد کنسانتره‌ای (دانه جو و ذرت و کنجاله سویا و کلزا) استفاده شد. در این روابط GP مقدار گاز تولید شده از ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک نمونه در ۲۴ ساعت، CP پروتئین خام، EE چربی خام و Ash خاکستر است (بر حسب درصد در ماده خشک).

داده‌های جمع آوری شده در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم افزار آماری SAS تجزیه و تحلیل شد (۲۰۰۴). برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن و سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد. همبستگی بین داده‌های حاصل از سرنگ‌های پلاستیکی با شیشه‌ای و

سطح معنی‌داری آن‌ها با استفاده از رویه CORR با نرم افزار SAS انجام شد.

Table 1- Chemical composition of feed ingredients used in this study (DM, %)

Experimental treatment	DM[1]	CP	EE	[2]aNDF	NFC	Ash
Alfalfa hay	89.12	16.23	2.72	46.34	23.75	10.96
Rye forage	91.23	12.12	2.05	52.13	26.14	7.56
Barley grain	89.47	13.44	2.59	27.85	53.77	2.35
Corn grain	88.45	7.98	4.35	12.64	73.54	1.49
Soybean meal	90.56	44.56	1.56	18.94	28.82	6.12
Rapeseed Meal	88.89	37.78	1.76	39.69	14.02	6.75

1: Values based on fresh weight; 2: Neutral-detergent fibre (NDF), which was determined by initial treatment with alpha-amylase.

نتایج و بحث

مواد خوراکی استفاده شده در این پژوهش از سه گروه اصلی مواد خوراکی دام شامل مواد علوفه‌ای (علوفه یونجه و چچم)، دانه‌ای (دانه جو و ذرت) و مکمل‌های پروتئینی (کنجاله سویا و کلزا) انتخاب شده بودند که ترکیبات شیمیایی آن‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. علوفه یونجه و چچم غنی از الیاف، دانه جو و ذرت غنی از کربوهیدرات‌های غیرفیبری و کنجاله سویا و کلزا بیشترین پروتئین خام را داشتند. به طور کلی نتایج حاصل از ترکیبات شیمیایی برای مواد خوراکی استفاده شده در این پژوهش با جداول استاندارد پیشنهادی کمیته ملی تحقیقات NRC (۲۰۰۱) منطبق بود. هر چند در مورد برخی از مواد خوراکی اختلاف کمی وجود داشت. به‌طوری که پروتئین خام دانه جو اندکی بیشتر (۱۳/۴۴ در برابر ۱۲/۴۰ درصد) و پروتئین خام دانه ذرت اندکی کمتر (۷/۹۸ در برابر ۹/۴۰ درصد) از جداول استاندارد پیشنهادی NRC (۲۰۰۱) بود. در پژوهشی فلاحتی زو و همکاران (۲۰۱۵) پروتئین خام علوفه یونجه، کنجاله سویا و کنجاله کلزا را به ترتیب ۱۶/۳۰، ۴۲/۵۰ و ۳۸/۴۰ درصد در ماده خشک گزارش کردند که با نتایج این پژوهش تفاوت اندکی دارد. مقدار گاز تجمعی تولید شده از مواد خوراکی در سرنگ‌های شیشه‌ای و پلاستیکی در برخی از ساعت‌های اندازه‌گیری در جدول ۲ نشان داده شده است. در ساعت ۶ اندازه‌گیری بین سرنگ‌های شیشه‌ای و پلاستیکی نوع اول از نظر حجم گاز تولید شده در بین مواد خوراکی استفاده شده در این پژوهش به جز دانه جو تفاوت معنی داری وجود نداشت. در مورد علوفه چچم عدم تفاوت معنی‌داری در ساعت شش بین هر سه نوع سرنگ مشاهده شد. در ساعت ۲۴ تفاوت معنی‌داری بین سرنگ‌های شیشه‌ای و پلاستیکی از نظر حجم گاز تولید شده به جز دانه ذرت و کنجاله کلزا وجود داشت. حجم گاز تجمعی تولید شده در مدت ۲۴ ساعت با توجه به این‌که در روابط برآورد انرژی قابل متابولیسم، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و قابلیت هضم ماده آلی به‌طور مستقیم استفاده می‌شود، اهمیت فراوانی دارد (منک و استانگاس ۱۹۸۸). حجم گاز تولید شده در سرنگ‌های شیشه‌ای برای دانه جو در زمان ۲۴ ساعت ۶۳/۵۹ میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک توسط عباس و همکاران (۲۰۰۵) گزارش شده است که با نتایج این پژوهش منطبق است اما بیشتر از مقدار گزارش شده (۵۰ میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک) توسط پرنیان و همکاران (۲۰۱۱) و همچنین بیشتر از نتایج سروری و همکاران (۲۰۱۵) بود که ۵۱/۲ میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک گزارش کرده است. تولید گاز ۲۴ ساعته در این پژوهش در سرنگ‌های شیشه‌ای اختلاف اندکی با نتایج عباس و همکاران (۲۰۰۵) (۴۱/۱۸ میلی‌لیتر) داشت اما در مورد دانه ذرت (۶۷/۹۴ میلی‌لیتر) اختلاف زیاد بود.

این اختلاف می‌تواند به علت تفاوت در نوع گونه یا رقم دانه‌های کشت شده و به شرایط مختلف در حین تولید محصول در مزرعه مربوط باشد و همچنین در برخی واریته‌ها و نیز کیفیت نگهداری ذرت می‌توان گفت نشاسته خالص آن به دلیل نبود هیچ پوششی با نرخ

بالایی توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه تجزیه شده و تولید گاز می‌کند (سیرجانی و همکاران ۲۰۱۷).

Table 2- Net volume of cumulative gas production from feedstuffs by different syringes at some measurement hours of gas production test (200 ml/mg of dry matter)

Hours	Glass syringes	Type 1 plastic Ssyringe[1]	Type 2 plastic syringe[2]	SEM	P-Value
Alfalfa hay					
6	13.95[a]	12.88[a]	9.90[b]	0.40	0.01
24	39.47[a]	36.47[b]	27.78[c]	0.66	0.01
96	53.84[a]	44.94[b]	37.82[c]	1.39	0.01
Rye forage					
6	18.17	16.96	16.45	0.74	0.27
24	44.22[a]	41.08[b]	40.54[b]	0.88	0.02
96	60.74[a]	55.87[b]	49.00[c]	1.09	0.01
Barley grain					
6	21.22[a]	18.21[b]	17.40[b]	0.76	0.01
24	65.28[a]	57.69[b]	55.15[b]	1.25	0.01
96	79.02[a]	68.86[b]	69.40[b]	1.02	0.01
Corn grain					
6	11.40[a]	10.61[ab]	9.65[b]	0.50	0.01
24	58.95[a]	54.76[a]	46.15[b]	1.44	0.01
96	72.60[a]	64.93[b]	54.23[c]	1.24	0.01
Soybean meal					
6	23.00[a]	21.65[a]	17.81[b]	0.96	0.01
24	51.88[a]	46.05[b]	39.05[c]	1.42	0.01
96	64.97[a]	56.13[b]	46.60[c]	1.54	0.01
Rapeseed meal					
6	23.87[a]	23.27[a]	18.56[b]	0.45	0.01
24	44.35[a]	43.32[a]	33.28[b]	0.95	0.01
96	60.89[a]	59.38[a]	44.64[b]	0.79	0.01

1: High quality; 2: Medium quality; Means with different superscripts ([a,b,c,d,e]) among treatments are significantly different ($p<0.05$).

در ساعت ۹۶ نیز بین سرنگ‌های شیشه‌ای و پلاستیکی از نظر حجم گاز تولید شده به جز کنجاله کلزا تفاوت معنی‌داری وجود داشت.

ترکیبات شیمیایی مختلف در ماده خوراکی در مقادیر وزنی یکسان حجم گاز متفاوتی را تولید می‌کنند به‌طوری که بیشترین حجم گاز از بخش کربوهیدرات‌ها تولید می‌شود (منک و استانگاس ۱۹۸۸). تولید گاز ناشی از تخمیر پروتئین در مقایسه با کربوهیدرات‌ها نسبتاً کم است و سهم چربی در تولید گاز جزئی است (گتاچیو و همکاران ۲۰۰۲). در آزمون تولید گاز مواد خوراکی که گاز بیشتری تولید می‌کنند نشان دهنده مورد استفاده قرارگیری بهتر آن‌ها توسط نشخوارکنندگان هستند (کابرال و همکاران ۲۰۱۹). به طوری که لشکری و تقی زاده (۲۰۱۲) نشان دادند که در خوراک‌های حاوی مقادیر بالای کربوهیدرات محلول (تفاله مرکبات) تولید گاز بیشتری می‌کنند. در مجموع این نتایج نشان داد که حجم گاز تولید شده در سرنگ‌های پلاستیکی نوع اول و دوم نسبت به سرنگ‌های شیشه‌ای کمتر است.

به نظر می‌رسد که در ساعت‌های اولیه اندازه‌گیری حجم گاز تولید شده علی رغم آغشته نمودن دیواره داخلی سرنگ‌ها با وازلین تفاوت چندانی از نحوه حرکت پیستون داخل سرنگ در بین سرنگ‌های آزمایشی وجود ندارد.

Table 3- The gas production parameters by different measurement syringes of gas production method

Parameters	Glass syringes	Type 1 plastic syringe[1]	Type 2 plastic syringe[2]	SEM	P-Value
Alfalfa hay					
A[3]	266.10[a]	221.57[b]	187.93[c]	7.94	0.01
c[4]	0.06[b]	0.11[a]	0.06[b]	0.01	0.01
Lag[5]	-0.15	0.85	-0.47	0.58	0.28
Rye forage					
A[3]	303.99[a]	281.12[b]	240.67[c]	6.80	0.01
c[4]	0.04[ab]	0.03[b]	0.06[a]	0.01	0.03
Lag[5]	-1.04	-2.16	-0.95	0.46	0.15
Barley grain					
A[3]	390.01[a]	338.73[b]	343.51[b]	4.60	0.01
c[4]	0.10[b]	0.12[a]	0.09[b]	0.01	0.01
Lag[5]	0.81[b]	1.04[a]	0.69[b]	0.07	0.01
Corn grain					
A[3]	365.26[a]	323.68[b]	270.89[c]	6.26	0.01
c[4]	0.15	0.16	0.16	0.01	0.17
Lag[5]	1.67	1.66	1.63	0.03	0.57
Soybean meal					
A[3]	321.83[a]	277.56[b]	226.71[c]	4.43	0.01
c[4]	0.07	0.07	0.07	0.01	0.96
Lag[5]	-0.08[a]	-.45[ab]	-0.65[b]	0.15	0.01
Rapeseed meal					
A[3]	308.00[a]	300.06[a]	227.40[b]	3.70	0.01
c[4]	0.04	0.04	0.03	0.01	0.17
Lag[5]	-1.68[a]	-1.67[a]	-2.97[b]	0.33	0.02

1: High quality; 2: Medium quality; 3: Gas production potential (mL / g DM); 4: Gas production rate (Units per hour); 5: Lag time (Hours). Means with different superscripts ([a,b,c]) among treatments are significantly different ($p<0.05$).

اما با افزایش زمان عواملی نظیر کاهش لغزندگی پیستون سرنگ به واسطه کاهش تأثیر پارافین به عنوان لغزنده کننده در سرنگ‌های پلاستیکی سبب کندی حرکت پیستون داخل سرنگ شده است.با توجه به این‌که در بررسی منابع انجام شده گزارش مشابهی با یافته‌های این پژوهش وجود نداشت امکان مقایسه نتایج با پژوهش‌های مشابه ممکن نشد.

فراسنجه‌های حاصل از آزمون تولید گاز مواد خوراکی در سرنگ‌های مختلف در جدول ۳ نشان داده شده است. بین سرنگ‌های شیشه‌ای و پلاستیکی نوع اول و دوم از نظر فراسنجه A یا پتانسیل تولید گاز به جز کنجاله کلزا تفاوت معنی‌داری وجود داشت.

مقادیر پتانسیل تولید گاز همانند حجم گاز تولید شده در سرنگ‌های پلاستیکی به ویژه نوع دوم آن نسبت به سرنگ شیشه‌ای کمتر بود. بین سرنگ شیشه‌ای و پلاستیکی نوع اول از نظر فراسنجه *c* یا نرخ تولید گاز به جز علوفه یونجه و دانه جو تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. کاهش بخش‌های (A) و (c) می‌تواند بیانگر کاهش

تخمیر و احتمالا عبورماده خشک شده به قسمت‌های بعد شکمبه‌ای می‌باشد. این کاهش از نظر تغذیه‌ای مطلوب است چرا که اثرات منفی میزان تخمیر بالای دانه جو را در شکمبه تعدیل نموده و می‌تواند باعث جلوگیری از بروز اسیدوز شکمبه‌ای گردد (سروری و همکاران ۲۰۱۷).

Table 4- Metabolizable energy (MJ/kg DM), short chain fatty acids (mmoL/200 mg DM), and organic matter digestibility (%) of feed materials by different measurement syringes of gas production method

Parameters	Glass syringes	Type 1 plastic syringe[1]	Type 2 plastic syringe[2]	SEM	P-Value
Alfalfa hay					

ME[3]	8.5[a]	8.10[b]	6.92[c]	0.09	0.01
SCFA[4]	0.88[a]	0.81[b]	0.61[c]	0.02	0.01
OMD[5]	64.41[a]	61.69[b]	53.83[c]	0.59	0.01
Rye forage					
ME[3]	8.90[a]	8.48[b]	8.40[b]	0.12	0.03
SCFA[4]	0.99[a]	0.92[b]	0.91[b]	0.02	0.03
OMD[5]	66.14	65.23	66.68	0.57	0.24
Barley grain					
ME[3]	12.82[a]	11.63[b]	11.23[b]	0.19	0.01
SCFA[4]	1.5[a]	1.32[b]	1.26[b]	0.03	0.01
OMD[5]	82.05[a]	74.54[b]	72.02[b]	1.23	0.01
Corn grain					
ME[3]	11.82[a]	11.16[a]	9.81[b]	0.23	0.01
SCFA[4]	1.35[a]	1.25[a]	1.04[b]	0.03	0.01
OMD[5]	72.38[a]	68.23[a]	59.71[b]	1.43	0.01
Soybean meal					
ME[3]	12.79[a]	11.88[b]	10.78[c]	0.22	0.01
SCFA[4]	1.18[a]	1.04[b]	0.87[c]	0.03	0.01
OMD[5]	87.97[a]	82.21[b]	75.27[c]	1.40	0.01
Rapeseed meal					
ME[3]	11.04[a]	10.88[a]	9.30[b]	0.15	0.01
SCFA[4]	0.99[a]	0.97[a]	0.73[b]	0.02	0.01
OMD[5]	76.60[a]	75.58[a]	65.64[b]	0.94	0.01

1: High quality; 2: Medium quality; 3: Gas production potential (mL / g DM); 4: Gas production rate (Units per hour); 5: Lag time (Hours). Means with different superscripts ([a,b,c]) among treatments are significantly different ($p<0.05$).

بین سرنگ‌های شیشه‌ای و پلاستیکی نوع اول از نظر فراسنجه *Lag* یا زمان تأخیر برای تمام مواد خوراکی به جز دانه جو تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. تفاوت معنی‌داری بین سرنگ شیشه‌ای و پلاستیکی نوع دوم برای کنجاله سویا و کلزا از نظر فراسنجه زمان تأخیر وجود داشت.

اما برای علوفه یونجه، علوفه چچم، دانه جو و دانه ذرت تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. هر چند نرخ تولید گاز برای دانه جو در گزارش پرنیان و همکاران (۲۰۱۱) و سروری و همکاران (۲۰۱۷) اختلاف اندکی با نتیجه به دست آمده در این پژوهش در سرنگ‌های شیشه‌ای داشت (۰/۱۰۰۱ در برابر ۰/۱۰۳۱) اما از نظر پتانسیل تولید گاز این اختلاف بیشتر بود (۲۹۰/۹۵ در برابر ۳۹۰/۰۱ میلی‌لیتر به ازای هر گرم ماده خشک).

انرژی قابل متابولیسم برآورد شده از مواد خوراکی مختلف (جدول۴) نشان داد که بین سرنگ‌های شیشه‌ای و پلاستیکی نوع اول برای دانه ذرت و کنجاله کلزا تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. اما برای سایر مواد خوراکی تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. از نظر برآورد تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر در بین مواد خوراکی دانه ذرت و کنجاله کلزا تفاوت معنی‌داری را بین سرنگ‌های شیشه‌ای و پلاستیکی نوع اول نشان ندادند اما برای مواد خوراکی علوفه یونجه، علوفه چچم، دانه جو و کنجاله سویا تفاوت معنی‌دار دریافت شد. هر چند علوفه چچم، دانه ذرت و کنجاله کلزا از نظر برآورد قابلیت هضم ماده آلی بین سرنگ‌های شیشه‌ای و پلاستیکی نوع اول تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند. اما علوفه یونجه، دانه جو و کنجاله سویا دارای تفاوت معنی‌دار بودند.

قابلیت هضم ماده آلی برآورد شده برای علوفه چچم تفاوت معنی‌داری را بین سرنگ‌های شیشه‌ای با پلاستیکی نوع اول و نوع دوم نشان نداد. زمانی که مواد خوراکی با مایع شکمبه در شرایط آزمایشگاهی تخمیر می‌شوند کربوهیدرات‌ها به اسیدهای چرب کوتاه زنجیر مثل اسیدهای استیک، پروپیونیک، بوتیریک، والریک، لاکتیک و ... و گازهایی مثل دی اکسید کربن و متان تبدیل می‌شوند (بلومل و ارسکوف ۱۹۹۳). با این حال روابط رگرسیونی، خواص فیزیکی متفاوت خوراک‌ها 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 (پرند و تقی زاده ۱۳۸۹ و میر شادی و همکاران ۱۳۹۵). ضرایب همبستگی بالایی بین سرنگ-های شیشه‌ای و سرنگ‌های پلاستیکی نوع اول و نوع دوم از نظر موارد اندازه‌گیری شده در آزمون تولید گاز وجود داشت. ضرایب همبستگی برای سرنگ پلاستیکی نوع اول بین ۰/۹۰ تا ۰/۹۸ متغیر بوده و معنی‌دار بودند. ضرایب همبستگی برای سرنگ‌های پلاستیکی نوع دوم نیز بین ۰/۸۴ تا ۰/۹۷ و معنی‌دار بودند.

Table 5-Correlation coefficients (r) between the total mean of feedstuffs by glass and plastic type I and II syringes of the gas production method

	Type 1 plastic syringe[1]		Type 2 plastic syringe[2]	
Parameters	Correlation coefficient	P-Value	Correlation coefficient	P-Value
6	0.98	0.01	0.96	0.01
24	0.98	0.01	0.94	0.01
96	0.93	0.01	0.95	0.01
A[3]	0.93	0.01	0.94	0.01
c[4]	0.91	0.01	0.96	0.01
Lag[5]	0.90	0.01	0.97	0.01
ME[6]	0.98	0.01	0.96	0.01
SCFA[7]	0.98	0.01	0.94	0.01
OMD[8]	0.97	0.01	0.84	0.03

1: High quality; 2: Medium quality; 3: Gas production potential (mL / g DM); 4: Gas production rate (Units per hour); 5: Lag time (Hours); 6: Metabolizable energy; 7: Short chain fatty acids; 8: Organic matter digestibility. Means with different superscripts (^{a,b,c}) among treatments are significantly different ($p<0.05$).

نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که مقادیر اندازه‌گیری شده حجم گاز تولیدی و فراسنجه‌های برآورد شده در سرنگ‌های پلاستیکی به ویژه نوع دوم آن نسبت به سرنگ‌های شیشه‌ای کمتر بود هر چند که در مورد برخی از مواد خوراکی از جمله دانه ذرت و کنجاله کلزا نتایج بین سرنگ‌های شیشه‌ای و پلاستیکی نوع اول در اغلب موارد مشابه بود. وجود ضرایب همبستگی بالا بین نتایج حاصل از سرنگ‌ها نشان می‌دهد که امکان تهیه مدل‌های ریاضی برای برآورد نتایج مورد نظر هنگام استفاده از سرنگ‌های پلاستیکی وجود دارد. البته نیاز به تحقیقات بیشتر و استفاده از تعداد مواد خوراکی بیشتری در ارائه مدل‌های رگرسیونی برای برآورد نتایج معادل سرنگ‌های شیشه‌ای به هنگام استفاده از سرنگ‌های پلاستیکی است.

منابع مورد استفاده

Abas I, Pinar H, Kutay HC and Kahraman R, 2005. Determination of the metabolizable energy (ME) and net energy lactation (NEL) contents of some feeds in the Marmara region by in vitro gas technique. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences 29: 751-757.

AOAC, 2000. Official methods of analysis of AOAC. International 17th edition; Gaithersburg. M, D., USA Association of Analytical Communities.

Blümmel M and Ørskov ER, 1993. Comparison of gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. Animal Feed Science and Technology 40: 109–119.

Cabral ÍS, Azevêdo JAG, Pina DS, Pereira LGR, Fernandes HJ, Almeida FM, Souza LL, Lima RF and Cirne LGA, 2019. Evaluation of models utilized in in vitro gas production from tropical feedstuffs. Semina: Ciências Agrárias 40: 443-456.

Falahatizow JA, Mesgaran MD, Vakili AR, Tahmasbi AM and Nazari MR, 2015. The estimation of ruminal protein degradation parameters of various feeds using in vitro modified gas production technique. Iranian Journal of Veterinary Research. 16: 47-52.

Fedorak PM and Hrudey SE, 1983. A Simple apparatus for measuring gas production by methanogenic cultures in serum bottles. Environmental Technology Letters. 4: 425- 435.

France J, Dhanoa MS, Theodorou MK, Lister SJ, Davies DR and Isac D, 1993. A model to interpret gas accumulation profiles associated with in vitro degradation of ruminant feeds. Journal of Theoretical Biology 163: 99-111.

Getachew G, Makkar HPS and Becker K, 1998. The in vitro gas coupled with ammonia measurement for evaluation of nitrogen degradability in low quality roughages using incubation medium of different buffering capacity. Journal of the Science of Food and Agriculture 77: 87-95.

Getachew G, Makkar HPS and Becker K, 2002. Tropical browses: contents of phenolic compounds, in vitro gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acid and in vitro gas production. The Journal of Agricultural Science 139: 341-352.

Karlsson L, Hetta M, Udén P and Martinsson K, 2009. New methodology for estimating rumen protein degradation using the in vitro gas production technique. Animal Feed Science and Technology 153: 193-202.

Lashkari S and Taghizadeh A, 2012. Estimating of chemical composition, degradability, and fermentation parameters of citrus by- products using in situ and gas production techniques. Journal of Animal Science Research 23: 15 - 28.

Menke KH and Steingass H, 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. Animal Research and Development 28: 7-55.

Menke KH, Raab L, Salewski A, Steingass H, Fritz D and Schneider W, 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. Journal of Agricultural Science 93: 217-222.

Mirshadi Sh, Taghizadeh A and Navidgbloo B, 2016. Determine the chemical composition and gas production parameters *Vicia sativa, Lathyrus sativus and Vicia ervilia* grain by in Vitro Gas Production Technique. Journal of Animal Science Research 26: 1255 - 135.

National Research Council, 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. Washington, DC. National Academy of Sciences, 381.

Parand E, Taghizadeh A, 2011. Examination of digestibility of processed barley grain with different methods, using gas production technique with two sources of inocola. Journal Animal Science Research 20: 1-13.

Parnian Khaje Dizaj F, Taghizadeh A, Moghaddam Gh and Jan Mohammadi H, 2011. Use of gas production method to investigate the effects of different microwave irradiation times on the nutritional parameters of barley and corn seeds. Journal of Animal Science Research 21: 15 - 27.

Sarvari S, Hosseinkhani A, Taghizadeh A, Janmohammadi H, Daghighkia H and Mohammadzadeh H, 2015. The effects of variety and time of roasting on chemical composition and estimate fermentation and physical parameters of barley grain using *in vitro* gas production technique. Journal of Animal Science Research 25: 1 - 12.

Sarvari S, Hosseinkhani A, Taghizadeh A, Janmohammadi H and Mohammadzadeh H, 2017.The effects of variety and roasting on physical characteristics and ruminal degradability of barley grain. Journal of Animal Science Research 28: 47- 63.

SAS Institute, 2004. SAS 9.1 for Windows. SAS Institute, Cary, NC.

Sirjani MH, Kazemi-Bonchenari M, Fatehi F, Moradi MH and Makkar HPS, 2017. Use of *in vitro* gas production technique for evaluation of corn meal nutritional value and fermentative predictions with comparison to some cereal sources. Journal of Animal Science Research 28: 159 - 176.

Theodorou MK, Williams BA, Dhanoa MS, McAllan AB and France J, 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology 48: 185-197.

Van Soest PJ, Robertson JB and Lewis BA, 1991. Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science 74: 3583- 3597.

Evaluation of the use of plastic syringes instead of glass syringes in the gas production technique for evaluating some feedstuffs

J Seifdavati[1*], T Yalchi[2], R Seyed Sharifi[1] and H Abdi Benemar[1]

Received: September 03, 2019 Accepted: December 30, 2019
[1]Associates Professor, Department of Animal Science, University of Mohaghegh Ardabili
[2]Assistance Professor, Department of Animal Science, University of Mohaghegh Ardabili
[*]Corresponding Author: jseifdavati@uma.ac.ir

پژوهش‌های علوم دامی Animal Science Researches

Journal of Animal Science/vol.30 No.1/ 2020/pp 45-56
https://animalscience.tabrizu.ac.ir

OPEN ACCESS

© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
This is an open access article under the CC BY NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/)
DOI: 10.22034/AS.2020.11002

Introduction: Determining the nutritional value of nutrients used in animal feed or diets using live livestock are costly and time-consuming; so, there is a great tendency to evaluate them using laboratory methods. Measurement of the gas production parameters from *in vitro* fermentation of feedstuffs was established by Menck et al. (1979). In this method, the fermentation of the feed sample and measurement of gas production parameters take place in glass syringes by a rotary incubator, which was positioned horizontally at specific locations to mimic ruminal conditions. In order to eliminate the disadvantages and improve the original method of gas production test proposed by Menek and Steingass (1988), several studies have been carried out by various researchers. Changing laboratory equipment's of gas test was carried out mainly by Blümmel and Ørskov (1993), using a water bath or Bin Marie instead of a rotating incubator and the rotation of the syringes in the incubator was compensated by shaking the syringes by hand. In a report by Fedorak and Hrudey (1983), a simple method was used to measure the volume of produced gas using a graded petite-like, thin-walled glass tube attached to a culture medium containing bottle and based on the displacement of water inside the pet. In another report, Theodorou et al. (1994) also used a barometer to connect the hose to a bottle containing the culture medium to estimate the gas production. The cost of producing a rotary incubator for measuring the gas test with glass syringes is high and has the potential to be difficult to install and operate, due to the sensitivity and fragility of the syringes. It seems that most efforts of previous researchers have been based on the improvement and simplification of the original method. Glass syringes are an imported commodity and will cause the currency to exit the country; thus, replacing it with plastic syringes can reduce country's dependence on imports and reduce the costs of related research. A search of reliable scientific sources at home and abroad shows that there has been no report on the comparison of plastic syringes with glass in the gas production test. This study was conducted to evaluate the use of plastic syringes instead of glass syringes in the parameters of gas production of some feedstuffs.
Material and methods: The feedstuffs included alfalfa hay, perennial ryegrass, barley grain, corn grain, soybean meal, and rapeseed meal. Glass syringes and two types of plastic syringes of type I and II (high and medium quality respectively) were used. The gas production parameters were determined using commonly used models and the data were analyzed based on a completely randomized design. Menke et al. (1979) method was used to measure the amount of gas production. The amounts of short chain fatty acids, digestibility of dry matter, organic matter in dry matter, and metabolizable energy were estimated using related equations (Menke and Steinggass, 1988). The

data obtained from the method of gas production were analyzed based on a completely randomized design with repeated measurements design using SAS (2003) software.

Results and discussion: The results of the net volume of gas produced from the feedstuffs (except barley grain) at 6 h did not show a significant difference between glass syringes and type I plastic syringes ($P>0.05$). There was no significant difference between the three types of syringes at 6 h in rye forage. At 24 h, there was a significant difference between glass syringes and plastic syringes in terms of gas volume ($P<0.05$), except for corn grain and rapeseed meal. At 96 h, there was a significant difference between glass and plastic syringes in terms of volume of gas production ($P<0.05$), except for rapeseed meal. Between glass syringes and plastic syringes type I and II, there was a significant difference in terms of gas production potential for all feedstuffs ($P<0.05$), except for rapeseed meal. Overall, these results showed that the volume of gas production in type I and type II plastic syringes was lower than that of glass syringes. There was a significant difference between the glass and plastic syringes of types I and II in terms of A or gas production potential ($P<0.05$), except for rapeseed meal. The potential of gas production was lower than that of glass syringes, similar to the volume of gas production in plastic syringes, especially its second type. There was no significant difference between the glass and plastic syringes of the first type in terms of c parameter or gas production rate, except for alfalfa hay and barley grain. There was no significant difference between type I glass and plastic syringes in terms of lag or lag time for all feedstuffs, except for barley grain. In terms of lag time, there was a significant difference between type II syringes and plastic syringes for soybean meal and rapeseed. However, for alfalfa hay, ryegrass, barley grain, and corn grain, there were no significant differences in terms of Metabolizable energy, short-chain fatty acids, and organic matter digestibility estimated from feedstuffs showed that there was no significant difference between glass syringes and plastic syringes of type I only for corn grain and canola meal. High correlation coefficients ($r = 0.90$ to 0.98) were found between the results of glass syringes with type I plastic syringes.

When feed is fermented with ruminal liquid in vitro conditions, its carbohydrates are converted to short-chain fatty acids such as acetic, propionic, butyric, valeric, lactic, etc., and gases (such as carbon dioxide and methane (Blümmel and Ørskov, 1993). However, regression relationships do not take into account the different physical properties of feeds in the rumen, as well as digestive differences in the lower parts of the gastrointestinal tract. But, regression relations estimate only the total amount of volatile fatty acids (Parand and Taghizadeh, 2011, Mirshadi et al., 2016).

Conclusion: The results showed that the measured volumes of gas production and estimated parameters in plastic syringes, especially its second type, were lower than those of glass syringes; though, in some feeds inclusions of maize seed and rapeseed were similar in most cases to glass and plastic syringes of the first type. The high correlation coefficients between the results of the syringes indicate that it is possible to develop mathematical models for estimating the desirable results when using plastic syringes. However, more research is needed and more feedstuffs should be used to provide regression models to estimate the results equivalent to glass syringes, when using plastic syringes. The lack of significance of the results in some feedstuffs and the high correlation coefficients between the results of the syringes show that it is possible to replace high-quality plastic syringes instead of glass syringes.

Key word: Feedstuffs, Gas production parameters, Gas production test, Plastic syringes