



دانشگاه گیلان

نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان

جلد ششم، شماره اول، ۱۳۹۷

<http://ejrr.gau.ac.ir>

ارزیابی اثر پرتوتابی الکترون بر ارزش تغذیه‌ای تفاله انگور قرمز در تغذیه نشخوارکنندگان با استفاده از روش‌های آزمایشگاهی و تکنیک کیسه‌های نایلونی

بهزاد اسدنژاد^۱، رسول پیرمحمدی^۲ و *حامد خلیل‌وندی بهروزیار^۳

^۱دانشجوی دکتری، ^۲استاد و ^۳استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: ۹۶۷۷/۱۰؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۴

چکیده

سابقه و هدف: مصرف مقادیر بالای تانن‌های متراکم از طریق جیره غذایی بسته به نوع و منبع آن و میزان مقاومت دام، تأثیر منفی بر توان مصرف خوراک، ضرایب گوارش پذیری و بازدهی تولید در نشخوارکنندگان دارد. تاکنون روش‌های مختلفی با هدف کاهش فعالیت و غلظت تانن‌های متراکم در مواد خوراکی مورد استفاده در تغذیه دام مورد آزمون قرار گرفته‌اند. روش‌های مختلف پرتوتابی به‌عنوان عمل‌آوری‌های پاک و بدون آلودگی‌های شیمیایی مطرح بوده و با کارایی انرژی بالاتری نسبت به سایر روش‌های عمل‌آوری، می‌توانند جایگزین مناسبی برای بسیاری از عمل‌آوری‌های مرسوم باشند. این پژوهش در راستای بررسی میزان و سطح فعالیت ترکیبات فنولیک و فراسنجه‌های مختلف ارزش تغذیه‌ای تفاله انگور قرمز پرتوتابی شده با امواج بیم الکترونی انجام شد.

مواد و روش‌ها: تفاله انگور قرمز تهیه شده به صورت هوا خشک و دور از نور مستقیم آفتاب خشک شد. عمل‌آوری با الکترون در سه دز، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ کیلوگرمی در مرکز تابش پرتو فرآیند یزد وابسته به سازمان انرژی اتمی ایران با دستگاه بیم الکترون با استفاده از سیستم رودترون انجام شد. پس از اندازه‌گیری مقادیر تانن متراکم و ترکیبات شیمیایی مانند ماده خشک، پروتئین خام، خاکستر و لیاف نامحلول در شوینده خنثی، از سه رأس گوساله نر اخته هلشتاین مجهز به فیستولای شکمبه‌ای به‌منظور تهیه مایع شکمبه و انکوباسیون نمونه‌ها در آزمون تجزیه‌پذیری استفاده شد. انکوباسیون شکمبه‌ای نمونه‌ها در ساعات ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و در دو دوره آزمایش مجزا انجام شد.

یافته‌ها: نتایج این آزمایش نشان دهنده افزایش معنی‌دار مقدار ماده خشک و لیاف نامحلول در شوینده خنثی در تمامی سطوح عمل‌آوری و کاهش پروتئین خام در تیمارهای ۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرمی بود. کل ترکیبات فنولیک، تانن کل، تانن متراکم آزاد، تانن متراکم متصل به پروتئین‌ها و دیواره سلولی و ترکیبات فنولی رسوب دهنده پروتئین در اثر پرتوتابی با الکترون کاهش یافته و میزان تجزیه‌پذیری پروتئین و دیواره سلولی، مقادیر گاز تولیدی در ساعات مختلف

*مسئول مکاتبه: h.khalilvandi@urmia.ac.ir

انکوباسیون و میزان انرژی قابل متابولیسم نسبت به گروه شاهد افزایش یافت. پرتوتابی الکترون همچنین سبب افزایش مقدار کل اسیدهای چرب فرار و میزان متان تولیدی نسبت به گروه شاهد شد. مقدار تجزیه پذیری مؤثر و بخش سریع تجزیه پروتئین نیز افزایش معنی داری نسبت به گروه شاهد نشان داد.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان دهنده تفاوت در پاسخ تفاله انگور قرمز به سطوح مختلف پرتوتابی الکترون و لزوم انجام آزمون درون تنی به منظور ارزیابی بهتر اثر فراوری بود. بر اساس نتایج، بهترین پاسخ در تأثیرگذاری بر فراسنجه‌های ارزش غذایی در راستای بهبود تخمیر شکمبه‌ای، تجزیه پذیری پروتئین و ماده خشک و میزان کاهش غلظت و فعالیت ترکیبات فنولی، را می‌توان مربوط به سطح پرتوتابی با امواجی به شدت ۱۰۰ کیلوگری دانست.

واژه‌های کلیدی: تانن متراکم، پرتوتابی، تجزیه پذیری، تولید گاز

مقدمه

را تحت تأثیر منفی قرار می‌دهند. با این حال، این اثرات بسته به نوع و مقدار تانن مصرف شده و مقاومت دام متفاوت است. علاوه بر تانن‌های متراکم، تانن‌های قابل هیدرولیز دارای وزن مولکولی کمتری بوده و با توان جذب از دستگاه گوارش دارای آثار سمی و مضر پس از جذب از طریق دستگاه گوارش هستند (۳۱). هرواس و همکاران (۲۰۰۳) با تزریق داخل شکمبه‌ای مقادیر متفاوت عصاره حاوی تانن متراکم، کاهش مصرف خوراک و متعاقباً توقف آن یک هفته پس از آغاز آزمایش را در اثر دریافت مقادیر بالای تانن‌های متراکم گزارش نمودند (۱۹). کارایی روش‌های مختلف عمل‌آوری فیزیکی و شیمیایی به منظور کاهش مقدار یا فعالیت تانن‌های متراکم در سال‌های اخیر مورد ارزیابی قرار گرفته است. در این میان آثار نامطلوب زیست محیطی و هزینه بالای این روش‌ها، به واسطه استفاده زیاد از انرژی و مواد شیمیایی مختلف زمینه‌ساز ارزیابی اثر روش‌های کم‌هزینه و پاک در صنعت خوراک دام شده است. فرایندهای پرتوتابی به عنوان عمل‌آوری‌های پاک مطرح بوده و آلودگی‌های شیمیایی ایجاد شده در عمل‌آوری‌های فیزیکی و شیمیایی مرسوم را ندارند. به علاوه این عمل‌آوری‌ها دارای کارایی انرژی

ازدیاد روز افزون جمعیت و کوشش برای فراهم کردن غذا در کنار محدود بودن منابع قابل کشت، نیازمند تلاش و نوآوری بیشتر در زمینه‌های مختلف کشاورزی، دامپروری و علوم وابسته است (۳). در ایران کمبود خوراک دام یکی از مشکلات عمده تولیدات دامی بوده و استفاده از ضایعات و پسماندهای کشاورزی راه حل مناسبی برای رفع این مشکل و کاهش هزینه‌ها و افزایش سودآوری است. پس مانده‌های کشاورزی به‌طور عمده شامل بقایای محصولات زراعی و فرآورده‌های فرعی کارخانجات و صنایع کشاورزی بوده و ضرایب پایین گوارش‌پذیری و نیز وجود ترکیبات ضدتغذیه‌ای در اغلب پسماندهای کشاورزی را می‌توان مهمترین عوامل محدود کننده کاربرد آن‌ها در تغذیه دام دانست. تفاله انگور قرمز یکی از فرآورده‌های فرعی کارخانجات صنایع تبدیلی، حاوی میزان پروتئین و عصاره اتری مطلوب و مقداری فیبر خام غنی از لگنین است. از میان ترکیبات مختلف ضدتغذیه‌ای، تانن‌های متراکم را می‌توان یکی از اصلی‌ترین عوامل محدود کننده مصرف تفاله انگور قرمز دانست. سطوح بالای تانن‌ها، مصرف خوراک، میزان گوارش‌پذیری و راندمان تولید

مختلف ارزش تغذیه‌ای تفاله انگور قرمز در شرایط برون‌تنی و با استفاده از روش کیسه‌های نایلونی بود.

مواد و روش‌ها

محل اجرا و حیوانات مورد استفاده در آزمایش: این پژوهش در ایستگاه آموزشی و پژوهشی گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه با استفاده از سه رأس گوساله نر اخته بالغ هلشتاین مجهز به فیستولای شکمبه‌ای انجام شد. کلیه حیوانات مورد استفاده در این آزمایش بر اساس راهنمای نگهداری و استفاده از حیوانات مزرعه‌ای در تحقیقات علوم دامی نگهداری شدند. حیوانات به صورت انفرادی، دو بار در روز و با جیره حاوی ۴ کیلوگرم یونجه، ۳ کیلوگرم سیلاژ ذرت و ۱/۵ کیلوگرم جو آسیاب شده به میزان ۱۲۰ درصد احتیاجات نگهداری تغذیه شده و در تمام طول مدت آزمایش به آب آشامیدنی سالم و مکمل مواد معدنی لیسیدنی دسترسی داشتند (NRC, 2001) (۳۳).

جمع‌آوری نمونه، فرآوری و تعیین ترکیب شیمیایی: تفاله انگور قرمز به صورت تر (۲۵ درصد ماده خشک) در ده روز مراجعه متوالی از کارخانه پاکدیس شهرستان ارومیه تهیه شد. تفاله انگور قرمز تهیه شده به صورت هوا خشک و تحت سایه خشک شد. عمل‌آوری با پرتوهای الکترون در سه دوز ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ کیلوگری در مرکز تابش پرتو فرآیند یزد وابسته به سازمان انرژی اتمی ایران با استفاده از دستگاه بیم الکترون با استفاده از سیستم رودترون انجام شد (۴۱).

کلیه اندازه‌گیری‌های آزمایشگاهی یا سه تکرار انجام گرفت. نمونه‌ها به منظور تعیین ترکیب شیمیایی با آسیاب آزمایشگاهی با الک ۱ میلی‌متری آسیاب و غلظت ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام و عصاره

بالایی نسبت به سایر روش‌های عمل‌آوری بوده و می‌تواند جایگزین مناسبی برای بسیاری از عمل‌آوری‌های مرسوم باشند. گزارش‌هایی در ارتباط با کارایی استفاده از روش‌های مختلف پرتوتابی از جمله استفاده از پرتوهای یون‌ساز الکترون و گاما در از بین بردن عوامل ضد تغذیه‌ای و افزایش ارزش تغذیه‌ای خوراکی‌ها وجود دارد. تقی‌نژاد و همکاران، (۲۰۰۹) در بررسی کارایی استفاده از پرتوتابی گاما و الکترون در حذف عوامل ضدتغذیه‌ای همانند گوسیپول، تانن‌ها، ممانعت‌کننده‌های پروتئاز، لکتین، اسید فایتیک، پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای و الیگوساکاریدها، افزایش گوارش‌پذیری و یا تغییر محل گوارش و جذب مواد مغذی بدون تغییر کیفیت تغذیه‌ای خوراک، سطوح پرتوتابی بالاتر از ۱۰ کیلوگری را مؤثر ارزیابی نمودند (۴۵). گزارش‌هایی در ارتباط با بهبود کیفیت پروتئین و افزایش گوارش‌پذیری دیواره سلولی علوفه‌ها و کاه غلات در سطوح پرتوتابی بالاتر از ۵۰ و ۱۰۰ کیلوگری وجود دارد (۳۶، ۳۷، ۳۸). پرتو گاما و الکترون نقش قابل‌توجهی در رفع آلودگی قارچی، از بین بردن آفلاتوکسین و رفع بعضی آلودگی‌های باکتریایی مواد خوراکی دارد. اخیراً از پرتو گاما برای کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین مواد خوراکی استفاده شده است و گزارش شده است که تابش گاما و پرتو الکترون می‌تواند سبب افزایش سطح ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدانی در پوست بادام شود (۲۰). پژوهش‌های اندکی در ارتباط با اثر ذره‌های بالای پرتوتابی بر ارزش غذایی پسماندهای کشاورزی به خصوص ترکیبات لیپیدی و ترکیبات دارای مقادیر بالای تانن‌های متراکم وجود دارد. هدف از انجام این پژوهش ارزیابی اثر پرتوتابی الکترون در سه دوز متفاوت بر غلظت و فعالیت زیستی تانن‌های متراکم و فراسنجه‌های

خارج شدن از شکمبه در آب سرد قرار داده شده و با دست به روش پیشنهادی کوبلتز و همکاران (۱۹۹۷) به مدت ۲۰ دقیقه و تا صاف شدن آب خروجی از سطل، شستشو شدند. برای تعیین تجزیه پذیری در زمان صفر، کیسه‌ها بدون انکوباسیون در شکمبه، با استفاده از آب ۳۹ درجه سلیسیوس، همانند کیسه‌های خارج شده از شکمبه شسته شدند. کیسه‌ها پس از شستشو، به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۶۰ درجه سلیسیوس خشک شدند. به منظور اطمینان از عدم وجود تأثیر تغییرات روزانه در ترکیب مایع شکمبه و مقادیر تجزیه پذیری فرایند انکوباسیون کیسه‌ها در دو هفته متوالی تکرار شد. فراسنجه‌های تجزیه پذیری ماده خشک با استفاده از معادله‌ی $P = b(1 - e^{-kt})$ محاسبه شد و میزان تجزیه پذیری مؤثر $(b \times ED) = a + \{c / (c + k)\}$ در سرعت‌های عبور ۰/۰۲، ۰/۰۶ و ۰/۰۸ از شکمبه با استفاده از معادلات غیرخطی ارسکف و مک دونالد (۱۹۷۹) و مک دونالد (۱۹۸۱) با استفاده از PROC NLIN نرم‌افزار آماری SAS 9.4 تعیین شدند (۴۳).

آزمون تولید گاز: به منظور تعیین اثر عمل‌آوری بر میزان گاز تولیدی و میزان غیرفعال شدن ترکیبات فنولی و تانن‌های متراکم در شرایط آزمایشگاهی از تعیین فشار گاز تولیدی (۴۸) در سه دور مجزا و سه تکرار به ازای هر نمونه در هر دور، استفاده شد (۳۰). مایع شکمبه موردنیاز قبل از وعده غذایی صبح از شکمبه حیوانات مورداستفاده در آزمون تجزیه‌پذیری جمع‌آوری و در فلاسک محتوی گازکربنیک سریعاً به آزمایشگاه منتقل شد. به منظور کسب اطمینان از حضور تمامی میکروارگانیسم‌های شکمبه محتویات مایع شکمبه هر سه گاو با هم مخلوط شده و با استفاده از همزن با سرعت بالا به مدت ۳۰ ثانیه مخلوط شده و در نهایت با استفاده از پارچه کتان ۴

اتری با استفاده از روش‌های استاندارد AOAC (۲۰۰۰) و الیاف نامحلول در شوینده خنثی با استفاده از سیستم اتوماتیک آنکوم بر اساس روش ون سوست و همکاران (۱۹۹۱) تعیین شد (۲، ۴۹).

به منظور تعیین ترکیبات فنولیک، کل تانن، تانن متراکم آزاد و متصل به الیاف و پروتئین از روش ماکار (۲۰۰۰) استفاده شد (۲۶). به این منظور، استخراج ترکیبات فنولی با استفاده از ۱۰ میلی‌لیتر استون ۷۰ درصد در داخل حمام اولتراسوند به مدت ۳۰ دقیقه و قدرت ۳۵ کیلوهرتز انجام گرفت. به منظور اندازه‌گیری میزان انواع ترکیبات فنولی در نمونه‌ها از نمونه‌های ریزآسیاب شده با آسیاب توپی با قطر ذرات کمتر از ۵۰۰ میکرون استفاده شد (۲۶).

تعیین میزان تجزیه‌پذیری با استفاده از روش کیسه نایلونی: به منظور تعیین ضرایب تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام، قبل و پس از عمل‌آوری از ۳ رأس گاو نر بالغ اخته فیستوله‌گذاری شده نژاد هلشتاین بر اساس روش استاندارد شده ونزانت و همکاران (۱۹۹۸) استفاده شد. برای تعیین میزان تجزیه‌پذیری از کیسه‌های پلی‌استر با ابعاد ۱۸×۸ سانتی‌متر، با قطر منافذ ۵۰ میکرومتر استفاده شد. مقدار ۵ گرم از نمونه‌های آسیاب شده (با قطر توری ۲ میلی‌متر) در داخل کیسه‌های نایلونی ریخته شد تا نسبت اندازه نمونه به سطح کیسه‌ها، برابر با ۱۲/۵ میلی‌گرم به ازای هر سانتی‌متر مربع شود. نمونه‌ها پیش از توزین، به منظور زدودن ذرات کمتر از ۵۰ میکرون با استفاده از الک با توری ۵۰ میکرون الک شدند. زمان قرار دادن نمونه‌ها در شکمبه بلافاصله قبل از خوراک‌دهی صبح بود و کیسه‌ها در زمان‌های ۲، ۴، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت از شکمبه خارج شدند. چهار کیسه برای هر زمان انکوباسیون در شکمبه هر گاو قرار گرفت. کیسه‌ها بلافاصله پس از

شده برای آزمون تولید گاز بود. در این آزمون سه فلاسک به ازای هر تیمار ۲۴ ساعت پس از شروع انکوباسیون بازگشایی شده و پس از اندازه‌گیری pH (Schott Titrator; Titroline easy) نمونه مایع شکمبه برای تعیین جمعیت پروتوزوا، مقدار و الگوی تولید اسیدهای چرب فرار اخذ شد. تثبیت پروتوزوا به‌منظور شمارش با استفاده از فرمالین ۵۰ درصد تهیه شده با استفاده از سرم فیزیولوژیک، به نسبت ۱:۱ با مایع شکمبه انجام و شمارش پروتوزوا با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰، لام مخصوص و رنگ‌آمیزی متیلن بلو انجام گرفت (۱۲). به‌منظور تعیین مقدار و الگوی اسیدهای چرب فرار، محتویات فلاسک‌ها با استفاده از توری ۴ لایه صاف شده و بلافاصله با نسبت ۱:۵۰ با اسید سولفوریک ۵۰ درصد مورد محافظت قرار گرفته و پس از سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه، تا زمان آنالیز در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار با استفاده از کروماتوگرافی گازی با ستون شیشه‌ای (۱/۶۵ متر × ۴/۶ میلی‌متر) فیلیپس مدل PU4410 به روش اوتنستین و باتلر (۱۹۷۱) انجام شد. سه فلاسک دیگر ۲۴ ساعت پس از آغاز انکوباسیون به‌منظور تعیین میزان متان تولیدی مورد استفاده قرار گرفت. به‌منظور برآورد میزان گاز متان، از تزریق ۴ میلی‌لیتر محلول ۱۰ مولار سدیم هیدروکسید و قرائت تفاضل گاز قابل اندازه‌گیری، پس از گذشت ۱ دقیقه از تزریق استفاده شد (۱۳). برای اندازه‌گیری میزان تجزیه‌پذیری ماده خشک، باقی‌مانده نمونه‌های خوراکی بعد از طی انکوباسیون ۲۴ ساعته، با استفاده از کاغذ صافی، فیلتر شدند.

محاسبات و مدل آماری: مقادیر انرژی قابل متابولیسم

لایه صاف شدند. پس از صاف کردن، مایع شکمبه و بافر (محلول‌های ماکرومینرال، میکرومینرال، احیاکننده، بافر و ریسازورین) مطابق روش منکی و همکاران (۱۹۷۹) و روش تصحیح‌شده منکی و استینگاس (۱۹۹۸) به نسبت یک به دو مایع شکمبه و بافر به داخل بالن سه دهانه مخصوص تحت جریان مداوم دی‌اکسید کربن ریخته شده و تا زمان انتقال به شیشه‌های حاوی نمونه در حمام آبی با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت (۳۰، ۲۹). برای اندازه‌گیری میزان گاز تولیدی در ساعات مختلف، ۵۰۰ میلی‌گرم از نمونه‌های آزمایشی آسیاب شده با غربال ۱ میلی‌متری آسیاب (۴۷) در شیشه‌های با حجم ۱۲۵ میلی‌لیتری ریخته شده و با افزودن ۵۰ میلی‌لیتر مخلوط مایع شکمبه و بافر درب شیشه‌ها با درپوش پلاستیکی و پرس فلزی بسته شده و در آن با دمای ۳۹ درجه سلسیوس قرار داده شدند. شیشه‌ها هر ۱ ساعت یک‌بار تکان داده شدند. فشار گاز تولیدی در ساعات، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت قرائت و ثبت شد. به‌منظور تصحیح گاز تولیدی توسط مایع شکمبه، در هر دور ۳ شیشه فاقد نمونه به‌عنوان بلانک در نظر گرفته شد. حجم گاز تولیدی توسط رابطه رگرسیونی بین حجم و فشار گاز محاسبه شده و از بسته نرم‌افزار آماری SAS ۹/۴ و رویه NLIN به‌منظور برازش داده‌ها از معادله $P=a+b(1-e^{-kt})$ استفاده شد.

تعیین میزان متان تولیدی و فراسنجه‌های شکمبه‌ای: به‌منظور تعیین میزان فراسنجه‌های مختلف شکمبه‌ای همانند pH، جمعیت پروتوزوا و میزان متان تولیدی در ۲۴ ساعت، از انکوباسیون مجزا در هنگام انجام آزمون تولید گاز استفاده شد. مقادیر نمونه، محیط کشت و زمان انجام آزمون کاملاً مشابه فرایند توصیف

معادلات ۱، ۲ و ۳ محاسبه شد.

(۲۹)، ماده آلی گوارش‌پذیر (۳۰) و مقدار اسیدهای

چرب کوتاه زنجیر (۱۶) به‌ترتیب با استفاده از

$$\text{ME (MJ/Kg DM)} = 1/06 + (0/157 \times \text{GP}) + (0/084 \times \text{CP}) + (0/22 \times \text{CF}) - 0/081 \times \text{CA} \quad ۱$$

$$\text{DOM\%} = 0/9991 \times \text{GP} + 0/0595 \times \text{CP} + 0/0181 \times \text{CA} + 9 \quad ۲$$

$$\text{SCFA} = 0/0222 \text{GP} - 0/00425 \quad ۳$$

۰/۰۵ انجام گرفته و داده‌ها به‌صورت میانگین حداقل مربعات و خطای استاندارد مربوطه در جداول گزارش شدند.

$$Y_i = \mu + T_i + e_i \quad ۴$$

$$Y_{ij} = \mu + T_i + A_j + e_{ij} \quad ۵$$

$$Y_{ij} = \mu + T_i + R_j + e_{ij} \quad ۶$$

$$Y_{ij} = \mu + T_i + I_{tj} + \text{Tit}_{ij} + e_{ij} \quad ۷$$

Y_i : مشاهده i ، μ : میانگین کل مشاهدات، T_i : اثر تیمار، A_j : اثر حیوان، I_{tj} : اثر زمان انکوباسیون، Tit_{ij} : اثر متقابل زمان انکوباسیون و نوع فرآوری، e_{ij} : اثر اشتباه آزمایشی

ME: انرژی قابل متابولیسم، DOM: ماده آلی گوارش‌پذیر، SCFA: اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، GP: گاز تولیدی، CP: پروتئین خام، CF: فیبر خام و CA: خاکستر

به‌منظور مقایسه اثر روش‌های مختلف عمل‌آوری بر ترکیبات شیمیایی و مقادیر ترکیبات فنولیک از طرح کاملاً تصادفی (معادله ۴) و به‌منظور ارزیابی داده‌های مربوط به فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری از طرح بلوک کاملاً تصادفی (اثر دام به‌عنوان بلوک) استفاده شد (معادله ۵). در طرح آماری مورد استفاده به‌منظور ارزیابی اثر عمل‌آوری بر فراسنجه‌های تولید گاز، میزان متان تولیدی و فراسنجه‌های شکمبه‌ای، علاوه‌بر اثر اصلی تیمار، اثر دور انجام آزمون (Run) نیز مورد استفاده قرارگرفت (معادله ۶). در طرح آماری مورد استفاده در تعیین میزان کنتیک تولید گاز و کنتیک تجزیه‌پذیری مواد مغذی اثر روزهای مختلف انجام آزمون و اثر زمان انکوباسیون (ساعت) به‌عنوان عامل تکرار شونده و اثر متقابل زمان انکوباسیون و نوع عمل‌آوری در مدل آماری قرار گرفته (معادله ۷) و در زمان آنالیز آماری با توجه به داده‌های خروجی، ساختار واریانس - کوواریانس نوع اول به‌عنوان بهترین ساختار مورد استفاده قرار گرفت. آنالیز آماری معادلات ۴، ۵ و ۶ با استفاده از رویه مدل خطی تعمیم یافته و معادله ۷ با استفاده از رویه مختلط نرم‌افزار آماری (SAS 9.4, 2002) انجام شد (۴۳). در ارتباط با تمامی معادلات مدل، تصحیح میانگین حداقل مربعات با استفاده از آزمون توکی و مقایسه میانگین‌ها باگزینه PDIFF در سطح احتمال آماری

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی: جدول ۱ نشان‌دهنده اثر پرتوتابی الکترون بر ترکیب شیمیایی تفاله انگور قرمز می‌باشد. باوجود افزایش معنی‌دار ماده خشک، مقدار پروتئین خام در اثر پرتوتابی با دوز ۵۰ و ۱۰۰ کیلوگری نسبت به گروه شاهد کاهش یافت ($P < 0/05$). خسروی و همکاران (۱۳۹۳) در بررسی اثر پرتوتابی الکترون بر تفاله دانه انار کاهش مقدار پروتئین خام را بدون ذکر دلیل مشخصی گزارش نمودند (۲۴). پژوهشگران علت کاهش در مقدار پروتئین خام و افزایش در دیواره سلولی را کمپلکس پروتئین - لیاف ایجاد شده در اثر تغییرات شیمیایی ناشی از حرارت در اثر پرتوتابی دانسته‌اند (۸، ۴۲). بنابراین علت کاهش در مقدار پروتئین خام در دزهای ۵۰ و ۱۵۰ کیلوگری را می‌توان به کمپلکس‌های ایجاد شده با سایر ترکیبات شیمیایی در اثر پرتوهای گاما نسبت داد. با این‌حال، گزارش‌هایی مبنی بر عدم تأثیر پرتو الکترون در

با تولید یون‌ها و رادیکال‌های آزاد سبب دپلمریزده شدن ترکیبات پیچیده به‌ویژه جداسازی پیوندهای بین سلولز و سایر ترکیبات دیواره سلولی شود (۴/۳۹).

میزان مواد ضد تغذیه‌ای و ترکیبات رسوب‌دهنده

پروتئین: کل ترکیبات فنولیک، تانن کل، تانن متراکم آزاد، تانن متراکم باند شده با پروتئین‌ها، تانن متراکم باند شده با الیاف و ترکیبات فنولی رسوب‌دهنده پروتئین تفاله انگور قرمز در اثر پرتوتابی الکترون کاهش یافت (جدول ۲). با افزایش دز پرتوتابی روند کاهش معنی‌داری در ترکیبات ضد تغذیه‌ای و ترکیبات رسوب‌دهنده پروتئین مشاهده شد. برخی مطالعات اثرات پرتوهای یونیزه کننده بر مقدار تانن و ترکیبات فنولیک را وابسته به زمان پرتودهی و دز پرتو دانسته‌اند. دتولدو و همکاران (۲۰۰۸) گزارش نمودند که پرتو گاما تا ۴ کیلوگری باعث کاهش ترکیبات فنولیک دانه سویا می‌شود، در حالی که افزایش شدت تابش به ۸ کیلوگری غلظت ترکیبات فنولیک را افزایش داد (۱۴). این افزایش را می‌توان در نتیجه افزایش توانایی استخراج در نمونه‌های پرتو دیده به‌علت تغییر در ترکیبات سلولی، آزاد شدن ترکیبات فنولی نامحلول یا متصل به الیاف و پروتئین و شکسته شدن پیوند بین ترکیبات فنولیک دانست (۱۴).

دوزهای مختلف بر مقدار ماده آلی، چربی خام و پروتئین خام در خوراکی‌های مختلف از جمله کنجاله سویا، کنجاله کلزا و دانه خلر وجود دارد (۴۴، ۱۴). در اثر پرتوتابی تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد در مقدار عصاره اتری مشاهده نشد. گزارش‌های متعددی از عدم تأثیر پرتوتابی الکترون بر مقدار چربی خام وجود دارد (۴۴). مقدار خاکستر و الیاف نامحلول در شوینده خنثی در کلیه سطوح فرآوری افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشت (۳۲). گزارش‌هایی در خصوص تأثیر الکترون در دپلمریزده شدن ترکیبات پیچیده به‌ویژه جداسازی پیوندهای بین سلولز و سایر ترکیبات دیواره سلولی به‌دلیل تولید یون‌ها و رادیکال‌های آزاد وجود دارد (۳۹). در آزمایشی، پرتوهای گاما ضرایب گوارش‌پذیری ماده آلی و انرژی قابل هضم منابع مختلف گاه را افزایش دادند (۱). در آن آزمایش همبستگی بالایی (۰/۹۶) بین محتوای الیاف نامحلول در شوینده خنثی، گوارش‌پذیری ماده آلی و میزان انرژی قابل هضم وجود داشت. در آزمایش دیگری، سطوح مختلف تابش اشعه گاما (۰، ۵، ۲۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ کیلوگری) قابلیت هضم مواد آلی و انرژی قابل هضم منابع مختلف گاه را افزایش داد (۴). احتمالاً پرتوتابی

جدول ۱: تأثیر پرتوتابی الکترون بر میزان ماده خشک (درصد) و ترکیب شیمیایی تفاله انگور قرمز (درصد ماده خشک).

Table 1. The effects of electron irradiation on the dry matter (%) and chemical composition of grape pomace (dry matter).

خطای استاندارد SEM	پرتوتابی الکترون (کیلوگری) Electron Irradiation (kilogrey)			شاهد Control	ترکیب شیمیایی Chemical compounds
	150	100	50		
0.025	98.05 ^a	97.40 ^b	96.30 ^c	94.40 ^d	ماده خشک DM
0.03	12.79 ^a	12.27 ^b	11.69 ^c	12.91 ^a	پروتئین خام CP
0.07	7.45 ^a	6.50 ^b	7.45 ^a	4.40 ^c	خاکستر Ash
0.044	29.20 ^c	31.22 ^a	30.20 ^b	25.98 ^d	الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF
0.11	92.75 ^c	93.7 ^b	92.61 ^c	95.65 ^a	ماده آلی OM
0.1	7.075	7.074	7.07	7.065	عصاره‌ی اتری EE

در هر ردیف میانگین‌های با حروف متفاوت از نظر آماری با یکدیگر تفاوت معنی‌داری دارند ($P < 0.05$).

جدول ۲: اثر پرتوتابی الکترون بر میزان تانن و ترکیبات فنولیک تفاله انگورقرمز (گرم بر ۱۰۰ گرم) و ترکیبات فنولی رسوب‌دهنده پروتئین (گرم بر ۱۰۰ گرم کل ترکیبات فنولیک).

Table 2. The effects of electron irradiation on the amount of tannin and phenolic compounds (grams per 100 grams) and protein precipitation phenolics (grams per 100 grams of total phenolic compounds)

خطای استاندارد SEM	پرتوتابی الکترون (کیلوگری)			شاهد Control	ترکیبات ضد تغذیه‌ای Anti-nutritional compounds
	150	100	50		
0.368	3.34 ^d	3.68 ^d	4.87 ^c	7.72 ^a	کل ترکیبات فنولیک Total phenolic compounds
0.272	2.58 ^c	2.84 ^c	3.67 ^c	6.12 ^a	تانن کل Total tannin
0.26	2.51 ^d	2.76 ^{cd}	3.53 ^c	6.02 ^a	تانن متراکم آزاد Free condensed tannin
0.217	2.17 ^d	2.39 ^{cd}	3.01 ^c	5.34 ^a	تانن متراکم متصل به پروتئین protein bind condensed tannin
0.181	1.73	1.9	2.45	4.13	تانن متراکم متصل به الیاف Fiber bind condensed tannin
3.335	29.81 ^d	32.8 ^{cd}	43.8 ^c	68 ^a	ترکیبات فنولی رسوب‌دهنده پروتئین Protein precipitation of phenolic compounds

در هر ردیف میانگین‌های با حروف متفاوت از نظر آماری با یکدیگر تفاوت معنی‌داری دارند.

می‌توان ناشی از غیرفعال شدن ترکیبات فنولی و دسترسی بیشتر جمعیت میکروبی شکمبه به مواد مغذی و نیز کاهش آثار منفی تانن‌های متراکم بر جمعیت میکروبی دانست (جدول ۲). این نتایج همسو با نتایج دیگر محققین در خصوص افزایش تولید گاز محصولات فرعی کشاورزی در اثر تابش پرتوهای الکترون و گاما در دوزهای مختلف بود (۴، ۳۲، ۴۱). با توجه به توان پلی‌اتیلن‌گلیکول در افزایش تولید در این مطالعات، می‌توان این‌گونه نتیجه‌گیری نمود که کاهش یا غیرفعال شدن ترکیبات فنولی یکی از عوامل مهم در افزایش قابلیت تخمیر مواد خوراکی پرتوتابی شده بوده است (۳۱).

حجم گاز تولیدی و ضرایب: میانگین حجم گاز تولیدی در اثر پرتوتابی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۳) و روند افزایش تولید گاز با پیشرفت زمان انکوباسیون بیشتر نمایان شد. انکوباسیون مواد خوراکی با مایع شکمبه در شرایط آزمایشگاهی به تخمیر کربوهیدرات‌ها و تبدیل آن‌ها به اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، گازهای متان و دی‌اکسید کربن و سلول‌های میکروبی می‌شود (۵، ۷). تولید گاز ناشی از تخمیر پروتئین در مقایسه با تخمیر کربوهیدرات‌ها نسبتاً کم بوده (۵۰) و چربی‌های خوراکی نیز سهم اندکی در تولید گاز دارند (۳۰، ۱۶). افزایش در حجم و نرخ گاز تولیدی در اثر پرتوتابی با الکترون را

جدول ۳: تأثیر تیمار آزمایشی الکترون بر حجم گاز تولیدی تجمعی و ضرایب تفاله انگور قرمز در زمان‌های مختلف (میلی لیتر به ازاء ۵۰۰ میلی گرم ماده خشک).

Table 3. The effect of electron irradiation on the volume of gas produced at different times of the cumulative coefficients grape pomace (mL per 500 mg of dry matter).

خطای استاندارد میانگین SEM	پرتوتابی الکترون (کیلوگری) Electron Irradiation (kilogrey)			شاهد Control	زمان‌های انکوباسیون Incubation times
	150	100	50		
0.467	9.45	10.43	9.68	8.7	2
0.467	15.54 ^b	18.23 ^a	18.61 ^a	13.37 ^c	4
0.467	18.71 ^c	24.1 ^a	24.64 ^a	19.46 ^b	6
0.467	21.73 ^b	29.36 ^a	28.46 ^a	21.43 ^b	8
0.467	24.60 ^b	34.63 ^a	31.94 ^a	23.03 ^b	10
0.467	26.87 ^b	38.47 ^a	34.80 ^a	24.41 ^b	12
0.467	32.8 ^c	52.7 ^a	47.1 ^b	32.6 ^c	24
0.467	45.5 ^b	70.7 ^a	68 ^a	38.6 ^c	48
0.467	56.8 ^b	82.7 ^a	81.3 ^a	45.5 ^c	72
0.467	62.7 ^b	89.5 ^a	90.3 ^a	52.5 ^c	96
0.467	66.5 ^b	93 ^a	94 ^a	55 ^c	120
	فراسنجه‌های تولید گاز				
	Parameters				
6.54	71.96 ^c	93.14 ^b	98.73 ^a	55.9 ^d	b
0.0015	0.019 ^d	0.03 ^a	0.023 ^b	0.025 ^b	c

در هر ردیف میانگین‌های با حروف متفاوت از نظر آماری با یکدیگر تفاوت معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

بدون تأثیر منفی بر میزان اسیدهای چرب فرار تولیدی و گوارش‌پذیری ماده آلی هستند (۳۸، ۳۹). همزیستی مفیدی بین پروتوزا و متانوژن‌ها وجود دارد، بنابراین مهار پروتوزا می‌تواند منجر به کاهش تولید گاز متان می‌گردد. افزایش مقدار متان در تحقیق حاضر را می‌توان به کاهش تانن‌های متراکم و کاهش آثار منفی آن بر قابلیت تخمیر، جمعیت پروتوزا و متانوژن‌ها نسبت داد (۳۰). در تحقیق حاضر نیز کاهش عددی در جمعیت پروتوزا مشاهده شد ولی این تفاوت از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. با توجه به افزایش تولید گاز در اثر پرتوتابی، و افزایش همزمان غلظت کل اسیدهای چرب فرار و درصد اسید استیک، بخشی از افزایش در تولید متان را می‌توان به افزایش گوارش‌پذیری الیاف و سایر مواد مغذی نسبت داد. با توجه به تولید بیشتر گاز متان توسط فرایندهای تولید کننده اسید استیک، می‌توان این نتایج را در راستای هم‌ارزیابی نمود. با وجود افزایش میزان تولید گاز و تولید اسیدهای چرب فرار، تغییر محسوسی در مقادیر

تولید گاز بخش قابل تخمیر تفاله انگور قرمز در اثر عمل‌آوری با الکترون افزایش معنی‌داری در کلیه دوزهای عمل‌آوری نسبت به گروه شاهد داشت. با این‌حال، افزایش شدت تابش سبب کاهش قابلیت تخمیر شد. علاوه بر این، بیشترین نرخ تولید گاز در شدت تابش ۱۰۰ کیلوگرمی مشاهده شد. کاهش معنی‌دار نرخ تولید گاز و توان تخمیر با افزایش شدت تابش به ۱۵۰ کیلوگری با وجود کاهش ترکیبات فنولی را می‌توان در اثر کاهش بیش از حد حلالیت مواد مغذی در اثر پرتوتابی دانست. در مطالعه‌ای پرتوتابی الکترون در دوزهای ۱۰ تا ۴۰ کیلوگری باعث افزایش پتانسیل تخمیر و نرخ تولید گاز پوست پسته شد (۳۲). میزان تولید متان و فراسنجه‌های شکمبه‌ای: داده‌های مربوط به میزان تولید متان و فراسنجه‌های شکمبه‌ای در جدول ۴ گزارش شده است. تولید متان در اثر پرتوتابی با امواج الکترون افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان داد. نتایج مطالعات نشان‌دهنده تأثیر منفی تانن‌های متراکم بر متانوژن‌ها و پروتوزا،

همبستگی مثبتی داشته و می‌تواند نشان‌گر نقش مثبت پرتوهای الکترون در از بین بردن آثار منفی تانن‌های متراکم، کاهش اتصال تانن‌های متراکم و تانن کل با الیاف و نیز افزایش گوارش‌پذیری به‌واسطه افزایش دسترسی به الیاف باشد (۳۰).

pH محیط کشت مشاهده نشد. این امر را می‌توان به قابلیت بافری مناسب بافر مورد استفاده در فرایند انکوباسیون نسبت داد. پرتوهای الکترون سبب افزایش معنی‌دار مقادیر گوارش‌پذیری ماده خشک پس از ۲۴ ساعت در شرایط برون‌تنی شدند که با افزایش پتانسیل تولید گاز و مقادیر تولید اسیدهای چرب فرار

جدول ۴: تأثیر تیمار آزمایشی الکترون بر فراسنجه‌های تخمیری در مدت ۲۴ ساعت انکوباسیون.

Table 4. The effects of electron irradiation on fermentation parameters after 24 hours of incubation.

خطای استاندارد SEM	پرتوتابی الکترون (کیلوگری) Electron Irradiation (kilogrey)			شاهد Control	
	150	100	50		
0.141	25.26 ^a	29.64 ^a	26.99 ^a	11.03 ^b	متان
0.012	6.96	6.93	6.95	6.90	Methane pH
1.2583	10.7	10.1	10.4	12.1	پروتوزوا 10 ⁵ × Protozoa
0.704	28.55 ^a	28.50 ^b	27.35 ^b	26.10 ^b	قابلیت هضم ماده خشک DM Degradability

در هر ردیف میانگین‌های با حروف متفاوت از نظر آماری با یکدیگر تفاوت معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

افزایش قابلیت تخمیر در اثر کاهش اثر تانن‌های متراکم و نیز افزایش گوارش‌پذیری الیاف به‌دلیل آثار یونیزه‌کننده امواج الکترون است. علاوه بر موارد فوق، گزارش‌هایی در خصوص تأثیر الکترون در دپلمریزده شدن ترکیبات پیچیده به‌ویژه جداسازی پیوندهای بین سلولز و سایر ترکیبات دیواره سلولی به‌دلیل تولید یون‌ها و رادیکال‌های آزاد وجود دارد (۳۸). همچنین، تغییرات ساختاری، اکسیداسیون واحدهای فعال زیستی، قطع پیوندهای کوالانسی، اتصالات عرضی و تشکیل رادیکال‌های آزاد از جمله آثار سیستم‌های پرتودهی با امواج یونیزه‌کننده گزارش شده است (۴۵).

اسیدهای چرب فرار تولیدی مایع شکمبه پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون برون‌تنی: داده‌های مربوط به الگوی اسیدهای چرب فرار تولیدی در جدول ۵ گزارش شده است. مقادیر کل اسیدهای چرب فرار تولیدی و مقدار هر کدام از اسیدهای چرب در اثر تابش پرتوهای الکترون با شدت ۵۰ کیلوگری نسبت به شاهد کاهش یافت. با این حال، مقدار ایزووالریک اسید در اثر پرتوتابی افزایش معنی‌داری در تمامی دوزهای پرتوتابی نسبت به گروه شاهد نشان داد (P<۰/۰۵). مقادیر استات، بوتیرات و پروپیونات + ایزوبوتیرات در تیمارهای پرتودهی شده با شدت ۱۰۰ و ۱۵۰ کیلوگری افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد. نتایج این بخش موید تأثیر مثبت پرتوتابی بر

جدول ۵: تأثیر پرتوتابی الکترون بر الگوی اسیدهای چرب فرار تولیدی در محیط برون تنی در ۲۴ ساعت انکوباسیون (برحسب میلی مول در لیتر).

Table 5. The effects of Electron irradiation on VFA profile after 24 hours of in vitro incubation (mM/ L)

خطای استاندارد SEM	پرتوتابی الکترون (کیلوگری) Electron Irradiation (kilogrey)			شاهد Control	VFA اسیدهای چرب فرار
	150	100	50		
0.002	0.81 ^a	0.7 ^b	0.21 ^d	0.4 ^c	والریک اسید Valeric acid
0.002	0.51 ^a	0.3 ^b	0.21 ^c	0.1 ^d	ایزووالریک اسید Iso Valeric acid
0.002	16.81 ^b	17.12 ^a	7.32 ^d	10.52 ^c	بوتیریک اسید Butyric acid
0.004	13.41 ^b	17.11 ^a	6.02 ^d	9.02 ^c	پروپیونیک + ایزوبوتیریک اسید Propionic + Isobutyric acid
10.01	35.12 ^b	44.11 ^a	16.61 ^d	27.62 ^c	استیک اسید Acetic acid
0.049	66.57 ^b	79.35 ^a	30.37 ^d	47.67 ^c	کل اسیدهای چرب فرار Total VFA

در هر ردیف میانگین‌های با حروف متفاوت از نظر آماری با یکدیگر تفاوت معنی داری دارند ($P < 0.05$).

تولید گاز در اثر پرتودهی با الکترون به دلایلی همچون کاهش غلظت یا فعالیت تانن‌های متراکم را می‌توان مهمترین دلیل نتایج مشاهده شده دانست. گتاجیو و همکاران (۲۰۰۲)، ارتباط نزدیکی را بین مقادیر اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و گاز تولیدی در شرایط برون تنی گزارش کرده و نتیجه گرفتند که استفاده از این رابطه بیانگر قابلیت دسترسی انرژی برای دام بوده و می‌توان از آن جهت تخمین تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر از گاز تولیدی، استفاده نمود (۱۶).

فراسنجه‌های تخمینی انرژی قابل متابولیسم، گوارش‌پذیری ماده آلی و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر: مقادیر برآورد شده انرژی متابولیسمی، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و ماده آلی گوارش‌پذیر از داده‌های تولید گاز تفاله انگور عمل‌آوری شده با الکترون در جدول ۶ گزارش شده است. پرتوتابی الکترون باعث افزایش معنی‌دار زیست‌سنجه‌های مذکور گردید. باتوجه به محاسبه مقادیر گزارش شده از طریق روابط رگرسیونی بین ترکیب شیمیایی خوراک و میزان گاز تولیدی در ۲۴ ساعت، افزایش

جدول ۶- فراسنجه‌های تخمینی تفاله انگور قرمز شاهد و پرتوتابی شده با الکترون با استفاده از روش تولید گاز.

Table 6. Estimated parameters for raw and electron irradiated red grape pomace using in vitro gas production.

SEM خطای استاندارد	پرتوتابی الکترون (کیلوگری) Electron Irradiation (kilogrey)			شاهد Control	
	150	100	50		
0.031	13.37 ^c	14.34 ^a	13.57 ^b	11.43 ^d	انرژی متابولیسمی ME
0.153	56.47 ^b	59.07 ^a	55.67 ^c	47.04 ^d	ماده آلی قابل هضم DOM
0.025	3.06 ^b	3.34 ^a	3.10 ^b	2.20 ^c	اسیدهای چرب کوتاه زنجیر SCFA

SCFA اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی مول در ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک). DOM: ماده آلی گوارش‌پذیر (درصد ماده خشک). ME: انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک).

اعداد با حروف غیرمشابه در هر ردیف اختلاف معنی داری باهم دارند. ($p < 0.05$).

مطالعه حاضر می‌تواند نتیجه افزایش فعالیت میکروارگانیسم‌های تجزیه کننده الیاف به دلیل کاهش یا غیر فعال شدن تانن‌های متراکم، آزادسازی مقادیر بیشتری از منابع نیتروژنی به داخل شکمبه و تخریب بخش‌هایی از الیاف و افزایش دسترسی و اتصال میکروارگانیسم‌ها به آن باشد. همچنین کومار و واتیانانان (۱۹۹۰) گزارش کردند که کاهش نرخ تجزیه پذیری الیاف گیاهی در شکمبه نتیجه کاهش دسترسی نیتروژن پروتئینی و گوگرد برای استفاده میکروبی و دلیلی برای کاهش تولید پروتئین میکروبی است (۲۵). مقادیر تجزیه‌پذیری مؤثر در تیمار ۵۰ و ۱۰۰ کیلوگری افزایش ولی در تیمار ۱۵۰ کیلوگری کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد.

کتیک و فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک: میانگین حداقل مربعات کیتیک و فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک در جدول ۷ گزارش شده است. پرتوتابی الکترون با شدت ۱۰۰ کیلوگری علاوه بر افزایش معنی‌دار سرعت تجزیه‌پذیری، مقادیر تجزیه‌پذیری مؤثر شکمبه‌ای را نیز افزایش داد. با این حال، پرتوتابی تأثیری بر میزان بخش محلول ماده خشک نداشت. اعمال محدودیت تانن‌های متراکم برای میکروارگانیسم‌های شکمبه و در نتیجه کاهش اتصال میکروارگانیسم‌ها با دیواره سلولی همواره یکی از دلایل تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای کم جیره‌های حاوی ترکیبات تانن‌دار از جمله پوسته پسته عنوان شده است (۱۸). افزایش تجزیه‌پذیری ماده خشک در

جدول ۷: تأثیر پرتوتابی الکترون بر کیتیک و فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک تفاله انگور قرمز

Table 7. The effect of electron irradiation on DM degradability kinetics and parameters of grape pomace

خطای استاندارد SEM	پرتوتابی الکترون (کیلوگری) Electron Irradiation (kilogrey)			شاهد Control	زمان‌های انکوباسیون Incubation times
	150	100	50		
0.306	1.33	1.13	1.33	1.43	0
0.306	12.28 ^c	16.81 ^a	15.21 ^a	14.35 ^b	2
0.306	13.68 ^a	17.61 ^a	16.41 ^a	16.38 ^b	4
0.306	15.15 ^a	19.31 ^a	18.51 ^a	17.61 ^b	8
0.306	17.51 ^c	22.18 ^a	20.59 ^a	18.55 ^b	12
0.306	21.48 ^b	25.38 ^a	25.08 ^a	21.41 ^b	24
0.306	26.25 ^b	29.11 ^a	28.08 ^a	25.88 ^b	48
0.306	28.25 ^c	31.28 ^a	30.51 ^{ab}	29.61 ^{bc}	72
0.306	30.61 ^b	34.74 ^a	33.28 ^a	31.28 ^b	96
				Parameters	فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری
0.628	6.04	6.26	6.99 ^a	7.68	a (%)
0.422	22.56 ^{ab}	24.39 ^a	23.29 ^{ab}	21.29 ^b	b (%)
0.009	0.060 ^a	0.106 ^b	0.082 ^{ab}	0.063 ^a	c (h ⁻¹)
0.152	22.94 ^d	26.75 ^a	25.64 ^b	23.78 ^c	P(k=0.02)
0.254	17.31 ^d	21.80 ^a	20.40 ^b	18.55 ^c	P(k=0.06)
0.238	15.70 ^d	20.13 ^a	18.76 ^b	17.03 ^c	P(k=0.08)

حروف غیرمشابه در هر سطر نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح آماری $P < 0.05$ می‌باشند.

a: بخش محلول b: بخش بالقوه قابل تجزیه c: سرعت تجزیه بخش بالقوه قابل تجزیه k: نرخ عبور از شکمبه P: تجزیه‌پذیری مؤثر.

شاهد نشان داد. با افزایش دز پرتوتابی از ۵۰ به ۱۰۰ کیلوگری هرچند افزایش عددی در مقدار تجزیه‌پذیری مشاهده می‌شود ولی این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نمی‌باشد. افزایش متعاقب سطح فرآوری به ۱۵۰ کیلوگرمی سبب ایجاد کاهش معنی‌دار

تجزیه‌پذیری پروتئین خام: میانگین حداقل مربعات کتیک و فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری پروتئین خام در جدول ۸ گزارش شده است. مقدار تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین خام در اثر پرتوتابی افزایش معنی‌داری در تمامی دزهای عمل‌آوری نسبت به گروه

تجزیه پذیری سریع در همه تیمارها افزایش یافت با این حال تفاوت معنی داری در میزان پروتئین بالقوه قابل تجزیه وجود نداشت. علاوه بر این پرتوتابی با امواج الکترون با قدرت ۵۰ و ۱۰۰ کیلوگری سبب افزایش معنی دار نرخ تجزیه پذیری و مقادیر تجزیه پذیری مؤثر پروتئین خام نسبت به گروه شاهد شد. افزایش در تجزیه پذیری بخش A را می توان به کاهش مواد ضد تغذیه ای و کاهش میزان پروتئین های متصل به تانن در اثر پرتوتابی نسبت داد (جدول ۲). با این حال افزایش در شدت پرتوتابی می تواند باعث کاهش حلالیت پروتئین در اثر ایجاد پیوندهای عرضی در زنجیره های پروتئین شود. قابلیت حل شدن پروتئین ها به نوع اسیدهای آمینه آن ها بستگی دارد. اسیدهای آمینه آبگریز بسیاری در پروتئین های کروی وجود دارد که درون آن ها پنهان شده اند (۲۸).

در مقادیر تجزی پذیری نسبت به دوزهای پایین تر شده و نشان دهنده اثر غیرخطی عمل آوری با پرتوهای الکترون بر شاخصه های تجزیه پذیری است. بخش زیادی از اثر فرآوری در افزایش تجزیه پذیری پروتئین خام را می توان به اثر آن در کاهش یا غیرفعال نمودن ترکیبات فنولی و تانن های متراکم نسبت داد. با توجه به اینکه تفاله انگور قرمز حاوی مقادیر قابل توجهی تانن های متراکم و ترکیبات رسوب دهنده پروتئین است، می توان عنوان نمود که پرتوتابی با غیرفعال کردن تانن های متراکم و عوامل ضد تغذیه ای سبب افزایش تجزیه پذیری ماده خشک و متعاقب آن باعث افزایش تجزیه پذیری پروتئین خام در شکمبه شده است. فروتز و همکاران (۲۰۰۴) بیان کردند که تانن ها باعث کاهش تجزیه پذیری مواد خوراکی در شکمبه می شوند (۱۵). در این آزمایش، بخش A یا بخش

جدول ۸: تأثیر پرتوتابی الکترون بر کینتیک و فراسنجه های تجزیه پذیری پروتئین خام تفاله انگور قرمز.

Table 8. The effect of electron irradiation on CP degradability kinetics and parameters of grape pomace

خطای استاندارد SEM	پرتوتابی الکترون (کیلوگری) Electron Irradiation (kilogrey)			شاهد Control	زمان های انکوباسیون Incubation times
	150	100	50		
0.255	9.17 ^a	9.04 ^a	8.64 ^b	7.77 ^c	0
0.255	15.05 ^b	18.37 ^a	17.44 ^a	10.95 ^c	2
0.255	15.85 ^b	19 ^a	18.61 ^a	13.07 ^c	4
0.255	17.56 ^b	21.87 ^a	20.65 ^a	14.38 ^c	8
0.255	20.16 ^b	24.49 ^a	23.03 ^a	15.32 ^c	12
0.255	24.53 ^b	27.66 ^a	27.05 ^a	18.30 ^c	24
0.255	28.83 ^b	30.17 ^a	29.98 ^a	22.95 ^c	48
0.255	32.05 ^a	33.75 ^a	32.35 ^a	26.84 ^b	72
0.255	34.48 ^b	36.13 ^a	35.04 ^{ab}	28.75 ^c	96
				Parameters	فراسنجه های تجزیه پذیری
					a (%)
0.541	12.26 ^a	12.34 ^a	12.38 ^a	9.57 ^b	b (%)
0.539	22	20.72	20.48	20.68	c (h ⁻¹)
0.005	0.034 ^b	0.061 ^a	0.058 ^a	0.024 ^b	P(k=0.02)
0.149	25.97 ^c	28.51 ^a	27.60 ^b	20.80 ^d	P(k=0.06)
0.192	20.06 ^c	23.38 ^a	22.47 ^b	15.47 ^d	P(k=0.08)

حروف غیرمشابه در هر سطر نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح آماری $P < 0.05$ می باشند.

a: بخش محلول b: بخش بالقوه قابل تجزیه c: سرعت تجزیه بخش بالقوه قابل تجزیه k: نرخ عبور از شکمبه P: تجزیه پذیری مؤثر.

پروتئین ها از تجزیه پذیری آن ها جلوگیری می کنند. برخی از محققین علت کاهش بخش سریع تجزیه و افزایش بخش بالقوه قابل تجزیه پروتئین در شکمبه در اثر

علت افزایش در تجزیه پروتئین خام در شکمبه در مطالعه حاضر را می توان به غیر فعال شدن تانن ها نسبت داد. چرا که تانن ها با ایجاد اتصالات شدید به

تجزیه پذیری ماده خشک و پروتئین خام تفاله انگور قرمز شده و افزایش میزان تولید اسیدهای چرب فرار در شکمبه را به دنبال داشته است، می توان این گونه نتیجه گیری نمود که پرتوتابی الکترون با کاهش مواد ضدتغذیه ای موجود در تفاله انگور باعث افزایش ارزش تغذیه ای آن شده است. با توجه به نتایج، پرتوتابی با شدت امواج ۱۰۰ کیلوگری و انجام آزمایش تکمیلی در شرایط درون تنی به منظور ارزیابی کامل تر اثر فرآوری توصیه می شود.

پرتوهای یون ساز همانند گاما و الکترون را کاهش حلالیت پروتئین در اثر پرتوتابی اعلام کردند (۴۰، ۴۴). علاوه بر این، بت و همکاران، (۲۰۰۸) در بررسی اثر پرتوتابی ۱۵ و ۳۰ کیلوگری بیم الکترونی بر حلالیت دانه موکونا، کاهش در حلالیت پروتئین را نتیجه واسرشتگی و ژلاتینه شدن نسبی پروتئین عنوان نمودند (۶).

نتیجه گیری

باتوجه به اینکه پرتوتابی الکترون باعث افزایش

منابع

1. Al-Masri, M.R., and Zarkawi, M. 1994. Effects of gamma irradiation on cell-wall constituents of some agricultural residues. *Radiation Physics and Chemistry*. 44: 6. 661-663.
2. AOAC. 2000. Official Methods of Analysis of the AOAC International. 17th ed. Published by AOAC. Int., Gaithersburg, MD.
3. Ben Salem, H., and Nefzaoui, A. 2005. Attempts to deactivate tannins in fodder shrubs with physical and chemical treatments. *Jornal Of Animal Feed Science and Technology*. 122: 2.109-121.
4. Behgar, M., Ghasemi, S., Naserian, A., Borzoie, A., and Fatollahi, H. 2011. Gamma radiation effects on phenolicsantioxidants activity and in vitro digestion of pistachio (*Pistachia vera*) hull. *Radiation Physics and Chemistry*. 80: 9. 963-967.
5. Beuvink, J., Spoelstr, S., and Hogendorp, R. 1992. An automated method for measuring time course of gas production of feedstuff incubated with buffered rumen fluid. *Neth. Jornal Of Agricultural Science*. 40: 8.401-407.
6. Bhat, R., Sridhar, K., Young, C., Bhagwath, A., and Ganesh, S. 2008. Composition and functional properties of raw and electron beam-irradiated *Mucuna pruriens* seeds. *Int. Jornal of Food Science. Tech*. 43: 8. 1338-1351.
7. Blummel, M., and Ørskov, E.R. 1993. Comparison of gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. *Jornal Of Animal Feed Science and Technology*. 40: 3. 109-119.
8. Bressani, T. 1993. Grain quality of common beans. *Food Review International*. 9: 237-297
9. Canbolat, O., Kamalak, A., Sahin, E., and Ozkan, C. 2005. Effect of heat treatment on in situ rumen degradability and in vitro gas production of full-fat soyabeans and soybean meal. *Jornal Of Animal Feed Science and Technology*. 138: 3.143-148.
10. Cieslak, A., Szumacher-Strabel, M., Stochemal, A., and Oleszek, W. 2013. Plant components with specific activities against rumen Methanogens. *Jornal of Animal Science*. 7: 2. 253-265.
11. De Toledo, T.C.F., Canniatti-Brazaca, S.G., Arthur, V., and Piedade, S.M.S. 2007. Effects of gamma radiation on total phenolic, trypsin and tannin inhibitors in soybean grains. *Radiation Physics and Chemistry*. 76: 10.1653-1656.
12. Dehority, B.A. 1984. Evaluation of subsampling and fixation procedures used for counting rumen protozoa. *Appl. Environ. Microbiol*. 48: 17. 182-185.
13. Demeyer, D., De Meulemeester, M., De Graeve, K., and Gupta, B.W. 1988. Effect of fungal treatment on nutritive value of straw. *J. Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent*. 53: 1811-1819.

14. Ebrahimi, S.R., Nikkhah, A., and Sadeghi, A. 2010. Changes in nutritive value and digestion kinetics of Canola seed due to microwave irradiation. *Asian-Australasian Journal of Animal Science.*, 23: 3. 347 – 354.
15. Frutos, P., Hervas, G., Giraldez, F.J., and Mantecon, A.R. 2004. Review. Tannins and ruminant nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research.* 2: 2. 191-202.
16. Getachew, G., Makkar, H.P.S., and Becker, K. 2002. Tropical browses: content of phenolic compounds, *in vitro* gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acids and *in vitro* gas production. *Journal of Agricultural Research.* 139: 3. 341-352.
17. Ghasemi, S., Naserian, A.A., Valizadeh, R., Tahmasebi, A.M., Vakili, A.R., and Behgar, M. 2012. Effects of pistachio by-product in replacement of Lucerne hay on microbial protein synthesis and fermentative parameters in the rumen of sheep. *Journal Of Animal Production Science.* 52: 11.1052-1057.
18. Ghoorchi, T., Shawrang, P., Mansoori, H., and Torbatinejad, N. 2013. Comparing the effect of ionizing radiations of electron beam and gamma ray on ruminal degradation kinetics of soybean meal protein and amino acids. *Iranian Journal of Animal Science Research.* 5: 4.344-354. (In Persian)
19. Hervas, G., Perez, V., Giraldez, F.J., Mantecon, A.R., Almar, M.M., and Frutos, P. 2003. Intoxication of sheep with quebracho tannin extract. *J. Comp. Pathol.* 129: 1.44–54.
20. Harrison, K., and Were, L.M. 2007. Effect of gamma irradiation on total phenolic content yield and antioxidant capacity of almond skin extracts. *Food Chemistry.* 102: 3.932–937.
21. Harvey, I. 2005. The effect of drying and urea treatment on nutritional and anti-nutritional components of browses collected during wet and dry seasons. *Journal Of Animal Feed Science and Technology.* 122: 2.123–133.
22. International Atomic Energy Agency, "Quantification of Tannins in Tree Foliage", IAEA, Vienna, Austria (2000)
23. Kamalak, A., Canbolat, O., Gurbuz, Y., Ozay, O., Ozkan, C.O., and Sakarya, M. 2004. Chemical composition and *in vitro* gas production characteristics of several tannin containing tree leaves. *Livestock Research Rural Development* 16(6). Available from <http://www.lrrd.org>, Visited: 2010/12/12.
24. Khosravi, F., and Fathi Naseri, M. 2014. The Effect of Electron Radiation on the Concentration of Phenolic Compounds and Parametric Parasitic Parameters of Pomegranate Pulses. *Journal of Animal Science Research.* 24: 5.128-140. (In Persian)
25. Kumar, R., and Vaithyanathan, S. 1990. Occurrence, nutritional significance and effect on animal productivity of tannins in tree leaves. *Journal Of Animal Feed Science and Technology.* 30: 2. 21–38.
26. Makkar, H.P.S. 2000. Quantification of Tannins in Tree Foliage: A laboratory manual for the FAO/IAEA Co-Ordinated Research Project on 'Use of Nuclear and Related Techniques to Develop Simple Tannin Assays for Predicting and Improving the Safety and Efficiency of Feeding Ruminants on Tanniniferous Tree Foliage'. IAEA, VIENNA.
27. Makkar, H.P.S. 2003. Effects and fate tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Journal Of Small Ruminant Research.* 49: 3.241-256.
28. Murray, R., Granner, D., Mayes, P., and Rodwell, V. 2003. *Harper's Biochemistry.* 26th ed., McGraw-Hill, New York, USA.
29. Menke, K.H., Rabb, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D., and Schneider, W. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feed stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *Journal Of Agricultural Science. Camb.* 93: 1. 217-222.
30. Menke, K.H., and Steingass, H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Dev.* 28: 3. 7-55.

31. McLeod, M., and Minson, D. 1988. Large particle breakdown by cattle eating ryegrass and alfalfa. *Journal of Animal Science*. 66: 4. 992-999.
32. Moradi, M., Afzalzadeh, A., Behgar, M., and Norouzian, M. 2015. The effect of diets containing pistachio by products treated with electron irradiation, NaOH, and PEG on nutrients digestibility and performance of finishing Zandi lambs. *Iranian Journal of Animal Science Research*. 7: 3. 278-284. (In Persian)
33. National Research Council (NRC). 2001. *Nutrient Requirement of Dairy Cattle*, 7th revised ed. National Academy of Science, Washington DC.
34. Ørskov, E.R., and McDonald, L. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to the rate of passage. *Journal of Agricultural Science Camb.* 92: 1. 499-503.
35. Porter, L., Hrstich, L., and Chan, B. 1986. The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. *Phytochem.* 25: 223-230.
36. Shawrang, P., Nikkhah, A., Zare-Shahneh, A., Sadeghi, A., Raisali, G., and Moradi-Shahrbabak, M. 2008. Effects of gamma irradiation on chemical composition and ruminal protein degradation of canola meal. *Radiation Physics and Chemistry*. 77: 7. 918-922.
37. Shawrang, P., Nikkhah, A., Zare-Shahneh, A., Sadeghi, A.A., Raisali, G., and Moradi-Shahrbabak, M. 2007. Effects of gamma irradiation on protein degradation of soybean meal in the rumen. *Journal Of Animal Feed Science and Technology*. 134: 1. 140-151.
38. Shawrang, P. 2008. Effects of electron beam irradiation on dry matter degradation of wheat straw in the rumen. *Pakistan J. Biol. Sci.* 11: 4. 676-679.
39. Shahbazi, H.R., Sadeghi, A.A., Fazaeli, H., Raisali, G., Chamani, M., and Shawrang, P. 2008. Effects of electron beam irradiation on ruminal NDF and ADF degradation characteristics of barley straw. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 7: 4. 464-468.
40. Sadeghi, A.A., and Shawrang, P. 2008. Effect of microwave irradiation on ruminal dry matter, protein and starch degradation characteristics of barley grain. *Journal Of Feed Science and Technology*. 141: 1. 184-194.
41. Sobhanirad, S., Behgar, M., Vakili, R., and Torshizi, M. 2012. Effect of Gamma Irradiation and Chemical Process on Gas Production Parameters of some Agricultural By-products in vitro. *Iranian Journal of Animal Science Research*. 4: 4. 316-322. (In Persian)
42. Saleh, A., Alajaji, Tarek El-Adawy, A. 2006. *Journal of Food Composition and Analysis*. 10: 3-15.
43. SAS, 2002. *Version 9.1 SAS/STAT user's guide*. Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, USA.
44. Tahan, G., Fathi, M., Riacey, A., and Farr, H. 2011. The effect of electron beam irradiation on degradability and digestibility of ruminal and sub-rumen of dry matter and crude protein of some plant protein sources. *Iranian Journal of Animal Science Research*. 3: 4. 422-434. (In Persian)
45. Taghinejad, M., Shawrang, P., Rezapour, A., Sadeghi, A., and Ebrahimi, S. 2009. Changes in anti-nutritional factors, ruminal degradability and in vitro protein digestibility of gamma irradiated Canola meal. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 8: 1298-1304.
46. Tellez, G., Higgins, S., Donoghue, A., and Hargis, B. 2006. Digestive physiology and the role of microorganisms. *J. Appl. Poult. Res.* 15: 1. 136-144.
47. Tagliapietra, F., Cattani, M., Hansen, H., Hindrichsen, I., Bailoni, L., and Schiavon, S. 2011. Metabolizable energy content of feeds based on 24 or 48 h in situ NDF digestibility and on in vitro 24 h gas production methods. *Journal Of Animal Feed Science and Technology*. 170: 3. 182-191.
48. Theodorou, M., Williams, B., Dhanoa, M., McAllan, A. 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: 4. 185-197.

49. Van Soest, P.J., Robertson, J.B., and Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in ration to animal nutrition. *Jornal of Dairy Science*. 74: 10.3583-3597.
50. Wolin, M. 1960. A theoretical rumen fermentation balance *Jornal. of Dairy Science*. 43: 10. 1452–1459.



Gorgan University of Agricultural
Sciences and Natural Resources

J. of Ruminant Research, Vol. 6(1), 2018
<http://ejrr.gau.ac.ir>

Effects of electron irradiation on nutritional value of red grape pomace using *in vitro* and *in situ* nylon bags techniques

B. Asadnejad¹, R. Pirmohammadi² and *H. Khalilvandi-Behroozyar³

¹Ph.D. Candidate, ²Professor and ³Assistant Prof., Dept. of Animal Science,
Faculty of Agriculture, Urmia University

Received: 10/02/2017; Accepted: 01/24/2018

Abstract

Background and objectives: Condensed tannins, as a main limiting factor in some of the agricultural byproducts, can negatively affect feed intake, digestibility and feed efficiency in ruminants. So many research data are available about the effects of different chemical and physical treatments on condensed tannins levels and activity in tanniferous plants. Red grape pomace is one of the main agro-industrial byproducts with medium to high levels of high activity condensed tannins. However high condensed tannins limit its use in farm animals feeding. Processing with irradiation based techniques can be served as green processing methods without negative environmental effects. The objective of this study was to determine the effects of electron irradiation on chemical composition, levels of anti-nutrients and nutritive value parameters of grape pomace *in vitro* and *in situ*.

Materials and methods: Air-dried (under shade) grape pomace was irradiated by electron beam using Rodotron system in 50, 100, and 150 kilogrey. Effects of irradiation were examined on chemical compositions as well as phenolic compounds. Three fistulated Holstein male steers were used to prepare and incubation of the samples *in situ* within the rumen according to randomized complete block design in two separate runs.

Results: Electron irradiation reduced crude protein, total phenolics and total, condensed and protein and fiber bound tannins. In addition, the bioactivity of phenolics reduced in irradiated samples. Electron irradiation increased *in vitro* gas production and ruminal degradability compared to the control. Ruminal protein degradability and metabolizable energy increased in all of the treatment groups. Electron processing also increased the total amount of volatile fatty acids in all of the treatment compared to the control.

Conclusion: The results of this study showed the effectiveness of electron irradiation in increasing red grape pomace nutritional value. According to the results, irradiation with 100 Kg can be considered as an optimal processing level.

Keywords: Condensed tannins, Irradiation, Rumen degradability, Gas production

*Corresponding author: h.khalilvandi@urmia.ac.ir