

## اثر تانن موجود در بخش‌های گوناگون پسماند کشمش بر ارزش غذایی آن‌ها

زهرا سلطانی<sup>۱</sup> و داریوش علیپور<sup>۲\*</sup>

۱، ۲ کارشناس ارشد، استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

( تاریخ دریافت: ۹۲/۲/۱ - تاریخ تصویب: ۹۲/۱۰/۱۰)

### چکیده

در تحقیق حاضر، آزمایش ترکیبات شیمیایی، ترکیبات فنولیک، و فراسنجه‌های تخمیر در بخش‌های متفاوت پسماند کشمش با استفاده از آزمون تولید گاز با و بدون پلیاتیلن گلیکول (PEG) انجام شد. بخش‌های گوناگون پسماند کشمش شامل کشمش‌های وازده، دم، ساقه، مخلوط کشمش-دم-ساقه، و شکرک (محصول پودری شکل که پس از سورت کردن کشمش به دست می‌آید) بود. همچنین تأثیر تانن باندده شده بر تولید گاز بررسی شد. ترکیبات شیمیایی و ترکیبات فنولیک در بخش‌های گوناگون پسماند کشمش متفاوت بود ( $P < 0.01$ ). بیشترین مقدار پروتئین خام، دیواره سلولی نامحلول در شوینده خنثی، و خاکستر در ساقه مشاهده شد، در حالی که کشمش مقدار کمتری از این فراسنجه‌ها داشت. بیشترین مقدار ترکیبات فنولیک کل (۱۲/۶۸ درصد) و تانن متراکم (۳/۹۶ درصد) در دم دیده شد. افزودن پلی اتیلن گلیکول مقدار تولید گاز، توان هضم ظاهری ماده خشک، توانایی هضم ماده آلی و انرژی متابولیسم پذیر را افزایش داد. به استثنای شکرک، تانن باندده شده در سایر تیمارها فعالیت بیولوژیک داشت و تولید گاز را کاهش داد. به طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که بخش‌های متفاوت پسماند کشمش ترکیبات فنولیک متفاوتی دارند که بر ارزش غذایی این بخش‌ها تأثیر می‌گذارد و آزمایش‌های بیشتری لازم است تا اثر این پسماندها و ترکیبات فنولیک موجود در آن‌ها بر عملکرد دام زنده (پروراری و شیرده) بررسی شود.

**واژه‌های کلیدی:** آزمون تولید گاز، پسماند کشمش، پلی اتیلن گلیکول، تانن.

### مقدمه

شهرستان ملایر از قطب‌های تولید کشمش در کشور است که سالانه مقدار زیادی پسماند کشمش برای استفاده در تغذیه دام تولید می‌کند. این پسماندها به صورت دنباله‌های ریز (دم یا Pedicle که حبانگور را به ساقه متصل می‌کند)، ساقه درشت (ساقه درشت بخشی است که ستون فقرات خوشه انگور را تشکیل می‌دهد و خوشه را به شاخه انگور متصل می‌کند و Rachis نامیده می‌شود)، مخلوط کشمش-دم-ساقه، کشمش‌های وازده (بدون ساقه و دم)، و شکرک است. شکرک شامل بخش‌های ریزی از گوشت و پوست کشمش است که پس از سورت کردن برای بسته‌بندی به دست می‌آید. در زمینه پسماند کشمش پژوهش‌هایی انجام شده است. به عنوان مثال در پژوهشی مشاهده شد

که توانایی هضم ماده آلی این پسماند (مخلوط همه بخش‌ها) بادر نظر گرفتن محل تهیه از ۵۹/۸۱ تا ۶۱/۸ درصد به‌ازای ماده خشک متغیر بود (Alipour et al., 2010).

ترکیبات فنولیک یا تانن استفاده از پسماند کشمش را با محدودیت‌هایی مواجه می‌کند (Alipour et al., 2010). میل ترکیبی بالای تانن با پروتئین، کربوهیدرات‌ها، و مواد معدنی از توان هضم مواد خوراکی در دستگاه گوارش حیوان می‌کاهد (Reed, 1995). وجود تانن در خوراک‌های دامی با تشکیل پیوند با پروتئین خوراک و یا آنزیم‌های گوارشی توانایی هضم پروتئین و ماده آلی خوراک را کاهش می‌دهد (Makkar, 2003a). از راه‌های کاهش تأثیرات منفی تانن‌ها استفاده از پلی اتیلن گلیکول (PEG) است. پلی اتیلن گلیکول

اندازه‌گیری NDF، مواد باقیمانده به داخل ظرف حاوی محلول ADS منتقل و به مدت یک ساعت جوشانده شدند. پس از خشک‌شدن نمونه‌ها در آون (۲۴ ساعت دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد) وزن نمونه‌ها بدون اندازه‌گیری خاکستر ثبت گردید. مقدار لیگنین از قراردادن بقایای ADF در اسیدسولفوریک ۷۲ درصد به مدت ۳ ساعت محاسبه گردید (Van Soest et al., 1991).

مقدار کل ترکیبات فنولیک (TP) و کل تانن (TT) براساس روش رنگ‌سنجی انجام شد (Makkar, 2003b). برای اندازه‌گیری تانن متراکم از جوشاندن ترکیب عصاره و محلول ان‌بیوتانول‌اسیدکلریدریک استفاده شد و مقدار جذب نوری کمپلکس رنگی تشکیل شده در ۵۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

#### آزمون تولید گاز

به منظور بررسی خصوصیات تخمیری و فراسنجه‌های تولید گاز، مایع شکمبه از سه رأس گوسفند فیستولدار نژاد مهربان گرفته شد و ذرات جامد و درشت آن به وسیله چهار لایه از پارچه توری جدا گردید. زمان گرفتن مایع شکمبه قبل از وعده خوراک صبح بود و جیره گوسفندان شامل یونجه و کنسانتره به نسبت ۷۰:۳۰ بود. اثر تانن موجود بر فراسنجه‌های تولید گاز به وسیله انکوباسیون حدود ۲۰/±۳۷۵ میلی‌گرم از تیمارهای گوناگون پسماندهای کشمش با و بدون ۷۵۰ میلی‌گرم پلی‌اتیلن گلیکول با وزن مولکولی ۶۰۰۰ دالتون در سرنگ‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری شیشه‌ای حاوی ۳۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه و بافر ارزیابی شد (Makkar, 2003b). برای آزمون صحت انکوباسیون از علوفه استاندارد استفاده شد. مقدار تولید گاز در زمان‌های متفاوت تا ساعت ۱۴۴ انکوباسیون ثبت و به صورت تجمعی محاسبه شد.

داده‌های تولید گاز پس از ثبت با استفاده از معادله اصلاح شده مونوفازیک برازش گردید (Groot et al., 1996).

(رابطه ۱)

$$GP = \frac{A}{1 + \left(\frac{B}{t}\right)^s}$$

پلیمری غیر یونی است که میل ترکیبی بالایی برای ترکیب‌شدن با تانن دارد و پس از ترکیب‌شدن با تانن از تأثیر منفی آن بر پروتئین جلوگیری می‌کند (Makkar, 2003a). از سوی دیگر وجود تانن اندازه‌گیری دیواره سلولی را با اختلالاتی همراه می‌سازد (Van Soest, 1994). قسمت‌های گوناگون خوشه انگور مقادیر متفاوتی از تانن دارند (Scollary, 2010). بخش‌های گوناگون خوشه انگور ساختار متفاوت و ترکیبات شیمیایی متفاوتی دارند. بررسی‌ها نشان می‌دهند که اطلاعاتی درباره ارزش غذایی بخش‌های متفاوت پسماند کشمش، که امروزه جداگانه نیز به فروش می‌رود، در دست نیست، از این رو هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر تانن موجود در دم، ساقه، کشمش‌های وازده، مخلوط کشمش-دم-ساقه، و شکرک بر ارزش غذایی و فراسنجه‌های تخمیر (آزمون تولید گاز) بود.

#### مواد و روش‌ها

##### جمع‌آوری و نگهداری نمونه‌ها

نمونه‌های پسماند از کارخانه کشمش پاک‌کنی در شهرستان ملایر تهیه شد. نمونه‌ها شامل کشمش‌های وازده (بدون دم و ساقه)، دم، ساقه، مخلوط کشمش-دم-ساقه، و شکرک بود. نمونه‌ها پس از حمل به آزمایشگاه تغذیه دام در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند. پس از آن با استفاده از الک ۱ میلی‌متری (آگ، آمریکا) آسیاب شدند و در فریزر در دمای منهای ۲۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش‌ها ذخیره شدند.

##### ترکیبات شیمیایی و فنولیک

مقدار ماده خشک، خاکستر خام، پروتئین خام به روش AOAC (1990) اندازه‌گیری شد. برای بررسی احتمال اختلال تانن در اندازه‌گیری دیواره سلولی مقدار دیواره سلولی به دو روش اندازه‌گیری شد:

الف. روش مستقیم: در این روش مقدار لیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) و نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) به صورت جداگانه اندازه‌گیری شد (Van Soest et al., 1991).

ب. روش ترتیبی: در این روش ابتدا مقدار NDF نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. سپس از توزین بقایای خشک حاصل از

$$\text{OMD}(\%) = 14.88 + 0.889 \text{ GP} + 0.45 \text{ CP} + 0.0651 \text{ XA}$$

در این روابط GP میزان گاز تولید شده حاصل از مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه خوراک پس از ۲۴ ساعت، CP مقدار پروتئین خام (گرم به ازای ۱۰۰ گرم ماده خشک) و XA مقدار خاکستر (گرم به ازای ۱۰۰ گرم ماده خشک) است. غلظت اسیدهای چرب فرآر با استفاده از دستگاه مارخام اندازه‌گیری شد (Barnett & Reid, 1957).

#### تانن استخراج‌ناپذیر یا باند شده

در آزمایشی جداگانه اثر تانن موجود در دیواره سلولی یا استخراج‌ناپذیر ارزیابی گردید. بدین منظور نمونه‌های آزمایش شده دو بار با استن ۷۰ درصد عصاره‌گیری شده و پس از شستشوی کامل با آب گرم در آن خشک شدند. مقدار تولید گاز نمونه‌های عصاره‌گیری شده به روش ذکر شده پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون اندازه‌گیری شد (با و بدون PEG).

#### تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش‌های ترکیبات شیمیایی و فنولیک در سه تکرار و با استفاده از رویه GLM در نرم‌افزار SAS (ویرایش ۹/۱، ۲۰۰۳) تجزیه و تحلیل شد. در آزمون تولید گاز برای هر تیمار چهار تکرار (سرنگ) در نظر گرفته شد. اثر تیمار و پلی‌اتیلن گلیکول با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی بررسی شد. مدل استفاده شده برای تجزیه و تحلیل آماری به صورت رابطه ۶ بود:

(رابطه ۶)

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + P_j + TP_{ij} + e_{ijk}$$

در این مدل نیز  $Y_{ijk}$  مشاهدات فراسنجه‌های تولید گاز،  $\mu$  میانگین به دست آمده،  $T_i$  اثر نوع پسماند،  $P_j$  اثر افزودن پلی‌اتیلن گلیکول،  $TP_{ij}$  اثر متقابل نوع پسماند و افزودن پلی‌اتیلن گلیکول، و  $e_{ijk}$  اثر خطای آزمایش است. میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن مقایسه شدند.

در معادله مذکور A پتانسیل تولید گاز، B زمانی که نصف تولید گاز صورت گرفت، S درجه سیگموئیدی بودن منحنی تولید گاز و t زمان انکوباسیون است. حداکثر نرخ تولید گاز ( $R_M$ ) و زمانی که حداکثر نرخ تولید گاز صورت می‌گیرد ( $T_{RM}$ ) نیز با استفاده از معادلات زیر محاسبه گردیدند (Baur et al., 2001).

(رابطه‌های ۲ و ۳)

$$R_M = \left\{ A \times (B^S) \times S \times [T_{RM}^{-(S-1)}] \right\} \left\{ 1 + (B^S) \times [T_{RM}^{-(S)}] \right\}^2$$

$$T_{RM} = B \times \left\{ \left[ \frac{(S-1)}{(S+1)} \right]^{(1/S)} \right\}$$

تولید گاز پس از ۲۴ ساعت، توان هضم ظاهری ماده خشک، توده میکروبی، ضریب تفکیک، توانایی هضم ماده آلی، و انرژی متابولیسم‌پذیر

همانند روش بالا آزمون تولید گاز به مدت ۲۴ ساعت انجام شد. پس از ۲۴ ساعت حجم گاز تولیدی ثبت گردید و محتویات سرنگ‌ها به سرعت داخل لوله‌های فالکون ریخته و به مدت نیم ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شدند ( $500 \times g$ ). مایع بالای نیز به فریزر منتقل گردید. لوله‌های آزمایش به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت پس از اندازه‌گیری وزن، توان هضم ظاهری ماده خشک (ADMD) محاسبه گردید. سپس کیسه‌های خشک شده به بالون‌های دارای محلول شوینده خنثی منتقل و به مدت یک ساعت جوشانده شدند. وزن کیسه‌ها پس از خشک شدن اندازه‌گیری و سپس با تفاضل وزن نمونه قبل و بعد از جوشاندن مقدار توده میکروبی (MB) محاسبه شد (Makkar, 2010). نسبت ماده خشک هضم شده واقعی به حجم گاز تولیدی به عنوان ضریب تفکیک (PF) در نظر گرفته شد (Blümmel et al., 1997). توانایی هضم ماده آلی (OMD) و انرژی متابولیسم‌پذیر (ME) با استفاده از روابط ۴ و ۵ محاسبه گردید (Menke & Steingass, 1988):

(رابطه‌های ۴ و ۵)

$$\text{ME}(\text{MJ/kg DM}) = 2.20 + 0.136 \text{ GP} + 0.057 \text{ CP} + 0.0029 \text{ CP}^2$$

## نتایج

## ترکیبات شیمیایی

مقادیر در تیمار کشمش خالص بود ( $P < 0.0001$ ). درباره NDF نیز اختلاف آماری بسیار معنی داری بین تیمارها مشاهده شد. بدین صورت که تیمار ساقه و دم بیشترین مقادیر NDF را داشتند. تیمارهای مخلوط کشمش-دم-ساقه، شکرک، و کشمش خالص به ترتیب کمترین مقادیر NDF را داشتند. مقدار ADF اندازه‌گیری شده به صورت مجزا بیش از مقدار NDF بود؛ در حالی که در روش ترتیبی مقدار ADF کمتر از NDF و بیشترین مقدار در ساقه بود ( $P < 0.0005$ ).

مقدار ترکیبات شیمیایی در جدول ۱ ارائه شده است. اندازه ماده خشک بیشترین مقدار در تیمار دم کشمش و کمترین مقدار در کشمش خالص بود و اختلاف معنی داری ( $P < 0.016$ ) بین تیمارها وجود داشت. بین میانگین ماده آلی نیز اختلاف معنی داری بود که بیشترین مقدار در تیمار شکرک و کمترین مقدار در تیمارهای ساقه و دم کشمش است. اندازه پروتئین خام بیشترین مقدار در تیمار ساقه با ۱۱/۴۶ درصد و کمترین

جدول ۱. ترکیب شیمیایی بخش‌های گوناگون پسماند کشمش (درصد ماده خشک)

نوع پسماند	ماده خشک*	ماده آلی	پروتئین خام	روش مستقیم		روش ترتیبی		لیگنین	خاکستر
				ADF	NDF	ADF	NDF		
کشمش	۸۵/۹۷ <sup>c</sup>	۹۶/۸ <sup>a</sup>	۵/۱۳ <sup>c</sup>	۷/۱۷ <sup>d</sup>	۸/۸۳ <sup>c</sup>	۶/۰۵ <sup>d</sup>	۴/۳۹ <sup>c</sup>	۲/۶ <sup>d</sup>	۳/۳ <sup>b</sup>
کشمش و دم	۸۹/۵۵ <sup>bc</sup>	۹۷/۳ <sup>a</sup>	۵/۳۷ <sup>c</sup>	۱۳/۳۷ <sup>c</sup>	۱۶/۹۶ <sup>b</sup>	۱۱/۰۱ <sup>c</sup>	۹/۴۹ <sup>c</sup>	۵/۴۵ <sup>c</sup>	۲/۷ <sup>b</sup>
ساقه	۹۱/۶۶ <sup>ab</sup>	۹۱/۹ <sup>b</sup>	۱۱/۴۶ <sup>a</sup>	۳۱/۶۵ <sup>a</sup>	۳۲/۸۸ <sup>a</sup>	۳۴/۵۰ <sup>a</sup>	۲۸/۹۳ <sup>a</sup>	۱۰/۷ <sup>b</sup>	۸/۱ <sup>a</sup>
دم	۹۴/۱۵ <sup>a</sup>	۹۲/۳۰ <sup>b</sup>	۷/۸۹ <sup>b</sup>	۲۳/۸ <sup>b</sup>	۲۸/۸۳ <sup>a</sup>	۲۲/۹۴ <sup>b</sup>	۲۰/۹۵ <sup>b</sup>	۱۶/۹ <sup>a</sup>	۷/۷ <sup>a</sup>
شکرک	۹۲/۹۷ <sup>a</sup>	۹۷/۶ <sup>a</sup>	۵/۶۵ <sup>c</sup>	۱۰/۱۱ <sup>cd</sup>	۱۲/۶۱ <sup>bc</sup>	۷/۰۱ <sup>d</sup>	۶/۱۵ <sup>c</sup>	۵/۳۵ <sup>c</sup>	۲/۴ <sup>b</sup>
سطح معنی داری	۰/۰۱	۰/۰۰۰۶	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۶
SEM	۰/۸۷	۰/۳۷	۰/۱۶	۰/۸۶	۱/۳۱	۰/۴۶	۱/۳۲	۰/۲۷	۰/۳۷

\* براساس درصد وزن مرطوب، NDF: دیواره سلولی نامحلول در شوینده خنثی، ADF: دیواره سلولی نامحلول در شوینده اسیدی، SEM: انحراف معیار میانگین‌ها

## ترکیبات فنولیک

همچنین در مقادیر کل تانن اختلاف بسیار معنی داری بین تیمارها وجود داشت ( $P < 0.01$ ) و بیشترین مقادیر در دم کشمش (۱۰/۷۸ درصد) و ساقه کشمش (۹/۳۶ درصد) و کمترین مقادیر به ترتیب مخلوط دم و کشمش (۶/۰۹ درصد)، شکرک (۵/۱۹ درصد)، و کشمش خالص (۵/۰۸ درصد) دیده شد. مقادیر تانن متراکم بین تیمارها اختلاف معنی داری داشت ( $P < 0.0001$ ).

مقدار ترکیبات متفاوت فنولیک در جدول ۲ ارائه شده است. بیشترین مقدار کل فنولیک مربوط به دم کشمش، (۱۲/۶۸ درصد) و ساقه کشمش، (۱۰/۸۶ درصد) و کمترین مقادیر به ترتیب مربوط به مخلوط دم و کشمش (۶/۶۹ درصد)، شکرک (۶/۲۹ درصد)، و کشمش خالص (۵/۱۲ درصد) است.

جدول ۲. مقدار ترکیبات فنولیک موجود در پسماند کشمش (درصد ماده خشک)

نوع پسماند	ترکیبات فنولیک		
	CT	TT	TP
کشمش	۰/۹۱ <sup>d</sup>	۵/۰۸ <sup>b</sup>	۵/۱۳ <sup>b</sup>
کشمش و دم	۲/۲۴ <sup>c</sup>	۶/۰۹ <sup>b</sup>	۶/۶۹ <sup>b</sup>
ساقه	۳/۰۵ <sup>b</sup>	۹/۳۶ <sup>a</sup>	۱۰/۸۶ <sup>a</sup>
دم	۳/۹۶ <sup>a</sup>	۱۰/۷۸ <sup>a</sup>	۱۲/۶۸ <sup>a</sup>
شکرک	۰/۹۳ <sup>d</sup>	۵/۱۹ <sup>b</sup>	۶/۲۹ <sup>b</sup>
سطح معنی داری	۰/۰۰۰۱	۰/۰۱	۰/۰۰۳
SEM	۰/۱	۰/۶۳	۰/۶۳

TP: ترکیبات فنولیک، TT: ترکیبات تاننی، CT: تانن متراکم، SEM: انحراف معیار میانگین‌ها

## فراسنجه‌های تولید گاز

گاز در کشمش و PEG بود ( $P < 0.0001$ ). تیمار ساقه بدون PEG بیشترین مقدار فراسنجه‌های B و T<sub>RM</sub> را داشت و کمترین مقدار R<sub>M</sub> بود. اثر تیمار و PEG بر توان

تأثیر تیمار و افزودن PEG بر این فراسنجه‌های کینتیک تخمیر معنی دار بود (جدول ۳). بیشترین مقدار تولید

همان تیمار افزایش یافته است (جدول ۴). در زمینه MB اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده گردید ( $P < 0.0008$ ). بیشترین مقدار MB (۵۴/۳۳ میلی‌گرم) مربوط به تیمار دم کشمش بدون PEG و کمترین مقدار (۲۰/۳۳ میلی‌گرم) مربوط به تیمار دم کشمش دارای PEG است. با افزودن PEG میزان PF در مقایسه با تیمارهای بدون PEG کاهش یافت. کمترین مقدار (۲/۴۸) در تیمار کشمش خالص به همراه PEG و بیشترین مقدار (۴/۳۴) در تیمار ساقه بدون PEG بود. مقدار OMD بین تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان داد و بیشترین مقدار در تیمار کشمش خالص (۸۲/۲۵ درصد) و کمترین مقدار در تیمار ساقه (۴۵/۹۳ درصد) بود. مقدار ME کشمش خالص بیشترین (۱۲/۴۷) مگاژول به ازای کیلوگرم ماده خشک و ساقه کمترین مقدار (۶/۹۳) مگاژول به ازای کیلوگرم ماده خشک را داشته است. افزودن PEG به تیمارها باعث کاهش MB و PF گردید.

هضم، MB، PF، OMD، و ME در جدول ۴ ارائه شده است. بیشترین تغییرات تولید گاز در اثر افزودن PEG در تیمار دم کشمش مشاهده شد که با افزودن PEG، ۹ درصد تولید گاز افزایش یافت و کمترین تغییرات در تیمار کشمش خالص بود که با افزودن PEG، ۱/۲۵ درصد افزایش تولید گاز مشاهده شد. میزان تغییرات تولید گاز در تیمارها از بیشترین مقدار به کمترین مقدار به ترتیب بیشترین مقدار تانن به کمترین مقدار تانن همخوانی داشت (دم کشمش < ساقه کشمش < مخلوط کشمش و دم < شکرک < کشمش خالص). مقدار تولید گاز نمونه‌های عصاره‌گیری شده با و بدون حضور PEG اندازه‌گیری شد. اختلاف معنی‌داری بین تیمار ساقه دارای PEG در مقایسه با بدون PEG دیده شد. افزودن PEG به تیمار شکرک تقریباً تأثیری بر تولید گاز نداشت. میزان گاز تولیدشده پس از ۲۴ ساعت در تیمارهای دارای PEG در مقایسه با تیمارهایی که بدون PEG در

جدول ۳. فراسنجه‌های تخمیر در بخش‌های گوناگون پسماند کشمش و مقدار تولید گاز در بخش‌های بدون تانن استخراج‌پذیر

GP <sub>wt</sub>	R <sub>M</sub>	T <sub>RM</sub>	S	B	A	نوع پسماند
۳۰/۸۳ <sup>cd</sup>	۰/۳۶ <sup>a</sup>	۰/۲۴ <sup>cd</sup>	۱/۰۹ <sup>b</sup>	۲/۲۵ <sup>e</sup>	۴۸۳/۵ <sup>a</sup>	کشمش +PEG
۲۸/۵ <sup>de</sup>	۰/۲۸ <sup>b</sup>	۰/۶۸ <sup>ab</sup>	۱/۱۹ <sup>a</sup>	۲/۶۷ <sup>de</sup>	۴۶۴/۴ <sup>b</sup>	کشمش -PEG
۳۲/۳۳ <sup>bc</sup>	۰/۲۹ <sup>b</sup>	۰/۶۵ <sup>abc</sup>	۱/۱۸ <sup>a</sup>	۲/۶۵ <sup>de</sup>	۴۲۵/۶ <sup>c</sup>	کشمش و دم +PEG
۲۷/۲۵ <sup>e</sup>	۰/۲۹ <sup>b</sup>	۰/۲۱ <sup>d</sup>	۱/۰۶ <sup>b</sup>	۲/۹۶ <sup>cd</sup>	۳۹۲/۸ <sup>d</sup>	کشمش و دم -PEG
۳۷ <sup>a</sup>	۰/۱۸ <sup>d</sup>	۰/۳۹ <sup>bcd</sup>	۱/۰۷ <sup>b</sup>	۴/۵۶ <sup>b</sup>	۲۲۷/۱ <sup>f</sup>	ساقه +PEG
۳۴/۲۵ <sup>ab</sup>	۰/۱۳ <sup>e</sup>	۰/۸۲ <sup>a</sup>	۱/۰۹ <sup>b</sup>	۶/۸۶ <sup>a</sup>	۲۷۷/۵ <sup>e</sup>	ساقه -PEG
۲۹/۶۶ <sup>cde</sup>	۰/۲۶ <sup>c</sup>	۰/۲۸ <sup>bcd</sup>	۱/۰۷ <sup>b</sup>	۳/۲۵ <sup>c</sup>	۲۵۰/۴ <sup>e</sup>	دم +PEG
۲۷/۵ <sup>e</sup>	۰/۱۸ <sup>d</sup>	۰/۳۷ <sup>bcd</sup>	۱/۰۶ <sup>b</sup>	۴/۷ <sup>b</sup>	۳۳۴/۴ <sup>ef</sup>	دم -PEG
۳۱/۳۳ <sup>bcd</sup>	۰/۳ <sup>b</sup>	۰/۴۵ <sup>abcd</sup>	۱/۱۳ <sup>ab</sup>	۲/۵۷ <sup>de</sup>	۴۲۵/۵ <sup>c</sup>	شکرک +PEG
۳۱/۲۵ <sup>bcd</sup>	۰/۳ <sup>b</sup>	۰/۲۸ <sup>bcd</sup>	۱/۰۸ <sup>b</sup>	۲/۶۹ <sup>de</sup>	۴۲۰/۹ <sup>c</sup>	شکرک -PEG
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۵	۰/۰۲	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	سطح معنی‌داری
۰/۸۶	۰/۰۰۵	۰/۱۱	۰/۰۲	۰/۱۷	۵/۸۹	SEM
اثر بخش‌های گوناگون پسماند						
۲۸/۲ <sup>ab</sup>	۰/۲۷ <sup>a</sup>	۰/۶۳ <sup>a</sup>	۱/۱۷	۲/۶۴ <sup>cd</sup>	۴۶۱/۳ <sup>a</sup>	کشمش -
۲۷/۴ <sup>b</sup>	۰/۲۹ <sup>a</sup>	۰/۲۳ <sup>c</sup>	۱/۰۴	۲/۸۸ <sup>c</sup>	۳۹۳/۱ <sup>c</sup>	کشمش و دم -
۳۴/۱ <sup>a</sup>	۰/۱۳ <sup>b</sup>	۰/۸۴ <sup>a</sup>	۱/۰۵	۶/۷۴ <sup>a</sup>	۲۷۵/۷ <sup>e</sup>	ساقه -
۲۷/۲ <sup>b</sup>	۰/۱۶ <sup>b</sup>	۰/۳۵ <sup>bc</sup>	۱/۰۸	۴/۶۳ <sup>b</sup>	۳۳۲/۶ <sup>d</sup>	دم -
۳۱/۳ <sup>ab</sup>	۰/۳۱ <sup>a</sup>	۰/۲۸ <sup>c</sup>	۱/۰۸	۲/۵۷ <sup>d</sup>	۴۲۲/۱ <sup>b</sup>	شکرک -
۰/۸۵	۰/۰۰۵	۰/۰۹	۰/۰۲	۰/۱۴	۴/۶۳	SEM
اثر افزودن پلی‌اتیلن گلیکول						
۳۲/۲۳ <sup>a</sup>	۰/۲۸ <sup>a</sup>	۰/۴۱ <sup>b</sup>	۱/۱۱	۳/۰۴ <sup>b</sup>	۳۸۲/۴ <sup>a</sup>	+PEG
۲۹/۷۵ <sup>b</sup>	۰/۲۳ <sup>b</sup>	۰/۴۵ <sup>a</sup>	۱/۱۰	۳/۹۶ <sup>a</sup>	۳۷۸/۰ <sup>b</sup>	-PEG
۰/۷۹	۰/۰۰۵	۰/۰۹	۰/۰۲	۰/۱۵	۳/۷۳	SEM

A: تولید گاز بالقوه (میلی‌لیتر به ازای گرم ماده آلی)، B: زمان تولید نصف حداکثر گاز (ساعت)، S: درجهٔ سیگموتیدی بودن، T<sub>RM</sub>: زمانی که بیشترین سرعت تولید گاز اتفاق می‌افتد (ساعت)، R<sub>M</sub>: حداکثر تولید گاز (h/ یا در ساعت)، GP<sub>wt</sub>: تولید گاز پس از استخراج تانن (میلی‌لیتر به ازای گرم ماده آلی)، +PEG: با پلی‌اتیلن گلیکول، -PEG: بدون پلی‌اتیلن گلیکول، SEM: انحراف معیار میانگین‌ها

جدول ۴. فراسنجه‌های تولید گاز در پسماندهای کشمش پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون

SCFA	ME	OMD	PF	MB	IVGP	ADMD		
۱/۶۷ <sup>a</sup>	۱۲/۴۷ <sup>a</sup>	۸۲/۲۵ <sup>a</sup>	۲/۴۸ <sup>e</sup>	۲۴ <sup>bcd</sup>	۷۵/۵ <sup>a</sup>	۸۱/۸۳ <sup>a</sup>	+PEG	کشمش
۱/۶۴ <sup>ab</sup>	۱۲/۳۰ <sup>ab</sup>	۸۱/۱۴ <sup>ab</sup>	۲/۵۰ <sup>e</sup>	۲۷ <sup>bcd</sup>	۷۴/۲۵ <sup>ab</sup>	۷۹/۵ <sup>ab</sup>	-PEG	
۱/۴۹ <sup>d</sup>	۱۱/۳۹ <sup>d</sup>	۷۵/۱۵ <sup>d</sup>	۲/۶۹ <sup>d</sup>	۳۶ <sup>bcd</sup>	۶۷/۵ <sup>d</sup>	۷۲/۶۶ <sup>cd</sup>	+PEG	کشمش و دم
۱/۴ <sup>e</sup>	۱۰/۸۱ <sup>e</sup>	۷۱/۳۷ <sup>e</sup>	۲/۸۲ <sup>d</sup>	۳۷/۵ <sup>bc</sup>	۶۳/۲۵ <sup>e</sup>	۷۰/۵ <sup>cd</sup>	-PEG	
۰/۹۴ <sup>g</sup>	۸/۰۳ <sup>g</sup>	۵۳/۱۹ <sup>g</sup>	۳/۶۳ <sup>b</sup>	۳۵/۳۳ <sup>bcd</sup>	۴۲/۵ <sup>g</sup>	۵۷/۱۶ <sup>e</sup>	+PEG	ساقه
۰/۷۵ <sup>h</sup>	۶/۹۳ <sup>h</sup>	۴۵/۹۳ <sup>h</sup>	۴/۳۴ <sup>a</sup>	۴۰ <sup>b</sup>	۳۴/۳۳ <sup>h</sup>	۵۶/۸۳ <sup>e</sup>	-PEG	
۱/۱۲ <sup>f</sup>	۹/۱۲ <sup>f</sup>	۶۰/۲۹ <sup>f</sup>	۳/۰۶ <sup>c</sup>	۲۰/۳۳ <sup>e</sup>	۵۰/۶۶ <sup>f</sup>	۶۷/۵ <sup>d</sup>	+PEG	دم
۰/۹۳ <sup>g</sup>	۷/۹ <sup>g</sup>	۵۲/۲۹ <sup>g</sup>	۳/۷ <sup>b</sup>	۵۴/۳۳ <sup>a</sup>	۴۱/۶۶ <sup>g</sup>	۵۰/۱۶ <sup>e</sup>	-PEG	
۱/۶۳ <sup>b</sup>	۱۲/۲۰ <sup>b</sup>	۸۰/۴۹ <sup>b</sup>	۲/۵ <sup>e</sup>	۲۹/۳۳ <sup>de</sup>	۷۲/۵ <sup>b</sup>	۷۸/۷۵ <sup>ab</sup>	+PEG	شکرک
۱/۵۸ <sup>c</sup>	۱۱/۹۴ <sup>c</sup>	۷۸/۷۲ <sup>c</sup>	۲/۵ <sup>e</sup>	۲۱/۵ <sup>bcd</sup>	۷۱/۵ <sup>c</sup>	۷۷/۱۶ <sup>abc</sup>	-PEG	
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱		سطح معنی داری
۰/۰۱	۰/۰۵۷	۰/۴۲	۰/۰۵	۴/۰۸	۰/۴۷	۲/۳۴		SEM
اثر بخش‌های گوناگون پسماند								
۱/۶۶ <sup>a</sup>	۱۲/۴ <sup>a</sup>	۸۱/۸۱ <sup>a</sup>	۲/۴ <sup>d</sup>	۲۵/۳ <sup>b</sup>	۷۵ <sup>a</sup>	۸۰/۹ <sup>a</sup>	-	کشمش
۱/۴۵ <sup>c</sup>	۱۱/۱۶ <sup>c</sup>	۷۳/۶۴ <sup>c</sup>	۲/۷ <sup>c</sup>	۳۶/۶ <sup>a</sup>	۶۵/۸ <sup>c</sup>	۷۱/۸ <sup>b</sup>	-	کشمش و دم
۰/۸۴ <sup>e</sup>	۷/۴۸ <sup>e</sup>	۴۹/۵۶ <sup>e</sup>	۳/۹ <sup>a</sup>	۳۷/۶۶ <sup>a</sup>	۳۸/۴ <sup>e</sup>	۵۷ <sup>c</sup>	-	ساقه
۱/۰۲ <sup>d</sup>	۸/۵۱ <sup>d</sup>	۵۶/۲۹ <sup>d</sup>	۳/۳۸ <sup>b</sup>	۳۷/۳۳ <sup>a</sup>	۴۶/۱۶ <sup>d</sup>	۵۸/۸۳ <sup>c</sup>	-	دم
۱/۶۱ <sup>b</sup>	۱۲/۰۹ <sup>b</sup>	۷۹/۷۸ <sup>b</sup>	۲/۵۰ <sup>d</sup>	۲۶/۲ <sup>b</sup>	۷۲/۷ <sup>b</sup>	۷۷/۸ <sup>a</sup>	-	شکرک
۰/۰۰۷	۰/۰۴	۰/۳	۰/۰۱	۲/۸۸	۰/۳۳	۱/۶۵		SEM
اثر افزودن پلی‌اتیلن گلیکول								
۱/۳۷ <sup>a</sup>	۱۰/۶۴ <sup>a</sup>	۷۰/۲۷ <sup>a</sup>	۲/۸۷ <sup>b</sup>	۲۹/۹۳ <sup>b</sup>	۶۱/۹۳ <sup>a</sup>	۷۱/۲۶ <sup>a</sup>	+PEG	-
۱/۱۹ <sup>b</sup>	۹/۵۵ <sup>b</sup>	۶۳/۰۹ <sup>b</sup>	۳/۳۱ <sup>a</sup>	۳۶/۷۵ <sup>a</sup>	۵۳/۸۳ <sup>b</sup>	۶۴/۸۷ <sup>b</sup>	-PEG	-
۰/۰۰۴	۰/۰۲	۰/۱۸	۰/۰۰۷	۱/۸۲	۰/۲۱	۱/۰۴		SEM

ADMD: توانایی هضم ظاهری ماده خشک (درصد)، IVGP: تولید گاز پس از ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر به‌ازای گرم ماده آلی)، MB: توده میکروبی (میلی‌گرم)، PF: ضریب تفکیک، OMD: توان هضم ماده آلی (درصد)، ME: انرژی متابولیسم‌پذیر (مگاژول به‌ازای کیلوگرم ماده خشک)، SCFA: مجموع اسیدهای چرب فرآر (میلی‌مول در لیتر)، +PEG: با پلی‌اتیلن گلیکول، PEG: بدون پلی‌اتیلن گلیکول، SEM: انحراف معیار میانگین‌ها

## بحث

متراکم حل بشود و در مرحله بعد که جوشاندن در محلول شوینده اسیدی است اختلال ایجاد نکند (Van Soest et al., 1994). در تیمارهایی که کشمش وجود داشت (باوجود مقدار کم تانن متراکم، ۰/۹۱ درصد برای کشمش خالص و ۰/۹۲ درصد برای شکرک) نیز مشاهده گردید که مقدار ADF از NDF در روش مجزا بیشتر بود. در این آزمایش مقدار پکتین اندازه‌گیری نشد اما براساس منابع موجود یکی از کربوهیدرات‌های اصلی کشمش پکتین است (Camire & Dougherty, 2003). وجود پکتین در کنار تانن متراکم (حتی به مقدار اندک یا شکل باندشده) باعث می‌شود تا در سیستم آنالیز دیواره سلولی اختلال ایجاد شود (Cassida et al., 2007). زمان‌بر و پیچیده‌بودن اندازه‌گیری پکتین باعث شده است تا در بررسی کیفیت خوراکی‌های دامی مد نظر قرار نگیرد (Mould & Robbins, 1981). مقدار تانن موجود در تیمارهای کشمش و شکرک بسیار کمتر از مقدار تانن کل بود. علت این تفاوت را شاید بتوان به‌علت خشک‌شدن در مقابل آفتاب (در حین فرایند تولید کشمش) دانست. در پژوهشی مشخص شد که

مقدار ماده خشک تیمار مخلوط کشمش-دم-ساقه حدود ۸۶ درصد بود که با مقادیر گزارش‌شده Alipour et al. (2010) متفاوت بود. بیشترین مقدار پروتئین در تیمار ساقه مشاهده شد. تاکنون پژوهشی در ارتباط با ارزش غذایی بخش‌های متفاوت پسماند کشمش یا سایر محصولات انگور انجام نشده است (ارزش غذایی ساقه و دم) که بتوان یافته‌های این پژوهش را با پژوهش‌های قبلی مقایسه کرد. در آزمایشی ارزش غذایی پسماند کشمش (مخلوط کشمش ساقه دم) بررسی گردید که بیشتر اعداد گزارش‌شده با داده‌های این پژوهش مطابقت نداشت (Alipour et al., 2010). باید توجه داشت که مقدار ADF اندازه‌گیری‌شده در روش مجزا بیشتر از مقدار NDF بود. وجود حرارت و اکسیژن در محیط اسیدی در مرحله اندازه‌گیری ADF به‌صورت مستقیم باعث می‌شود تا پلیمرهای حل‌نشده (تانن متراکم و پروتئین) تشکیل شود که به همی سلولز و لیگنین افزوده می‌شود (Van Soest et al., 1994). در روش متوالی جوشاندن نمونه‌ها در محلول NDS باعث می‌شود تا تانن

تعدادی از شاخص‌های کینتیک شد. کاهش شاخص B (بیانگر زمانی است که نصف حداکثر گاز تولید می‌شود) نشان‌دهنده این است که افزودن PEG یا به عبارتی کاهش اثر منفی تانن‌ها باعث افزایش تولید گاز در اوایل تخمیر شده است. در بیشتر پژوهش‌ها، تاننی که اندازه‌گیری می‌شود تانن استخراج‌پذیر یا آزاد است. اما اهمیت تانن‌های باندشده با فیبر یا پروتئین کمتر استفاده شده است. در این آزمایش به‌رغم عصاره‌گیری نمونه‌ها با استن، افزودن PEG همچنان باعث افزایش تولید گاز شد که دلیل آن می‌تواند بی‌اثر شدن تانن باندشده یا استخراج‌ناپذیر آن باشد. بخشی از تانن متراکم با NDF ترکیب شده است که در هنگام تجزیه NDF در شکمبه به‌وسیله میکروارگانیسم‌ها به تدریج رها می‌شود و بر فعالیت میکروارگانیسم‌ها اثر می‌گذارد (Makkar, 2003b).

#### نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که مقدار و تأثیرات زیستی تانن موجود در بخش‌های گوناگون پسماند کشمش متفاوت است و به‌همین دلیل ارزش غذایی آن‌ها نیز تحت تأثیر مقدار تانن قرار می‌گیرد. بیشترین مقدار تانن در دم کشمش و کمترین در کشمش خالص مشاهده گردید. از سوی دیگر در بعضی از بخش‌ها مانند ساقه و دم تانن باندشده یا استخراج‌ناپذیر نیز دارای فعالیت بیولوژیک بود. تاکنون پژوهشی در زمینه اثر تانن موجود در پسماند کشمش بر متابولیسم پروتئین و کربوهیدرات در دام زنده انجام نشده است. پیشنهاد می‌شود پژوهش‌های بیشتری برای بررسی اثر تانن موجود در پسماند کشمش بر توانایی هضم پروتئین و کربوهیدرات‌ها و احتمال افزایش پروتئین عبوری در دام‌های پرواری یا شیری انجام شود.

خشک‌کردن در مقابل آفتاب باعث شد تا ۹۰ درصد متابولیت‌های وابسته به تانن متراکم کاهش یابند (Karadeniz *et al.*, 2000). باتوجه به داده‌های تولید گاز (با یا بدون PEG) می‌توان دریافت که فعالیت بیولوژیک تانن در تیمارهای ساقه و دم بیشتر بوده است. افزودن PEG به این تیمار مقدار گاز بیشتری در مقایسه با سایر تیمارها تولید کرده است. ظاهراً PEG مانع از باند شدن تانن با پروتئین خوراک، آنزیم‌های مؤثر در هضم ماده آلی خوراک و کربوهیدرات‌ها می‌شود و بالطبع توان تخمیر ماده آلی در شکمبه افزایش می‌یابد. افزودن PEG باعث شده است تا مقدار توده میکروبی در تیمار دم بیش از ۲/۵ برابر در مقایسه با تیمار بدون PEG کاهش یابد. اثر افزودن PEG بر توده میکروبی متناقض است. در آزمایشی Wina *et al.* (2012) با افزودن PEG به ترکیب پسماند توفو (پنیر سویا) و عصاره حاوی تانن مشاهده کردند که مقدار توده میکروبی کاهش یافت. در مقابل McSweeney *et al.* (2001) گزارش کردند با افزودن PEG به جیره گوسفندانی که گیاه کالیاندر را دریافت کرده بودند مقدار مشتقات پورینی ادرار که بیان‌کننده مقدار توده میکروبی است، افزایش یافته بود. کاهش توده و بازده میکروبی پس از افزودن PEG به خوراک حاوی تانن را Makkar (2003a) نیز گزارش کرده است. پلی‌اتیلن گلیکول اگرچه بازده استفاده از ماده آلی به‌وسیله میکروبی‌های شکمبه را افزایش می‌دهد اما استفاده از همین مواد را برای سنتز پروتئین میکروبی به‌علت افزایش اتلاف انرژی و عدم تطابق زمانی مناسب استفاده از انرژی و پروتئین کاهش می‌دهد (Makkar, 2003a). همین دلایل باعث کاهش PF که بیانگر بازده سنتز توده میکروبی است، شده‌اند. افزایش PEG باعث تغییر

## REFERENCES

1. Alipour D., Tabatabaei M. M., Zamani P., Aliarabi H. A., Saki A. A. & Zamani Z. (2010). Determination of chemical composition and gas production parameters of raisin by-product. *Journal of Animal Science Research*, 4(1), 109-118. (In Farsi)
2. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (1990). Official Methods of Analysis, Vol. II., 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
3. Barnett A. G. & Reid R. L. (1957). Studies on the production of volatile fatty acid production from fresh grass by rumen liquor in an artificial rumen. I. The volatile fatty acid production. *Journal of Agricultural Science, (Cambridge)*, 48, 315-318.

4. Bauer E., Williams B. A., Voigt C., Mosenthin R. & Verstegen M. W. A. (2001). Microbial activities of feces from unweaned and adult pigs, in relation to selected fermentable carbohydrates. *Journal of Animal Science*, 73, 313–322.
5. Blümmel M., Makkar H. P. S. & Becker K. (1997). *In vitro* gas production: a technique revisited. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 77, 24–34.
6. Camire M. E., & Dougherty (2003). Raisin dietary fiber composition and *in vitro* bile acid binding. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51(3), 834–837.
7. Cassida K. A., Turner K. E., Foster, J. G. & Hesterman O. B. (2007). Comparison of detergent fiber analysis method for forages high in pectin. *Animal Feed Science and Technology*, 135(3-4), 283-295.
8. Groot J. C. J., Cone J. W., Williams B. A., Debersaques F. M. A. & Lantinga E. A. (1996). Multiphasic analysis of gas production kinetics for *in vitro* fermentation of ruminant feeds. *Animal Feed science and Technology*, 64, 77–89.
9. Karadeniz F., Durst R. W. & Wrolstad R. E. (2000). Phenolic composition of raisins. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48(11), 5343-5350.
10. Makkar H. P. S. (2003a). Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effect of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*, 49, 241–256.
11. Makkar H. P. S. (2003b). Quantification of tannins in tree and shrub foliage. A laboratory manual. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
12. Makkar, H.P.S. (2010). *In Vitro Screening of Feed Resources for Efficiency of Microbial Protein Synthesis*, (pp. 106-144). In: *In Vitro Screening of Plant Resources for Extra-Nutritional Attributes in Ruminants: Nuclear and Related Methodologies* (Ed.), New York: Springer.
13. McSweeney, C. S., Palmer, B., McNeill, D. M. & Krause, D. O. (2001). Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 91, 83–93.
14. Menke K. H. & 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.
15. Mould E. D. & Robbins C. T. (1981). Evaluation of detergent analysis in estimating nutritional value of browse. *Journal of Wildlife Management*, 45, 937-947.
16. Reed J. D. (1995). Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in foage legumes. *Journal of Animal Science*, 73, 1516–1528.
17. SAS (2003). SAS 9.1 for Windows. SAS Institute. Cary, NC.
18. Scollary G. R. (2010). *GWRDC Tannin Review*. Grape and wine research and development corporation, from <http://www.gwrdc.com.au/wp-content/uploads/2012/09/GWR-0905.pdf>.
19. Van Soest P. J., Robertson J. B. & Lewis B. A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch carbohydrates in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583–3597.
20. Van Soest P. J. (1994). *Nutritional Ecology of the Ruminant*. Ithaca, NY, USA: Cornell University Press.
21. Wina E., Yulistiani D. Susana I. W. R. & Tangendjaja B. (2012). Improving microbial protein synthesis in the rumen of sheep fed fresh tofu waste by crude tannin extract of *Acacia mangium*. *Indonesian Journal of Animal and Veterinary Science*, 17(3), 207-214.