

مقاله پژوهشی:

ارزیابی ارزش تغذیه‌ای ترکیبات قابل رسوب خیساب ذرت توسط تانن‌های استخراج شده از ضایعات کشمش به‌عنوان یک منبع پروتئینی در تغذیه نشخوارکنندگان

ابوالفضل کولیوند^۱، آرش آذر فر^{۲*}، امیر فدایی فر^۳ و ایوب عزیزی^۳

۱. دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

۲. استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

۳. استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۲۲ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۳/۱۰)

چکیده

این آزمایش به منظور بررسی ارزش تغذیه‌ای و برآورد میزان پروتئین محافظت شده پروتانومیکس به‌عنوان یک منبع پروتئینی جدید و مقایسه آن با کنجاله سویا طراحی شده است. پروتانومیکس پودری قهوه‌ای رنگ بوده و از جداسازی رسوب ناشی از واکنش تانن با خیساب ذرت حاصل می‌شود. مقدار پروتئین خام (CP) و انرژی قابل متابولیسم (ME) در این منبع پروتئینی تقریباً شبیه کنجاله سویا بوده و بیش از ۸۰ درصد از پروتئین آن، به شکل نامحلول است. در این مطالعه، قابلیت تولید گاز آزمایشگاهی در پروتانومیکس به‌طور معنی‌داری از تیمار شاهد (کنجاله سویا) کمتر بود ($P < 0/01$); اگر چه، جایگزینی کنجاله سویا با سطوح مختلف از پروتانومیکس در جیره‌های آزمایشی، منجر به تفاوت‌های معنی‌داری در فراسنجه‌های تولید گاز نگردید ($P > 0/05$). در مقایسه پروتانومیکس با کنجاله سویا (شاهد)، فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری حقیقی ماده خشک در شرایط آزمایشگاهی (IVTDDM)، انرژی قابل متابولیسم (ME) و pH تفاوت‌های معنی‌داری نداشتند ($P > 0/05$), اما غلظت اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (SCFA)، قابلیت هضم ظاهری ماده آلی (IVOMAD) و نیتروژن آمونیاکی ($N-NH_3$) در کنجاله سویا به‌طور معنی‌داری بالاتر بود ($P < 0/01$) در حالی که ضریب تفکیک (PF)، تولید پروتئین میکروبی (MPS) و بازده تولید پروتئین میکروبی (EMPS) در پروتانومیکس مقادیر بالاتری را نشان داد ($P < 0/05$). با این حال، در جایگزینی کنجاله سویا با سطوح مختلف از پروتانومیکس در جیره‌های آزمایشی، تنها $N-NH_3$ بطور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0/05$).

واژه‌های کلیدی: پروتئین عبوری، ضایعات کشمش، تانن، خیساب ذرت.

Evaluation of nutritive value of perceptible compounds of corn-steep liquor by tannins extracted from raisin by-products as a protein source in ruminant nutrition

Abolfazl Koolivand¹, Arash Azarfar^{2*}, Amir Fadayifar³ and Ayoub Azizi³

1. Ph.D. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Lorestan University, Khorramabad, Iran

2. Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Lorestan University, Khorramabad, Iran

3. Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Lorestan University, Khorramabad, Iran

(Received: Mar. 13, 2022 - Accepted: May 31, 2022)

ABSTRACT

This experiment was designed to survey the nutritive value and estimate protected-protein level of *Protanomix* as a new protein source and compare it with soybean meal. *Protanomix* is a brown powder by separating the precipitate produced from the reaction of tannin with corn-steep liquor. Crude protein (CP) and metabolizable energy (ME) in this protein source is nearly similar to soybean meal, and more than 80% of its protein content is insoluble. In this study, potential of *in vitro* gas production in *Protanomix* was significantly ($P < 0.001$) lower than the control treatment (soybean meal); however, substitution of soybean meal at different levels of *Protanomix* in experimental diets did not lead to significant changes in gas production parameters ($P > 0.05$). Comparing *Protanomix* with soybean meal (control) showed that *in vitro* truly degraded dry matter (IVTDDM), estimated metabolizable energy (ME) and pH were similar ($P > 0.05$). However, short chain fatty acids (SCFA), apparently *in vitro* organic matter digestibility (IVOMAD) and ammonia nitrogen ($N-NH_3$) were significantly higher in soybean meal ($P < 0.01$) than *Protanomix*, while partitioning factor (PF), microbial protein synthesis (MPS) and efficiency of microbial protein synthesis (EMPS) were greater in *Protanomix* than soybean meal ($P < 0.05$). Nonetheless, when soybean meal was substituted with different levels of *Protanomix* in the experimental diets, only concentration of ammonia nitrogen ($N-NH_3$) was significantly decreased ($P < 0.001$).

Keywords: Bypass protein, Raisin by-products, Tannin, Corn-steep liquor.

* Corresponding author E-mail: arash.azarfar@gmail.com

مقدمه

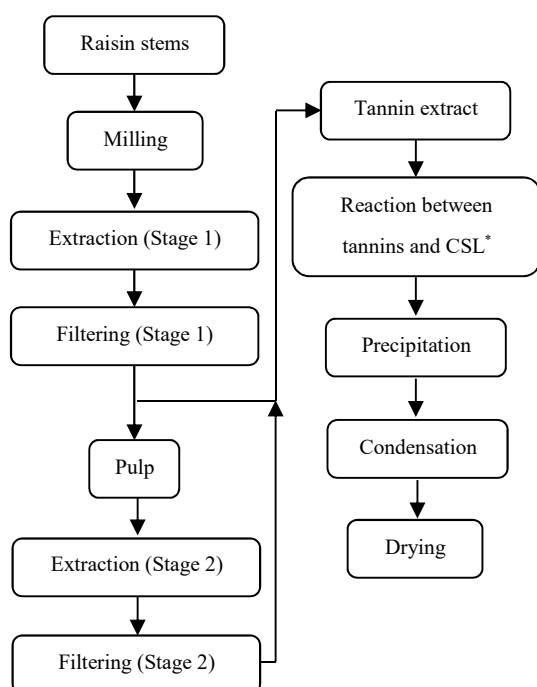
یکی از اهداف کنترل تخمیر مواد مغذی در شکمبه، محدود کردن فعالیت میکروارگانیسم‌ها، صرفاً به تجزیه ترکیباتی از جیره بوده که آنزیم‌های گوارشی پس از شکمبه‌ای، قادر به هضم آن‌ها نیست. برای این منظور، باید مواد مغذی چون کربوهیدرات‌های محلول و به‌ویژه پروتئین‌های با کیفیت بالا را از دسترس میکروب‌های شکمبه، مصون داشت (Azarfar et al., 2020b). در مورد پروتئین‌ها، اگر سرعت تجزیه در شکمبه بیشتر از سرعت ساخت آنها باشد، هر چند بخشی از آمونیاک به شکل اوره و از طریق بزاق یا دیواره شکمبه بازیافت می‌شود، اما قسمت اعظم آن از طریق ادرار دفع گردیده که علاوه بر تحمیل هزینه انرژی و اثر منفی بر سلامت، تولید و تولید مثل دام، اتلاف نیتروژن و بروز مشکلات زیست محیطی را هم به دنبال خواهد داشت (Olmos Colmenero & Broderick, 2006). بنابراین با توجه به اثر مخرب میکروب‌های شکمبه بر پروتئین‌های با کیفیت بالا و این که تولید پروتئین میکروبی پاسخگوی نیاز گاوهای شیری پرتولید نمی‌باشد، لذا ضرورت تأمین بخشی از پروتئین جیره به شکل عبوری کاملاً احساس می‌شود (Azarfar et al., 2020b).

مشخص شده است که تانن‌ها می‌توانند مانع از تجزیه میکروبی پروتئین‌ها در شکمبه شوند (Patra, 2012)؛ این مواد به دو صورت قابل هیدرولیز و متراکم در عصاره برخی گیاهان یافت شده و قابلیت تشکیل پیوند و ایجاد رسوب با پروتئین‌ها را دارند (Vermeris & Nicholson, 2008). تانن‌های قابل هیدرولیز می‌توانند تحت تأثیر آنزیم‌های محیط شکمبه دپلمیریزه شده و پس از جذب، به آسیب‌های سلولی منجر شوند؛ در مقابل، تانن‌های متراکم از استحکام مولکولی قوی برخوردار بوده و در دستگاه گوارش تجزیه و جذب نمی‌شوند (Combs, 2016). از طرف دیگر، شرایط آب و هوایی خشک و نیمه‌خشک و کمبود منابع آبی در بسیاری از کشورها منجر به کاهش محصولات کشاورزی از جمله ذرت و سویا شده است (Abarghuei et al., 2014)؛ بنابراین در حال حاضر فراهم نمودن بسترهای مناسب، جهت استفاده

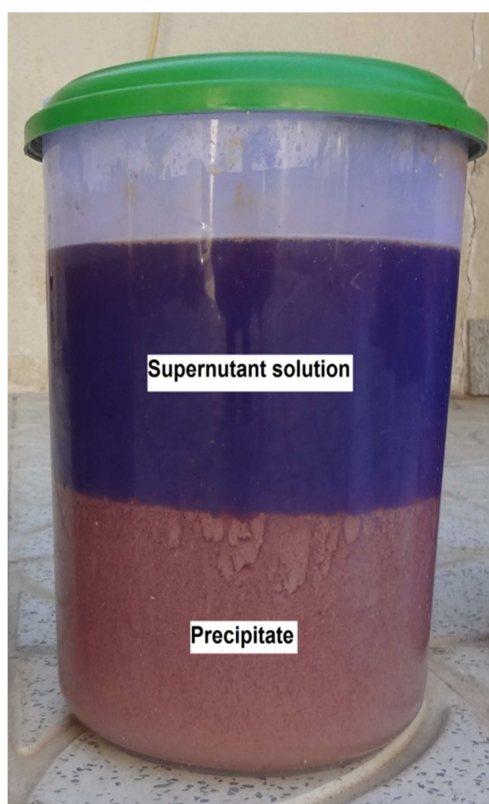
از پسماند کارخانه‌های صنایع غذایی و ضایعات کشاورزی در صنعت تغذیه دام از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است (Seifdavati et al., 2017). انگور یکی از محصولات کشاورزی غنی از تانن بوده که محتوای تاننی آن بیشتر از نوع متراکم است (Alipour et al., 2010)؛ از این رو شهر جهانی انگور، ملایر، با تولید حدود ۲۵۰۰۰۰ تن انگور سالانه، می‌تواند بستر مناسبی برای تحقیقات مربوط به انگور و تانن باشد. در این شهرستان اکثر باغداران، انگور را در هوای آزاد خشک نموده و قبل از حمل به کارخانه، معمولاً ساقه اصلی خوشه‌های انگور را جدا کرده و دور می‌ریزند؛ به این ترتیب ضایعات کشمش تولیدشده در این کارخانه‌ها به مقدار تقریبی ۷۰۰۰ تن، شامل ساقه‌چه‌های خوشه انگور (پوش)، کشمش‌های وازده، دُم کشمش و شکرک^۱ بوده (Tabatabaei et al., 1991) که به نظر می‌رسد از ارزش بالقوه بسیار بالایی، جهت استخراج تانن برخوردار باشند.

خیساب ذرت (Corn-Steep Liquor) یکی از مهم‌ترین پسماندهای کارخانه‌های تولیدکننده نشاسته و گلوکز بوده و مقدار تولید آن در ایران بیش از ۴۰۰۰ تن در سال است. این محصول فرعی شیرابه‌ای چسبناک به رنگ قهوه‌ای تیره و با محتوای پروتئین خام بالا می‌باشد که طی مرحله خیساندن ذرت، جهت استحصال نشاسته و استخراج روغن، از دانه‌های ذرت حاصل شده و در نهایت از طریق تبخیر، تغلیظ شده و pH آن حدود ۴ است. مقدار کربوهیدرات‌های غیر فیبری و پروتئین خام این محصول فرعی به ترتیب حدود ۴۰ و ۴۵ درصد ماده خشک بوده که تقریباً ۹۰ درصد از محتوای پروتئینی آن به صورت محلول (Soluble protein) و باقیمانده آن به شکل نامحلول (Insoluble protein) است (Azizi et al., 2016). حالت فیزیکی مایع، مقدار پروتئین محلول بالا و pH پایین، از جمله معایب این محصول فرعی ارزشمند بوده که استفاده مستقیم آن را در جیره دام‌های نشخوارکننده، با محدودیت‌های زیادی مواجه نموده است. به‌علاوه خیساب ذرت به خاطر داشتن ترکیبات

۱. شکرک شامل بخش‌های ریزی از گوشت و پوست کشمش است که در کارخانه‌های کشمش، همزمان با انجام مرحله سورت کردن، حاصل می‌گردد.



شکل ۱. شمای عملیاتی استخراج تانن و تولید پروتائومیکس
Figure 1. Flowchart of tannin extraction and production of *Protanomis*
* Corn steep liquor



شکل ۲. واکنش رسوبدهی بین تانن‌ها و خیساب ذرت
Figure 2. Precipitation reaction between tannins and corn steep liquor

جاذب رطوبت، با روش‌های معمولی یعنی حرارت دادن و یا قرار دادن در مجاورت هوا، به‌طور کامل خشک نمی‌شود و حتی خشک کردن آن با دستگاه خشک کن پاششی (Spray dryer) منجر به تولید پودری می‌شود که جاذب رطوبت هوا است (Azarfar *et al.*, 2020b). با توجه به ویژگی‌های خیساب ذرت، جهت رفع مشکلات مربوط به استفاده مستقیم آن در تغذیه دام، اخیراً یک منبع پروتئینی جدید به نام پروتائومیکس با استفاده از دو پسماند خیساب ذرت و ضایعات کشمش تولید شده است^۱. پروتائومیکس پودری قهوه‌ای رنگ بوده و از واکنش بین مایع خیساب ذرت و تانن‌های استخراج شده از ضایعات کشمش، جداسازی رسوب ناشی از باند شدن ترکیبات واکنش‌پذیر با تانن‌ها، از جمله پروتئین‌های محلول، کربوهیدرات‌ها و مواد معدنی، آگیری و نهایتاً خشک کردن رسوب شکل گرفته، حاصل می‌گردد (Azarfar *et al.*, 2020b). بنابراین هدف از تحقیق حاضر، ارزیابی آزمایشگاهی و تعیین ارزش غذایی پروتائومیکس، برآورد میزان پروتئین محافظت شده آن در مقابل تجزیه شکمبه‌ای و مقایسه آن به‌عنوان یک منبع پروتئینی جدید با کنجاله سویا است.

مواد و روش‌ها

استخراج تانن

برای تهیه عصاره تاننی مورد نیاز، فقط از پوش کشمش یعنی ساقه‌های خشک‌شده خوشه انگور موجود در ضایعات کارخانه‌های کشمش، استفاده گردید. پوش کشمش توسط آسیاب چکشی در ۳ مرحله و به ترتیب با استفاده از الک‌های با منافذ ۶، ۴ و ۲ میلی‌متر آسیاب شد. استخراج عصاره تاننی با استفاده از آب به‌عنوان حلال به مقدار ۱۵ برابر وزن پوش کشمش، و حرارت دادن در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد، به مدت ۲۴ ساعت، توسط یک دستگاه میکسر مجهز به هیتر و ترموستات انجام گرفت. پس از انجام مرحله صاف کردن، مرحله استخراج تانن برای بار دوم ولی به مدت ۸ ساعت، روی تفاله باقی مانده تکرار شد (Azarfar *et al.*, 2020a).

تولید پروتئانومیکس

به‌منظور به‌دست‌آوردن پروتئانومیکس از روش Azarfar *et al.* (2020b) استفاده شد. برای این منظور، عصاره تاننی پوش کشمش به همان شکل رقیق استخراج‌شده (ماده خشک تقریبی ۲/۵ درصد)، به نسبت ۴ به ۱، به خیساب ذرت اضافه شد. پس از انجام واکنش بین تانن و ترکیبات واکنش‌پذیر با آن، مخلوط حاصل به دو فاز جداگانه، یعنی ترکیبات باند شده با تانن، به شکل غیر محلول یعنی رسوب شده در قسمت زیرین، و ترکیبات باند نشده با تانن، به شکل محلول و روشناور تبدیل گردید. سپس محلول روشناور جدا شد و به‌منظور خالص‌سازی بیشتر بخش باند‌شده، فاز زیرین در کیسه‌های تترونی به مدت ۱۲ ساعت آگیری شده و در مجاورت هوا خشک و آسیاب گردید.

ارزشیابی پروتئین با استفاده از سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص گرنل (CNCPS)^۱

برای اندازه‌گیری بخش‌های مختلف پروتئین ابتدا نمونه مورد آزمایش با استفاده از آسیاب دارای الک ۰/۵ میلی متری آسیاب شد و برای هر نمونه ۳ تکرار در نظر گرفته شد. برای تعیین نیتروژن غیرپروتئینی (Non Protein Nitrogen) یا همان بخش A و رسوب‌دهی آن، از تانگستیک اسید استفاده شد. از آنجایی که نیتروژن غیرپروتئینی توسط محلول اسید تانگستیک شسته شده و در فاز مایع وارد می‌شود، این بخش از اختلاف کل نیتروژن به‌صورت پروتئین خام و میزان نیتروژن رسوب کرده به‌صورت پروتئین حقیقی محاسبه شد. تعیین مقدار پروتئین محلول (بخش‌های A و B1) با استفاده از بافر بورات فسفات انجام گرفت. پروتئین محلول با کسر کردن میزان پروتئین نامحلول در بافر، از کل پروتئین خام محاسبه شد و پروتئین حقیقی محلول (بخش B1) از کم کردن بخش نیتروژن غیر پروتئینی، از نیتروژن محلول در بافر (Buffer Soluble Nitrogen) برآورد گردید. برای تخمین مقادیر بخش B3 و C از تعیین نیتروژن نامحلول در شوینده خنثی (Neutral Detergent

(Insoluble Nitrogen)، و نیتروژن نامحلول در شوینده اسیدی (Acid Detergent Insoluble Nitrogen) استفاده شد. نیتروژن نامحلول در شوینده اسیدی به‌عنوان بخش C و تفاوت بین نیتروژن نامحلول در شوینده خنثی و نیتروژن نامحلول در شوینده اسیدی به‌عنوان بخش B3 در نظر گرفته شد. بخش B2 پروتئین، به روش تفاوت محاسبه گردید (Licitra *et al.*, 1996) (رابطه‌های ۱ تا ۵).

$$A = \text{NPN} \quad (1)$$

$$B1 = \text{BSN} - \text{NPN} \quad (2)$$

$$B3 = \text{NDIN} - \text{ADIN} \quad (3)$$

$$C = \text{ADIN} \quad (4)$$

$$B2 = \text{CP} - (A + B1 + B3 + C) \quad (5)$$

در روابط بالا بخش A، نیتروژن غیر پروتئینی؛ B1، پروتئین حقیقی با تجزیه‌پذیری سریع؛ B2، پروتئین حقیقی با تجزیه‌پذیری متوسط؛ B3، پروتئین حقیقی با تجزیه‌پذیری کند؛ C، پروتئین حقیقی غیر قابل تجزیه؛ BSN، نیتروژن محلول در بافر؛ CP، پروتئین خام؛ NDIN، نیتروژن نامحلول در شوینده خنثی و ADIN، نیتروژن نامحلول در شوینده اسیدی است.

اندازه‌گیری تانن و آنالیز شیمیایی نمونه‌ها

کل ترکیبات فنلی با استفاده از معرف فولین شیکالتنو اندازه‌گیری شد. ترکیبات فنلی، پس از جذب تانن‌ها توسط پلی‌وینیل‌پلی‌پیرولیدون نامحلول، تعیین شد و تانن کل، از کسر ترکیبات فنلی غیر تاننی از کل ترکیبات فنلی محاسبه گردید (Makkar, 2000).

محتوای ماده خشک جیره‌ها با خشک نمودن در آون به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۳ درجه سانتی‌گراد، خاکستر خام با سوزاندن در کوره الکتریکی به مدت سه ساعت در دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد، پروتئین خام با روش کج‌لدال و عصاره اتری توسط دستگاه سوکسله تعیین شدند، کربوهیدرات‌های غیر فیبری (Non Fibre Carbohydrates) با استفاده از رابطه (۶) محاسبه شد (AOAC, 1990).

$$\text{NFC} = 100 - (\text{NDF} + \text{CP} + \text{Ash} + \text{EE}) \quad (6)$$

در این رابطه NDF، فیبر نامحلول در شوینده

که طبق جداول احتیاجات غذایی نشخوارکنندگان کوچک (NRC, 2007) تنظیم شده و در دو وعده صبح و عصر، در سطح نگهداری در اختیار دامها قرار گرفت. در این مطالعه دو آزمون تولید گاز برون تنی به طور همزمان انجام گرفت. آزمایش اول شامل دو تیمار کنجاله سویا به عنوان شاهد و محصول پروتئینی تولید شده به نام پروتائومیکس بود. آزمایش دوم شامل شش تیمار بود که در آنها کنجاله سویا در ترکیب جیره های آزمایشی در سطوح ۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، و ۱۰۰ درصد توسط پروتائومیکس جایگزین گردید. جدول ۱ ترکیب جیره های غذایی استفاده شده در آزمون دوم تولید گاز را نشان می دهد که پس از انجام آزمایش-های لازم روی محصول پروتائومیکس، طبق جداول احتیاجات غذایی نشخوارکنندگان کوچک (NRC, 2007) تنظیم شد.

خنثی؛ CP، پروتئین خام؛ Ash، خاکستر و EE، عصاره اتری است.

الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) به روش ون سوست (Van Soest *et al.*, 1991) تعیین گردید.

دامها و تیمارهای آزمایشی

به منظور انجام آزمون تولید گاز، از دو رأس گوسفند نر نژاد لری، فیستولاگذاری شده با میانگین وزن $55 \pm 5/5$ کیلوگرم به عنوان دهنده مایع شکمبه استفاده شد. ترکیب جیره غذایی برای تغذیه دامهای فیستولا شده شامل ۱۲ درصد یونجه، ۵۴ درصد کاه گندم، ۷ درصد سبوس گندم، ۸ درصد دانه جو، ۱۷ درصد تفالو چغندر به همراه ملاس، ۱ درصد مکمل معدنی و ویتامینی، ۰/۵ درصد نمک و ۰/۵ درصد آنزیمیت بود

جدول ۱. اجزا و ترکیب شیمیایی جیره های آزمایشی برای انکوباسیون آزمایشگاهی (بر اساس درصد ماده خشک یا واحد گزارش شده)

Ingredients	Experimental diets contained with different levels of <i>protanomix</i> ¹					
	Control ¹	20 % <i>protanomix</i>	40 % <i>protanomix</i>	60 % <i>protanomix</i>	80 % <i>protanomix</i>	100 % <i>protanomix</i>
Alfalfa hay	25	25	25	25	25	25
Wheat straw	10	10	10	10	10	10
Barley grain	21	21	21	21	21	21
Corn grain	21	21	21	21	21	21
Wheat bran	9.75	9.75	9.75	9.75	9.75	9.75
Soybean meal (Solvent 44% CP)	10	8	6	4	2	0
<i>Protanomix</i> ²	0	2	4	6	8	10
Vitamin-mineral premix ³	3.25	3.25	3.25	3.25	3.25	3.25
Chemical composition*						
Dry matter	89.2	89.2	89.3	89.3	89.3	89.3
Organic matter	91.95	91.93	91.90	91.88	91.85	91.83
Crude protein	15.04	15.05	15.06	15.07	15.08	15.10
Neutral detergent fibre	33.27	33.32	33.37	33.42	33.48	33.53
Acid detergent fibre	18.77	18.89	19.01	19.13	19.25	19.37
ME ⁴ (Mcal/Kg DM)	2.53	2.53	2.53	2.53	2.54	2.55

۱. تیمار شاهد بر اساس کنجاله سویا بالاتس شده و در دیگر تیمارها، به ترتیب ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، و ۱۰۰ درصد کنجاله سویا با پروتائومیکس جایگزین شده است.

۲. یک منبع حاوی پروتئین عبوری بالا (شماره ثبت: ۱۰۳۰۰۴؛ تاریخ: ۲۹-۱۱-۲۰۲۰).

۳. هر کیلوگرم مکمل مواد معدنی - ویتامینی شامل ویتامین A، ۱۰۰۰۰۰ واحد بین المللی؛ ویتامین D3، ۴۰۰۰۰ واحد بین المللی؛ ویتامین E، ۱۰۰۰ واحد بین المللی؛ آنتی اکسیدان، ۱ گرم؛ کلسیم، ۱۴۶ گرم؛ فسفر، ۵ گرم؛ منیزیم، ۲۰ گرم؛ گوگرد، ۴ گرم؛ منگنز، ۸۰۰ میلی گرم؛ روی، ۸۰۰ میلی گرم؛ مس، ۱۰۰ میلی گرم؛ سلنیوم، ۲۰ میلی گرم؛ آهن، ۴۰۰ میلی گرم؛ کبالت، ۲۰ میلی گرم؛ و ید، ۲۰ میلی گرم بود. ۳- انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری بر کیلوگرم ماده خشک)

1. Control treatment is balanced on the basis of soybean meal, and in the other treatments soybean meal is replaced by *Protanomix* at the levels of 20, 40, 60, 80 and 100%, respectively.

2. A source of high bypass protein (Patent No: 103004; Date: 2020-11-29).

3. Contained (per kg): Vitamin A, 100000 IU; Vitamin D3, 40000 IU; Vitamin E, 1000 IU; Antioxidant, 1 g; Ca, 146 g; P, 5 g; Mg, 20 g; S, 4 g; Mn, 800 mg; Zn, 800 mg; Cu, 100 mg; Se, 20 mg; Fe, 400 mg; Co, 20 mg and I, 20 mg. 4- Metabolizable energy

* ترکیب شیمیایی در پروتائومیکس و جیره های شاهد، بر مبنای آنالیز آزمایشگاهی بوده و در سایر تیمارها بر اساس آنالیز آزمایشگاهی محاسبه شده است.

* Chemical composition in *Protanomix* and control diets are on the basis of laboratory analyses and in the other treatments have been calculated based on laboratory analyses.

آزمون تولید گاز برون تنی

هر دو آزمایش تولید گاز در سه دوره مجزا انجام شد و در هر دوره کارهای زیر انجام گرفت؛ شیرابه شکمه اخذ شده، در یک فلاسک عایق در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد سریعاً به آزمایشگاه منتقل شد و سپس توسط چهار لایه پارچه متقال صاف گردید. به ازای هر تیمار آزمایشی تعداد هفت تکرار (ویال) در نظر گرفته شد. از نمونه‌های مورد آزمایش با اندازه ذرات ۱ میلی‌متر، مقدار ۲۵۰ میلی‌گرم برحسب ماده خشک به ویال‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری انتقال داده شد، سپس هر ویال با میزان ۵ میلی‌لیتر مایع شکمه و ۲۰ میلی‌لیتر بزاق مصنوعی تلقیح گردید. پس از بی‌هوازی کردن فضای داخل ویال‌ها توسط دمیدن گاز دی‌اکسیدکربن، درب آن‌ها پرس شده و ویال‌ها در دستگاه بن‌ماری با دمای ۳۹ درجه سلسیوس انکوبه شدند (Marten & Barnes, 1980). گاز تولیدی هر ویال توسط فشارسنج دیجیتالی در زمان‌های صفر، دو، چهار، شش، ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از انکوباسیون اندازه‌گیری شد. تعداد ۳ ویال که تنها حاوی مایع شکمه و بزاق مصنوعی بودند به‌عنوان بلانک در نظر گرفته شدند. داده‌های حاصل از فشار گاز هر ویال با استفاده از قانون گاز بویل، به حجم تبدیل شد. حجم خالص تولید گاز هر ویال در هر زمان از تفاضل گاز تولید شده هر ویال، از میانگین گاز تولیدی ویال‌های بلانک محاسبه گردید. برای تعیین فراسنجه‌های تولید گاز از معادله $P = b(1 - e^{-ct})$ استفاده شد (Orskov & McDonald, 1979). در معادله مذکور P ، میزان گاز تولیدی در زمان مورد نظر (برحسب میلی‌لیتر)؛ b ، گاز تولیدی از بخش تخمیرپذیر (برحسب میلی‌لیتر)؛ c ، نرخ تأخیر (برحسب ساعت)؛ e ، ثابت نپر (۲/۷۲)؛ t ، زمان تولید گاز (برحسب میلی‌لیتر در ساعت)؛ و t ، زمان انکوباسیون (برحسب ساعت) می‌باشد.

تعیین فراسنجه‌های تخمیر

به‌منظور تعیین فراسنجه‌های تخمیر به‌صورت زیر عمل شد. ۱۶ ساعت پس از انکوباسیون، تعداد ۳ ویال از ۷ ویال هر تیمار آزمایشی از روند انکوباسیون خارج گردید. اسیدیته محتویات این ویال‌ها توسط دستگاه pH متر (مدل ۷۴۴، شرکت Metrohm سوئیس) ثبت

شد. سپس محتویات هر ویال به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و بخش زیرین محتویات هر ویال به‌منظور تعیین تجزیه‌پذیری حقیقی ماده خشک جداسازی و سپس خشک گردید. در مرحله بعد، مقدار ۵ میلی‌لیتر از نمونه‌های محلول روشناور، بلافاصله با یک میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال مخلوط شد و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید تا نیتروژن آمونیاکی نمونه‌ها با استفاده از روش فنول هیپوکلریت اندازه‌گیری شوند (Broderick & kang, 1980). به‌منظور تعیین تجزیه‌پذیری حقیقی ماده خشک، ابتدا بخش زیرین محتویات هر ویال در کیسه‌های پلی-پروپیلنی سه لایه (Spunbond) که قبلاً توزین شده بودند، پلمپ شد، سپس به‌منظور حذف بقایای میکروبی باقیمانده روی سطوح ذرات غذایی، کیسه‌ها به مدت ۲ ساعت در محلول شوینده خنثی جوشانده شدند و پس از شست‌وشو با آب مقطر و خشک نمودن در آون، وزن خشک نمونه‌ها ثبت گردید. تجزیه‌پذیری حقیقی ماده خشک به‌صورت آزمایشگاهی (*in vitro* Organic Matter Appearance Digestibility)، ضریب تفکیک (Partitioning Factor)، تولید پروتئین میکروبی (Microbial Protein Synthesis) و بازده تولید پروتئین میکروبی (Efficiency of Microbial Protein Synthesis) با استفاده از رابطه‌های (۷) تا (۱۰) محاسبه شد (Blümmel *et al.*, 1977).

$$IVTDDM(\%) = \frac{A(\text{mg}) - B(\text{mg})}{A(\text{mg})} \times 100 \quad (7)$$

$$PF(\text{mg/ml}) = \frac{IVTDDM(\text{mg})}{GP(\text{ml})} \quad (8)$$

$$MPS(\text{mg}) = \quad (9)$$

$$IVTDDM(\text{mg}) - [GP(\text{ml}) \times 2.2(\text{mg/ml})]$$

$$EMPS(\%) = \frac{MPS(\text{mg})}{IVTDDM(\text{mg})} \times 100 \quad (10)$$

که $IVTDDM$ ، تجزیه‌پذیری حقیقی ماده خشک به‌صورت آزمایشگاهی؛ A ، مقدار ماده خشک انکوبه شده؛ B ، مقدار ماده خشک باقیمانده پس از جوشاندن در محلول شوینده خنثی؛ PF ، ضریب تفکیک؛ GP ، حجم گاز تولید شده پس از ۱۶ ساعت انکوباسیون؛ MPS ، تولید پروتئین میکروبی و $EMPS$ بازده تولید پروتئین میکروبی است.

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

در این معادله، Y_{ij} : مقدار عددی هر مشاهده، μ : میانگین کل، T_i : اثر تیمار i ام، و e_{ij} : اثر خطای آزمایش می‌باشد.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی پروتانومیکس

جدول ۲ مقدار انرژی قابل متابولیسم، محتوای کلسیم و فسفر، درصد ماده خشک و نتایج آنالیز تقریبی محصول پروتانومیکس را نشان می‌دهد.

پروتانومیکس به‌عنوان یک منبع پروتئینی در تغذیه نشخوارکنندگان، از ایجاد واکنش بین تانن‌های استخراج شده از ضایعات کشمش با مایع خیساب ذرت، و جداسازی رسوب حاصله به‌دست می‌آید. روش حاضر در کارخانه‌های تولید نشاسته و قبل از تغلیظ مایع خیساب ذرت انجام شده و بخش واکنش‌پذیر با تانن جدا گردیده و خشک می‌شود. این فرآیند منجر به رسوب تقریباً ۲۰ درصد از ماده خشک خیساب ذرت شده و بخش باند نشده با تانن که حدود ۸۰ درصد از ماده خشک خیساب ذرت شرکت کننده در واکنش را شامل می‌شود، دور ریختنی نبوده و مشکلات زیست محیطی هم به دنبال نخواهد داشت و پس از تغلیظ با حرارت در تغذیه دام کاربرد دارد. تولید پروتانومیکس در مقیاس صنعتی قابل انجام بوده و حتی با دخالت در pH واکنش، بازده کار حدود ۱۰۰ درصد افزایش یافته (تولید فسفو پروتانومیکس) و منجر به رسوب تقریبی ۴۰ درصد از ماده خشک خیساب ذرت می‌گردد (Azarfar et al., 2020b). تاکنون مطالعه مشابهی به‌منظور مقایسه با داده‌های جدول ۲ گزارش نشده است.

برای محاسبه انرژی قابل متابولیسم (Metabolizable Energy)، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (Short Chain Fatty Acids) و قابلیت هضم ظاهری ماده آلی (In vitro Organic Matter Appearance Digestibility) رابطه‌های (۱۱)، (۱۲) و (۱۳) استفاده شد که در این معادله‌ها میزان تولید گاز، برای ۲۰۰ میلی گرم سوبسترا پس از ۱۶ ساعت انکوباسیون تصحیح گردید (Menke & Steingass, 1988).

$$ME \left(\frac{Mj}{KgDM} \right) = 1.06 + (0.157 \times GP) + (0.084 \times CP) + (0.22 \times EE) - (0.081 \times Ash) \quad (11)$$

$$SCFA \left(\frac{mmol}{200mgDM} \right) = (0.0222 \times GP) - 0.00425 \quad (12)$$

$$IVOMAD(\%) = 9 + (0.9991 \times GP) + (0.595 \times CP) + (0.181 \times Ash) \quad (13)$$

که ME، انرژی قابل متابولیسم برحسب مگاژول در کیلوگرم ماده خشک؛ GP، گاز خالص تولیدی برای ۲۰۰ میلی‌گرم سوبسترا پس از ۱۶ ساعت انکوباسیون؛ CP، پروتئین خام برحسب گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک؛ EE، چربی خام برحسب گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک؛ Ash، خاکستر خام برحسب گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک؛ SCFA، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر برحسب میلی‌مول بر ۲۰۰ گرم ماده خشک؛ IVOMAD، قابلیت هضم ظاهری آزمایشگاهی ماده آلی برحسب درصد می‌باشد.

آنالیز آماری داده‌ها

داده‌های به‌دست‌آمده از این آزمایش با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS (9.2) و مدل آماری طرح کاملاً تصادفی متعادل به شرح زیر مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند:

جدول ۲. ترکیب شیمیایی پروتانومیکس بر اساس ماده خشک یا واحد گزارش شده

Table 2. Chemical composition of Protanomix on basis of dry matter or as stated

DM ¹	ME (Mcal/kg DM) ²	CP ³	NDF ⁴	ADF ⁵	EE ⁶	Ash	NFC ⁷	Ca	P
97.38	3.13	45.61	6	2.6	5.85	7.82	34.72	0.88	0.47

۱- ماده خشک، ۲- انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری بر کیلوگرم ماده خشک)، ۳- پروتئین خام، ۴- فیبر نامحلول در شوینده خنثی، ۵- فیبر نامحلول در شوینده اسیدی، ۶- عصاره اتری، ۷- کربوهیدرات‌های غیر فیبری

1- Dry matter, 2- Metabolizable energy, 3- Crude protein, 4- Neutral detergent fiber, 5- Acid detergent fiber, 6- Ether extract, 7- Non-fiber carbohydrate.

محلول پروتئومیکس ۱۸/۸۵ درصد و سهم پروتئین نامحلول آن، ۸۱/۱۵ درصد از پروتئین خام است. به دلیل این که پودر پروتئومیکس از جمع‌آوری رسوب ناشی از واکنش تانن با مایع خیساب ذرت شکل می‌گیرد، ماهیت آن طوری است که با قرار گرفتن در مجاورت آب، تشکیل ترکیبی به حالت سوسپانسیون داده که قابلیت عبور از منافذ کیسه‌های داکرونی را خواهد داشت، پس ارزیابی محصول حاضر با روش‌های مبتنی بر کیسه‌های داکرونی نمی‌تواند به پاسخ صحیح منجر شود؛ لذا در این آزمایش برای تخمین قابلیت هضم روده‌ای پروتئومیکس به استفاده از روش CNCPS اکتفا گردید. بر اساس سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل، میزان عبور پروتئین‌ها از شکمبه به قسمت‌های پایینی دستگاه گوارش قابل تخمین است (Sniffen *et al.*, 1992). طبق نتایج به دست آمده، بیش از ۸۰ درصد پروتئین خام محصول پروتئومیکس به‌صورت نامحلول بوده که قسمت اعظم آن قابلیت عبور از شکمبه را خواهد داشت؛ این در حالی است که سهم پروتئین نامحلول، از کل پروتئین خام در خیساب ذرت، به‌عنوان ماده اولیه تولید پروتئومیکس، ۱۳/۱ درصد می‌باشد (Azizi *et al.*, 2016). افزایش ۶۸/۰۵ درصدی پروتئین نامحلول پروتئومیکس نشان می‌دهد که فرآیند تولید این محصول تجاری به‌منظور عبوری نمودن پروتئین خام خیساب ذرت، در نتیجه واکنش با تانن‌های استخراج شده از ضایعات کشمش، تا حد زیادی موفقیت‌آمیز بوده است. در تأیید نتایج این مطالعه، نشان داده شده است که فرآوری کنجاله‌ها با استفاده از ترکیبات تانن‌دار، می‌تواند موجب افزایش بخش عبوری قابل هضم پروتئین آنها در روده شود (Vahdani *et al.*, 2016).

با این حال، همانطور که در این جدول ذکر شده است مقدار پروتئین خام پروتئومیکس برحسب ماده خشک ۴۵/۶۱ درصد بوده و میزان انرژی قابل متابولیسم محاسبه‌شده، بر اساس معادلات NRC، برای این محصول ۳/۱۳ مگا کالری در کیلوگرم ماده خشک می‌باشد. مقایسه این دو ویژگی پروتئومیکس با کنجاله سویا بیانگر شباهت بسیار نزدیک این دو منبع پروتئینی از لحاظ انرژی قابل متابولیسم و محتوای پروتئین خام است؛ مقدار پروتئین خام کنجاله سویا ۴۹ درصد برحسب ماده خشک و میزان انرژی قابل متابولیسم آن ۳/۱۰ مگا کالری در کیلوگرم ماده خشک گزارش شده است (NRC, 2007). با وجود این موضوع و با توجه به اطلاعات موجود در مورد کنجاله سویا (NRC, 2007)، محصول پروتئومیکس در مقایسه با آن دارای NDF کمتر (۶ در مقابل ۱۵ درصد)؛ ADF کمتر (۲/۶ در مقابل ۱۰ درصد)؛ چربی خام بیشتر (۵/۸۵ در مقابل ۱/۶ درصد)؛ خاکستر بیشتر (۷/۸۲ در مقابل ۷ درصد)؛ کربوهیدرات‌های غیر فیبری بیشتر (۳۴/۷۲ در مقابل ۲۷/۴ درصد)؛ کلسیم بیشتر (۰/۸۸ در مقابل ۰/۳۸ درصد) و محتوای فسفر کمتری (۰/۴۷ در مقابل ۰/۷۱ درصد) می‌باشد.

آنالیز پروتئین پروتئومیکس به روش CNCPS

جدول ۳ بخش‌های تشکیل‌دهنده پروتئین خام پروتئومیکس را به روش CNCPS (سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل) نشان می‌دهد. همانطور که در این جدول گزارش شده است مقدار ۱۳/۱۲ درصد از پروتئین خام پروتئومیکس در بخش A، ۵/۷۳ درصد در بخش B1، ۶۱/۹۹ درصد در بخش B2، ۵/۱۸ درصد در بخش B3 و ۱۳/۹۸ درصد در بخش C واقع شده است و در مجموع مقدار پروتئین

جدول ۳. بخش‌های پروتئین پروتئومیکس به روش سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل

Table 3. Protein fractions of *Protanomis* by cornel net carbohydrate and protein system

Protein source	CP ¹ (%DM) ⁷	A ² (%CP)	B1 ³ (%CP)	B2 ⁴ (%CP)	B3 ⁵ (%CP)	C ⁶ (%CP)	Soluble Protein (%CP)	Insoluble Protein (%CP)
<i>Protanomis</i>	45.61	13.12	5.73	61.99	5.18	13.98	18.85	81.15

۱- پروتئین خام، ۲- نیتروژن غیر پروتئینی، ۳- پروتئین حقیقی با تجزیه‌پذیری سریع، ۴- پروتئین حقیقی با تجزیه‌پذیری متوسط، ۵- پروتئین حقیقی با تجزیه‌پذیری کند، ۶- پروتئین حقیقی غیر قابل تجزیه، ۷- ماده خشک.

1- Crude protein, 2- Non-protein nitrogen, 3- Rapidly degraded true protein, 4- Moderately degraded true protein, 5- Slowly degraded true protein, 6- Undegraded true protein, 7- Dry matter.

قابلیت تولید گاز آزمایشگاهی، در تیمار پروتانومیکس به طور معنی داری از تیمار شاهد (کنجاله سویا) کمتر است ($P < 0.001$)؛ با این حال، جایگزینی سطوح مختلف پروتانومیکس با کنجاله سویا در جیره های آزمایشی در جدول ۵ منجر به تغییر معنی داری در فراسنجه های تولید گاز نشده است ($P > 0.05$).

ترکیب شیمیایی هر خوراک یا جیره غذایی، مهم ترین عامل تعیین کننده در میزان گاز تولیدی و فراسنجه های تولید گاز می باشد. تولید گاز حاصل از تخمیر پروتئین ها در مقایسه با کربوهیدرات ها نسبتا اندک است (Danesh Mesgaran *et al.*, 2009)، لذا طی انکوباسیون آزمایشگاهی منابع حاوی سطوح بالای پروتئین، همچون کنجاله سویا و پروتانومیکس، همه فراسنجه های محاسباتی وابسته به تولید گاز تحت تأثیر قرار می گیرد.

همچنین گزارش شده که قابلیت هضم پس از شکمبه ای کنجاله سویا با افزودن تانن های تفاله انگور، افزایش می یابد (Alipour & Rouzbehan, 2007). طبق اطلاعات موجود، قابلیت هضم روده ای آمینواسیدها برای بخش های B1 و B2، ۱۰۰ درصد و برای بخش B3، ۸۰ درصد لحاظ می گردد (Sniffen *et al.*, 1992).

فراسنجه های تولید گاز

فراسنجه های تولید گاز آزمایشگاهی تحت تاثیر تیمارهای کنجاله سویا و پروتانومیکس در جدول ۴ و تحت تاثیر جایگزینی کنجاله سویا با پروتانومیکس در جیره های آزمایشی، در جدول ۵ نشان داده شده است. همانطور که در جدول ۴ مشاهده می شود، صرف نظر از نرخ تولید گاز آزمایشگاهی، مقدار تولید گاز در زمان های مختلف انکوباسیون و همچنین

جدول ۴. اثر کنجاله سویا (تیمار شاهد) و پروتانومیکس بر فراسنجه های تولید گاز آزمایشگاهی

Treatments	Gp16 ¹ (ml)	Gp24 ² (ml)	Gp48 ³ (ml)	Gp72 ⁴ (ml)	GP96 ⁵ (ml)	b ⁶ (ml)	c ⁷ (ml/h)
soybean meal (control)	27.60	34.72	39.91	43.96	47.57	44.28	0.072
<i>Protanomix</i>	20.85	24.52	27.53	28.66	30.68	28.74	0.110
SEM ⁸	1.000	1.113	0.946	0.712	1.053	0.721	0.0115
<i>p-value</i> ⁹	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0332

۱، ۲، ۳، ۴ و ۵- حجم گاز تولیدی به ترتیب برای ۱۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت انکوباسیون (میلی لیتر) ۶- قابلیت تولید گاز (میلی لیتر) ۷- نرخ تولید گاز (میلی لیتر بر ساعت) ۸- خطای استاندارد میانگین ها ۹- میانگین ها در هر ستون با حروف مشابه، دارای اختلاف معنی داری نمی باشد ($P > 0.05$).

1, 2, 3, 4, 5- *In vitro* gas production values for 16, 24, 48, 72 and 96 hours incubation respectively (ml) 6- Potential of gas production (ml) 7- Gas production rate (ml/h) 8- Standard error of means 9- Means within a column with same superscript letters are not significantly different ($p > 0.05$).

جدول ۵. آثار گنجاندن سطوح مختلف پروتانومیکس به جای کنجاله سویا در جیره های آزمایشی، بر فراسنجه های تولید گاز آزمایشگاهی

Treatments	Gp16 ¹ (ml)	Gp24 ² (ml)	Gp48 ³ (ml)	Gp72 ⁴ (ml)	GP96 ⁵ (ml)	b ⁶ (ml)	c ⁷ (ml/h)
0 % <i>Protanomix</i> (control) ⁸	35.87	40.78	45.74	48.64	48.78	48.10	0.091
20 % <i>Protanomix</i> ⁹	35.62	40.74	45.90	48.56	48.64	48.04	0.089
40 % <i>Protanomix</i> ¹⁰	34.04	39.54	44.41	47.16	47.47	46.85	0.087
60 % <i>Protanomix</i> ¹¹	32.97	38.27	43.27	45.94	46.25	45.88	0.088
80 % <i>Protanomix</i> ¹²	33.24	38.96	44.27	47.12	47.32	46.94	0.084
100 % <i>Protanomix</i> ¹³	33.26	38.78	43.78	46.48	46.66	45.74	0.089
SEM ¹⁴	2.083	1.904	1.765	1.159	1.197	1.100	0.0081
<i>p-value</i> ¹⁵	0.8641	0.9092	0.8764	0.4948	0.6033	0.5245	0.9954

۱، ۲، ۳، ۴ و ۵- حجم گاز تولیدی به ترتیب برای ۱۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت انکوباسیون (میلی لیتر) ۶- قابلیت تولید گاز (میلی لیتر) ۷- نرخ تولید گاز (میلی لیتر بر ساعت) ۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲ و ۱۳- تیمار شاهد بر اساس کنجاله سویا بالانس شده و در دیگر تیمارها، به ترتیب ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد کنجاله سویا با پروتانومیکس جایگزین شده است ۱۴- خطای استاندارد میانگین ها ۱۵- میانگین ها در هر ستون با حروف مشابه، دارای اختلاف معنی داری نمی باشد ($P > 0.05$).

1, 2, 3, 4, 5- *In vitro* gas production values for 16, 24, 48, 72 and 96 hours incubation respectively (ml) 6- Potential of gas production (ml) 7- Gas production rate (ml/h) 8,9,10,11,12 & 13- Control treatment is balanced on the basis of soybean meal; in the other treatments soybean meal is replaced by *Protanomix* in the levels of 20, 40, 60, 80 and 100%, respectively 14- Standard error of means 15- Means within a column with same superscript letters are not significantly different ($p > 0.05$).

کنجاله سویا توسط پروتانومیکس در جیره‌های آزمایشی نتوانسته است منجر به بروز اختلاف معنی‌داری در این رابطه شود ($P > 0.05$). به نظر می‌رسد علت بالاتر بودن نرخ تولید گاز پروتانومیکس در مقایسه با کنجاله سویا، به تفاوت در ترکیب شیمیایی و به‌ویژه اختلاف زیاد در محتوای NDF این دو منبع پروتئینی مربوط باشد. طبق آنالیز انجام شده، محتوای NDF پروتانومیکس برابر با ۶ درصد بر حسب ماده خشک بوده، در صورتی که این عدد برای کنجاله سویا، ۱۵ درصد گزارش شده است (NRC, 2007). در تأیید این نتایج، جایگزینی برگ گیاه ابریشم به جای علوفه یونجه به دلیل کاهش سطوح NDF، منجر به افزایش نرخ تولید گاز آزمایشگاهی شده است (Khoramzadeh *et al.*, 2016). در مطالعه دیگری همسو با مطالعه حاضر، افزایش نرخ تولید گاز آزمایشگاهی به دلیل کاهش محتوای NDF تیمارهای آزمایشی و در نتیجه افزایش شکسته شدن پیوندهای همی سلولزی تحت تأثیر باکتری‌های سلولاییتیک گزارش شده است (Gatachew *et al.*, 2001).

فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای

جدول ۶ آثار کنجاله سویا و پروتانومیکس را بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای و جدول ۷ آثار گنجاندن سطوح مختلف پروتانومیکس به جای کنجاله سویا در جیره‌های آزمایشی را بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای نشان می‌دهد.

مطالعات متعددی کاهش تولید گاز را در پی استفاده از مواد خوراکی حاوی تانن گزارش نموده‌اند. در تأیید نتایج این مطالعه نشان داده شده است که اسپرس عمل‌آوری شده با محلول اوره به‌منظور کاهش اثر تانن، در مقایسه با اسپرس عمل‌آوری نشده، دارای پتانسیل تولید گاز بالاتری بوده است (Chaji *et al.*, 2015). مشابه این مطالعه، در پژوهش دیگری افزودن پلی‌اتیلن گلیکول به پسماند کشمش به‌منظور کاهش آثار تانن، منجر به افزایش تولید گاز و فراسنجه‌های وابسته به آن گردیده است. (Alipour & Rouzbeha., 2007). چون مشخص شده که توانایی کاهش میزان گاز تولیدی در استفاده از مواد حاوی تانن‌های متراکم به مهار فعالیت میکروفلور شکمبه یا باند شدن تانن‌ها با مواد مغذی خوراک، مخصوصاً پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و مواد معدنی، برمی‌گردد؛ لذا به نظر می‌رسد مقدار گاز تولیدی پایین پروتانومیکس به دلیل این که محصول حاضر یک ترکیب باند شده بوده و از رسوب ناشی از واکنش تانن با پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و مواد معدنی حاصل می‌گردد، با عنایت به اثر منفی تانن، علی‌الخصوص تانن‌های متراکم ضایعات کشمش بر هضم میکروبی، طبیعی به نظر رسیده و با فرض اولیه این آزمایش مبنی بر تولید یک محصول محافظت‌شده از تجزیه شکمبه‌ای، منطبق است. طبق گزارش موجود در جدول ۴ نرخ تولید گاز آزمایشگاهی در پروتانومیکس به‌طور معنی‌داری از کنجاله سویا بالاتر است ($P < 0.05$)، اما با وجود این اختلاف، طبق جدول ۵ جایگزینی سطوح مختلف

جدول ۶. آثار کنجاله سویا و پروتانومیکس بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای
Table 6. Effects of soybean meal (control) and *Protanomix* on ruminal fermentation parameters

Treatments	ME ¹ (Mcal/Kg)	SCFA ² (mmol/200mgDM)	IVOMAD ³ (%)	IVTDDM ⁴ (%)	PF ⁵ (mg/ml)	MPS ⁶ (mg)	EMPS ⁷ (%)	N-NH ₃ ⁸ (mg/dl)	pH
Soybean meal (control)	2.01	0.486	61.49	85.33	7.90	153.14	71.72	19.75	6.84
<i>Protanomix</i>	1.94	0.366	54.22	85.78	10/54	168.82	78.68	16.62	6.87
SEM ⁹	0.030	0.0178	0.779	1.892	0.459	4.753	1.158	0.725	0.057
p-value ¹⁰	0.0813	<0.0001	<0.0001	0.8702	0.0009	0.0331	0.0006	0.0075	0.7851

۱- انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری بر کیلوگرم)، ۲- اسیدهای چرب فرار کوتاه زنجیر (میلی مول بر ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک)، ۳- قابلیت هضم ظاهری ماده آلی به‌صورت آزمایشگاهی (درصد)، ۴- ماده خشک تجزیه‌شده حقیقی به‌صورت آزمایشگاهی (درصد)، ۵- ضریب تفکیک (میلی گرم بر میلی لیتر)، ۶- تولید پروتئین میکروبی (میلی گرم)، ۷- بازده تولید پروتئین میکروبی (درصد)، ۸- نیتروژن آمونیاکی (میلی گرم بر دسی لیتر)، ۹- خطای استاندارد میانگین‌ها، ۱۰- میانگین‌ها در هر ستون با حروف مشابه، دارای اختلاف معنی‌داری نمی‌باشد ($P > 0.05$).

1- Metabolizable energy (Mcal/kg DM), 2- Short chain fatty acids (mmol/200mg DM), 3- *In vitro* organic matter appearance digestibility (%), 4- *In vitro* truly degraded dry matter (%), 5- Partitioning factor (mg/ml), 6- Microbial protein synthesis (mg), 7- Efficiency of microbial protein synthesis (%), 8- Ammonia nitrogen (mg/dl), 9- Standard error of means, 10- Means within a column with same superscript letters are not significantly different ($p > 0.05$).

جدول ۷. آثار گنجاندن سطوح مختلف پروتائومیکیس به جای کنجاله سویا در جیره‌های آزمایشی، بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای
Table 7. Effects of different levels of *Protanomis* inclusion in replacement for soybean meal in experimental diets on ruminal fermentation parameters

Treatments	ME ¹ (Mcal/kg)	SCFA ² (mmol/200mgDM)	IVOMAD ³ (%)	IVTDDM ⁴ (%)	PF ⁵ (mg/ml)	MPS ⁶ (mg)	EMPS ⁷ (%)	N-NH ₃ ⁸ (mg/dl)	pH
0% <i>Protanomis</i> (control) ⁹	1.62	0.633	48.08	77.78	5.72	115.95	59.61	19.05 ^a	6.36
20 % <i>Protanomis</i> ¹⁰	1.61	0.628	47.88	76.45	5.48	111.68	58.45	18.91 ^a	6.47
40 % <i>Protanomis</i> ¹¹	1.60	0.600	46.64	73.34	5.97	108.84	59.13	18.50 ^b	6.43
60 % <i>Protanomis</i> ¹²	1.54	0.581	45.79	75.12	5.82	113.46	60.52	18.41 ^b	6.48
80 % <i>Protanomis</i> ¹³	1.55	0.586	46.02	74.67	5.82	113.36	60.64	17.92 ^c	6.49
100 % <i>Protanomis</i> ¹⁴	1.56	0.586	46.04	74.23	5.67	112.10	59.96	17.71 ^c	6.49
SEM ¹⁵	0.062	0.0370	1.665	1.688	0.519	6.389	2.837	0.086	0.057
<i>p</i> -value ¹⁶	0.9283	0.8641	0.8729	0.4848	0.9915	0.9832	0.9939	<0.0001	0.5492

۱- انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری بر کیلوگرم)، ۲- اسیدهای چرب فرآر کوتاه زنجیر (میلی‌مول بر ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)، ۳- قابلیت هضم ظاهری ماده آلی به صورت آزمایشگاهی (درصد)، ۴- ماده خشک تجزیه‌شده حقیقی به صورت آزمایشگاهی (درصد)، ۵- ضریب تفکیک (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، ۶- تولید پروتئین میکروبی (میلی‌گرم) ۷- بازده تولید پروتئین میکروبی (درصد)، ۸- نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳ و ۱۴- تیمار شاهد بر اساس کنجاله سویا بالانس شده و در دیگر تیمارها، به ترتیب ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد کنجاله سویا با پروتائومیکیس جایگزین شده است، ۱۵- خطای استاندارد میانگین‌ها، ۱۶- میانگین‌ها در هر ستون با حروف مشابه، دارای اختلاف معنی‌داری نمی‌باشد ($P > 0.05$).

1- Metabolizable energy (Mcal/kg DM), 2- Short chain fatty acids (mmol/200mg DM), 3- *In vitro* organic matter appearance digestibility (%), 4- *In vitro* truly degraded dry matter (%), 5- Partitioning factor (mg/ml), 6- Microbial protein synthesis (mg), 7- Efficiency of microbial protein synthesis (%), 8- Ammonia nitrogen (mg/dl), 9,10,11,12,13 & 14- Control treatment is balanced on the basis of soybean meal; in the other treatments soybean meal is replaced by *Protanomis* at the levels of 20, 40, 60, 80 and 100%, 15- Standard error of means 16- Means within a column with same superscript letters are not significantly different ($p > 0.05$).

($P > 0.05$). مقدار انرژی قابل متابولیسم هر تیمار با استفاده از رابطه (۱۱) محاسبه شده است. در این رابطه مقدار انرژی قابل متابولیسم هر ماده خوراکی، تابع حجم گاز تولیدشده و مقدار پروتئین خام آن می‌باشد؛ به نحوی که بین مقدار انرژی قابل متابولیسم هر ماده خوراکی با حجم تولید گاز و همچنین مقدار پروتئین خام آن، رابطه مستقیم و مثبت وجود دارد. اختلاف عددی انرژی قابل متابولیسم کنجاله سویا و پروتائومیکیس به دلیل پایین‌تر بودن معنی‌دار ($p < 0.001$) گاز تولیدشده پس از ۱۶ ساعت انکوباسیون در محصول پروتائومیکیس و همچنین محتوای پروتئین خام کمتر، در این منبع پروتئینی است. حضور تانن در منابع خوراکی به علت اثر آن در مهار گازهای تخمیری، یکی از مهم‌ترین دلایل کاهش انرژی قابل متابولیسم محاسبه شده با استفاده از معادلات تست گاز می‌باشد. در تأیید این نتایج، افزایش معنی‌دار انرژی قابل متابولیسم علوفه اسپرس، طی فرآوری با محلول اوره، به منظور کاهش آثار منفی تانن، گزارش شده است (Yarahmadi et al., 2017). طبق جدول ۶ بین مقدار اسیدهای چرب فرآر

طبق گزارش‌های موجود در جدول ۶، مقایسه دو منبع پروتئینی کنجاله سویا و پروتائومیکیس صرف‌نظر از مقدار انرژی قابل متابولیسم، pH و ماده خشک تجزیه‌شده حقیقی این دو تیمار ($P > 0.05$)، در سایر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای، تفاوت‌های معنی‌داری را نشان داده‌اند. با این حال، طبق آنچه که در جدول ۷ گزارش شده است، جایگزینی سطوح مختلف پروتائومیکیس به جای کنجاله سویا در جیره‌های آزمایشی، به استثنای غلظت نیتروژن آمونیاکی ($p < 0.001$)، در هیچ‌کدام از فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای تفاوت‌های معنی‌داری مشاهده نمی‌شود ($P > 0.05$).

طبق جدول ۶، تفاوت معنی‌داری در مقدار انرژی قابل متابولیسم محاسبه‌شده برای محصول پروتائومیکیس و کنجاله سویا (تیمار شاهد) مشاهده نمی‌شود ($P > 0.05$)، اگر چه این فراسنجه در کنجاله سویا به‌طور عددی بالاتر است؛ همچنین در جایگزینی سطوح متفاوت پروتائومیکیس با کنجاله سویا در جیره‌های آزمایشی جدول ۷، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف از این لحاظ مشاهده نمی‌شود

تجزیه‌پذیری حقیقی ماده خشک کنجاله سویا و پروتئومیکس دیده نمی‌شود ($P > 0.05$)، اما قابلیت هضم ظاهری ماده آلی در کنجاله سویا به‌طور معنی‌داری بالاتر است ($P < 0.001$)؛ با این وجود طبق داده‌های جدول ۷، از نظر دو فراسنجه مذکور، اختلاف معنی‌داری بین جیره تیمار شاهد و جیره‌های دیگر در جایگزینی کنجاله سویا با سطوح مختلف پروتئومیکس وجود ندارد ($P > 0.05$). گوارش پذیری هر خوراک تابعی از ساختار فیزیکی و ترکیبات شیمیایی ماده مورد آزمایش از جمله لیگنین، کربوهیدرات‌های ساختمانی دیواره سلولی، محتوای بخش کربوهیدراتی، پروتئین‌ها و خاکستر است (Bakhshizadeh *et al.*, 2013). محاسبه قابلیت هضم ظاهری ماده آلی با استفاده از رابطه (۱۳) بیانگر این واقعیت است که بین حجم تولید گاز، مقدار پروتئین و همچنین خاکستر هر نمونه، با قابلیت هضم ظاهری آن، همبستگی مستقیم و مثبت وجود دارد. پروتئومیکس از جداسازی رسوب ناشی از واکنش بین تانن‌های ضایعات کشمش و مایع خیساب ذرت شکل می‌گیرد، بنابراین کمپلکس‌های تشکیل شده منجر به کاهش قابلیت دسترسی مواد مغذی باند شده برای میکروارگانسیم‌های شکمبه و در نتیجه کاهش تولید گاز می‌گردد، که این خود یک عامل مهم مؤثر در کاهش قابلیت هضم ظاهری ماده آلی است. مقدار پروتئین خام پایین‌تر پروتئومیکس نسبت به کنجاله سویا (۴۵/۶۱ در مقابل ۴۹/۹ درصد)، عامل دیگری است که منجر به اختلاف قابلیت هضم ظاهری ماده آلی پروتئومیکس با تیمار شاهد شده است. در واقع کاهش پروتئین خوراک یا کاهش دسترسی آن برای میکروارگانسیم‌های شکمبه، اثر منفی روی فعالیت‌های میکروبی داشته و در نتیجه باعث کاهش هضم میکروبی خواهد شد (Ndemanisho *et al.*, 2006). مشابه این مطالعه، ناپدید شدن کمتر سوبسترای انکوبه شده، همزمان با کاهش گاز تولیدی گزارش شده است (Razmazar *et al.*, 2016).

طبق جدول ۶ ضریب تفکیک محاسبه شده برای پروتئومیکس به‌طور معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد (کنجاله سویا) است ($P < 0.001$)؛ در مقابل، طبق اطلاعات جدول ۷، اختلاف معنی‌داری در ضریب تفکیک جیره تیمار شاهد با جیره‌های دیگر، در

تولید شده توسط دو منبع پروتئینی کنجاله سویا و پروتئومیکس، اختلاف وجود داشته به‌طوری که مقدار این فراسنجه در کنجاله سویا به‌طور معنی‌داری ($P < 0.001$) بالاتر است؛ با این وجود همانطور که در جدول ۷ گزارش شده است، جایگزینی سطوح مختلف کنجاله سویا توسط پروتئومیکس اختلاف معنی‌داری در مقدار اسیدهای چرب فرآر تولید شده در جیره‌های آزمایشی ایجاد نکرده است ($P > 0.05$). مقدار تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر برای هر تیمار با استفاده از رابطه (۱۲) محاسبه شده است. رابطه (۱۲) بیانگر این است که مقدار اسیدهای چرب فرآر تولید شده توسط یک ماده خوراکی ارتباط مستقیم و مثبتی با مقدار گاز تولید شده توسط هر سوبسترا پس از ۱۶ ساعت انکوباسیون دارد. طبق جدول ۴، مقدار تولید گاز بالاتر توسط کنجاله سویا پس از ۱۶ ساعت انکوباسیون در مقایسه با پروتئومیکس ($P < 0.001$) منجر به تولید اسیدهای چرب فرآر محاسبه شده بالاتری در این منبع پروتئینی نسبت به پروتئومیکس شده است. تفاوت بین پروتئومیکس و کنجاله سویا از لحاظ تولید اسیدهای چرب فرآر احتمالاً به دلیل باند شدن قابل توجه کربوهیدرات‌ها (علاوه بر پروتئین‌ها)، توسط تانن در محصول پروتئومیکس و در نتیجه کاهش دسترسی و تجزیه‌پذیری این محصول در محیط شکمبه و در نهایت تولید مقدار کمتری از اسیدهای چرب کوتاه زنجیر است. پسماند تجزیه‌پذیری کربوهیدرات‌های قابل دسترس در محیط شکمبه توسط میکروب‌ها، اسیدهای چرب فرآر بوده که به‌عنوان منبع انرژی در حیوان میزبان مورد استفاده قرار می‌گیرد (Seifdavati *et al.*, 2017). مشابه مطالعه حاضر، مشخص شده که جیره‌های حاوی خرنوب به‌عنوان یک منبع حاوی تانن، منجر به کاهش اسیدهای چرب فرآر در شکمبه شده است (Priolo *et al.*, 2000). همچنین در تأیید نتایج این مطالعه، نشان داده شده است که افزودن پلی اتیلن گلیکول به پوست انار به‌منظور کاهش اثر تانن، منجر به افزایش تولید اسیدهای چرب فرآر خواهد شد (Abarghuei *et al.*, 2014).

طبق جدول ۶، باوجود این که اختلاف معنی‌داری در

در نتیجه، حجم تولید گاز کاهش یافته است (Khoramzadeh *et al.*, 2016).

جدول ۶ نشان می‌دهد که تولید پروتئین میکروبی ($P < 0/05$) و به تبع آن بازده تولید پروتئین میکروبی ($P < 0/001$) در محصول پروتئین میکس به‌طور معنی‌داری بالاتر از کنجاله سویا است. در مقابل، داده‌های جدول ۷ بیان می‌کند که از نظر دو فراسنجه مذکور، اختلاف معنی‌داری بین جیره تیمار شاهد و جیره‌های دیگر، در جایگزینی کنجاله سویا با سطوح مختلف پروتئین میکس وجود ندارد ($P > 0/05$). مقدار تولید پروتئین میکروبی (MPS) با استفاده از رابطه (۹) محاسبه شده است. در این معادله مقدار گاز تولیدی با مقدار تولید پروتئین میکروبی رابطه مستقیم و منفی دارد؛ لذا کاهش چشمگیر مقدار گاز تولیدی پروتئین میکس منجر به افزایش قابل توجه تولید پروتئین میکروبی محاسبه شده برای پروتئین میکس در مقایسه با کنجاله سویا می‌گردد. از رابطه (۱۰) برای محاسبه بازده تولید پروتئین میکروبی (EMPS) استفاده شده است. با توجه به ارتباط مستقیم MPS با EMPS در این معادله، لذا مقدار تولید پروتئین میکروبی بالاتر برای پروتئین میکس، دقیقاً در محاسبه بازده تولید پروتئین میکروبی منعکس می‌شود. در واقع هر سه فراسنجه PF، MPS و EMPS تابع گاز تولید شده ناشی از انکوباسیون بوده و با توجه به ویژگی خاص محصول پروتئین میکس و مقاومت آن در مقابل تجزیه میکروبی و در نتیجه کاهش قطعی گاز تولیدی، تأثیر آن در سه فراسنجه مذکور کاملاً مشهود است. در این مطالعه، روند تغییرات تولید پروتئین میکروبی تقریباً در راستای تغییرات ضریب تفکیک است. مقادیر بالای ضریب تفکیک نشان می‌دهد که بخش زیادی از ماده خشک تجزیه‌شده واقعی، صرف تولید پروتئین میکروبی شده است (Yarahmadi *et al.*, 2017). گزارش شده که سطوح مناسب تانن‌ها در جیره، سبب بهبود شرایط تخمیر در شکمبه و افزایش ساخت پروتئین میکروبی می‌شود (Sharifi *et al.*, 2017). در واقع، استفاده از خوراک‌های حاوی تانن، باعث افزایش ترشح بزاق و ورود بیشتر اوره از این طریق به شکمبه شده که به دنبال آن چرخش بیشتر بخش مایع شکمبه، رخ خواهد داد که این روند خود به افزایش ساخت پروتئین میکروبی منجر

جایگزینی کنجاله سویا با سطوح مختلف پروتئین میکس وجود ندارد ($p < 0/05$). بر اساس رابطه (۸)، مقدار ضریب تفکیک با ماده خشک تجزیه‌شده واقعی، رابطه مستقیم، ولی با حجم گاز تولید شده، رابطه معکوس دارد. در واقع هر سوبسترای تحت انکوباسیونی که دارای ماده خشک تجزیه‌شده واقعی بالاتر و در عین حال، حجم تولید گاز کمتری باشد، مقادیر بالاتری از ضریب تفکیک را خواهد داشت. کاهش چشمگیر گاز تولیدی ناشی از انکوباسیون پروتئین میکس در مقایسه با کنجاله سویا پس از سه دوره آزمایش تولید گاز برون تنی، منجر به محاسبه مقدار بالاتر شاخص ضریب تفکیک (PF) برای این محصول در مقایسه با کنجاله سویا با استفاده از رابطه (۸) می‌شود؛ در این معادله، مقدار گاز تولید شده با ضریب تفکیک رابطه معکوس دارد و کاهش قابل توجه گاز تولیدی، افزایش چشمگیر شاخص PF را در پی خواهد داشت. گزارش شده که در منابع حاوی تانن معمولاً شاخص ضریب تفکیک بالاتر از محدوده معمول می‌باشد (Danesh Mesgaran *et al.*, 2009). در تأیید این نتایج، مطالعات متعددی، افزایش شاخص ضریب تفکیک را در نتیجه استفاده از خوراک‌های حاوی تانن گزارش نموده‌اند؛ به‌طوری که در آزمایش Ebad *et al.* (2016) به‌منظور بررسی تأثیر گیاه مرتعی سوبابل، به‌عنوان یک منبع غنی از پروتئین و تانن، بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای و قابلیت هضم گوسفند عربی، مقادیر ۱۱/۳۹، ۱۰/۴۰، ۹/۲۱ و ۸/۷۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای شاخص ضریب تفکیک گزارش شده است. این شاخص طی انکوباسیون برگ توت سیاه (*Morus nigra*)، به‌عنوان یک منبع حاوی پروتئین و تانن، ۸/۷۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است (Chaji *et al.*, 2015). همچنین شاخص مذکور برای جیره‌های حاوی ۳۰ درصد برگ درخت پسته وحشی (Aminifard *et al.*, 2016) و ۱۸ درصد برگ درخت ابریشم (Khoramzadeh *et al.*, 2016)، به ترتیب ۸/۱۱ و ۸/۳۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش شده است. بالا بودن این ضریب نشان می‌دهد که بخش قابل توجهی از ماده آلی تحت تخمیر شکمبه، به توده میکروبی تبدیل شده اما تولید اسیدهای چرب فرآر و

2014)، سوبابل (Ebadi *et al.*, 2016) و برگ درخت پسته وحشی (Aminifard *et al.*, 2016) به‌عنوان منابع گوناگون حاوی تانن نیز گزارش شده است. بر خلاف مطالعاتی که اثر تانن‌ها را در کاهش نیتروژن آمونیاکی شکمبه مثبت گزارش می‌کنند، مطالعات دیگری نیز وجود دارند که بیان می‌کنند تانن‌ها بر این فراسنجه هیچ گونه اثری ندارند (Yildiz *et al.*, 2005).

طبق جدول ۶ اختلاف معنی‌داری بین pH محتویات ویال‌های تیمار شاهد (کنجاله سویا) در مقایسه با تیمار پروتئومیکس وجود ندارد ($P > 0.05$) و همچنین طبق داده‌های جدول ۷، تفاوت معنی‌داری بین جیره‌های آزمایشی در جایگزینی سطوح مختلف کنجاله سویا با پروتئومیکس در این مورد خاص نیز دیده نمی‌شود ($P > 0.05$). مشابه مطالعه حاضر، با استفاده از دو سطح تانن متراکم در جیره گوسفندان پرواری، تفاوت معنی‌داری در اسیدیته مایع شکمبه تیمارهای تغذیه شده با تانن و تیمار شاهد مشاهده نشده است (Bhatta *et al.*, 2009) یا در مطالعه دیگری با افزودن پوست پسته به جیره گوسفندان بلوچی، تغییر معنی‌داری در اسیدیته مایع شکمبه ایجاد نشده است (Rahimi *et al.*, 2013). بر خلاف نتایج این آزمایش گزارش شده که استفاده از تانن به علت کاهش جمعیت پروتوزوئرها، pH شکمبه را کاهش خواهد داد، چرا که پروتوزوئرها دارای خاصیت پایدارکنندگی شکمبه هستند که این ویژگی ناشی از هضم سریع و ذخیره نشاسته توسط آن‌ها بوده و در نتیجه از کاهش اسیدیته شکمبه جلوگیری می‌کنند (Min *et al.*, 2005). در عین حال مطالعات دیگری نشان داده‌اند که تانن‌ها منجر به کاهش غلظت اسیدهای چرب فرآر در شکمبه شده، لذا از این طریق می‌توانند در افزایش اسیدیته شکمبه مؤثر باشند (Silanokive *et al.*, 2006).

با اینکه مقایسه دو منبع پروتئینی کنجاله سویا و پروتئومیکس، صرف‌نظر از pH و مقدار ماده خشک تجزیه‌شده حقیقی، از لحاظ سایر فراسنجه‌های تولید گاز و تخمیر شکمبه‌ای، تفاوت‌های معنی‌داری را نشان داده است؛ در جایگزینی سطوح مختلف پروتئومیکس به جای کنجاله سویا در جیره‌های آزمایشی، گذشته از غلظت

خواهد شد (Danesh Mesgaran *et al.*, 2009)؛ که شاهد آن، گزارش موجود مبنی بر غلظت بیشتر نیتروژن آمونیاکی وارد شده به روده باریک نسبت به نیتروژن مصرفی در جیره حاوی تانن است (Aminifard *et al.*, 2016). در تأیید نتایج این مطالعه، بازده تولید پروتئین میکروبی در جیره حاوی برگ توت سیاه ۷۴/۸۳ درصد (Hajji *et al.*, 2015)، و در جیره حاوی برگ پسته وحشی ۷۳/۵۰ درصد گزارش شده است (Aminifard *et al.*, 2016). با این حال، تحقیقات نشان می‌دهد که تخفیف اثر تانن‌های گیاه کالیاندرا با استفاده از پلی اتیلن گلیکول منجر به افزایش مشتقات پورینی موجود در ادرار خواهد شد که نشان‌دهنده افزایش ساخت پروتئین میکروبی بوده و مغایر با نتایج مطالعه حاضر است (McSweeney *et al.*, 2001).

طبق گزارش موجود در جدول ۶ غلظت نیتروژن آمونیاکی اندازه‌گیری شده در تیمار پروتئومیکس به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از تیمار شاهد (کنجاله سویا) است ($p < 0.01$)، همچنین طبق جدول ۷ با جایگزینی کنجاله سویا توسط پروتئومیکس در سطوح مختلف نیز، غلظت نیتروژن آمونیاکی به‌طور معنی‌داری در جیره‌های تحت انکوباسیون کاهش یافته است ($p < 0.001$). چون آمونیاک مهم‌ترین محصول تولیدی طی فرآیند تخمیر ترکیبات نیتروژن‌دار در شکمبه بوده و منبع اصلی آن، تخمیر میکروبی پروتئین‌ها است (Yarahmadi *et al.*, 2017) و این که در مقایسه کنجاله سویا با خوراک‌های حاوی تانن، تنها گروه دوم توانایی ایجاد پیوندهای آب‌گریز با پروتئین‌ها را داشته و همچنین می‌تواند با ایجاد پوشش بر سطح پروتئین‌ها (Shakeri *et al.*, 2014)، آن‌ها را از آثار دامیناز و اوره‌آز میکروبی خارج نمایند (Yarahmadi *et al.*, 2017)، لذا به نظر می‌رسد این روند، توجیه‌کننده کاهش معنی‌دار غلظت نیتروژن آمونیاکی تیمارهای جایگزینی کنجاله سویا با پروتئومیکس باشد. مشابه با مطالعه حاضر، کاهش نیتروژن آمونیاکی شکمبه در نتیجه استفاده از محصول فرعی پسته (Yarahmadi *et al.*, 2017)، گیاه خار مریم (Mojadam *et al.*, 2015)، تفاله زیتون (Dousti *et al.*, 2017)، علوفه اسپرس (Yarahmadi *et al.*, 2017; Sharifi *et al.*, 2017; Abarghuei *et al.*, 2017) و پوس

استخراج شده از ضایعات کشمش و خیساب ذرت (پروتئومیکس) بدون تأثیر منفی بر فراسنجه‌های تولید گاز و تخمیر شکمبه‌ای، می‌تواند تا ۱۰ درصد جیره، جایگزین مناسبی برای کنجاله سویا بوده، اما در عین حال به منظور بررسی نتایج روی عملکرد دام، نیاز به آزمایش‌های *in vivo* می‌باشد.

سپاسگزاری

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه لرستان، جهت تأمین مالی این پژوهش و از عوامل اجرایی هنرستان کشاورزی طالقانی ملایر، جهت در اختیار گذاشتن تجهیزات آزمایشگاهی، تشکر و قدردانی می‌گردد.

نیترژن آمونیاکی، در هیچ‌کدام از فراسنجه‌های تولید گاز و تخمیر شکمبه‌ای، تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌شود؛ که به نظر می‌رسد علت اصلی این موضوع، حضور نسبتاً پایین کنجاله سویا در ترکیب جیره‌های غذایی بوده، به نحوی که عامل اصلی تعیین‌کننده در تولید گاز ناشی از انکوباسیون و دیگر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای، حضور سایر اجزای جیره‌های آزمایشی است که ۹۰ درصد ترکیب جیره‌های غذایی را تشکیل می‌دهند.

نتیجه گیری کلی

در نهایت، نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که محصول پروتئینی به دست آمده از واکنش بین تانن‌های

REFERENCES

1. Abarghuei, M.J., Rouzbehan, Y. & Zamiri, M.J. (2014). Effect of non-extracted and extracted pomegranate-peel on *in vitro* gas production parameters of inoculum of Ghezel sheep. *Journal of Ruminant Research*, 2 (2), 37-59. (In Farsi)
2. A.O.A.C. (1990). *Official Methods of Analysis*. 15th Edition, Association of Official Analytical Chemist, Washington DC.
3. Alipour, D. & Rouzbehan, Y. (2007). Effect on ensiling grape pomace and addition of polyethylene glycol on *in vitro* gas production and microbial biomass yield. *Animal Feed Science Technology*, 137 (1-2), 138-149.
4. Alipour, D., Tabatabaei, M.M., Zamani, P., Aliarabi, H., Saki, A.A. & Zamani, Z. (2010). Determination of chemical composition and gas production parameters of raisin by-product. *Animal Science Research (Agricultural Science)*, 20 (1), 109-118. (In Farsi)
5. Aminifard, Z., Chaji, M. & Mohammadabadi, T. (2016). Determination the nutritional value of wild pistachio leaf and its use in sheep feeding. *Iranian Journal of Animal Science*, 47 (1), 135-144. (In Farsi)
6. Azarfar, A., Fadaeifar, A., Azizi, A. & Koolivand, A. (2020a). *Process of tannin extraction from raisin by-products*. Retrieved November, 7, 2020, Iran Patent Office, from <https://ipm.ssaa.ir/Search-Result?page=1&DecNo=139950140003003421&RN=102791>.
7. Azarfar, A., Fadaeifar, A., Azizi, A. & Koolivand, A. (2020b). *Process of production of feedstuff with high bypass protein for ruminants*. Retrieved November, 29, 2020, Iran Patent Office, from <https://ipm.ssaa.ir/Search-Result?page=1&DecNo=139950140003005153&RN=103004>.
8. Azizi, A., Papi, N., Sharifi, A., Azarfar, A. & Kiani, A. (2016). Effect of different levels of corn steep liquor on the activity of hydrolytic enzymes in different fractions of rumen liquor and nitrogen metabolism in moghani- male lambs. *Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi)*, 30 (115), 255-270. (In Farsi)
9. Bakhshizadeh, S., Taghizadeh, A., Janmohammadi, H. & Alijani, S. (2013). The effect of polyethylene glycol (PEG 6000) supplementation on *in vitro* kinetics of pistachio epicarp. *Journal of Livestock Research*, 2 (1), 11-20. (In Farsi)
10. Bhatta, R., Uyeno, Y., Tajima, K., Takenaka, A., Yabumoto, Y., Nonaka, I., Enishi, O. & Kurihara, M. (2009). Difference in the nature of tannins on *in vitro* ruminal methane and volatile fatty acid production and on methanogenic archaea and protozoal populations. *Journal of Dairy Science*, 92 (11), 5512-5522.
11. Blümmel, M., Steingss, H. & Becker, K. (1997). The relationship between *in vitro* gas production, *in vitro* microbial biomass yield and 15N incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. *British Journal of Nutrition*, 77, 911-921.
12. Broderick, G. & Kang, J. H. (1980). Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. *Journal of Dairy Science*, 63, 64-75.
13. Chaji, M., Aminifard, Z. & Heydari, M. (2015). Investigation of digestion and fermentation parameters of diets contain of Black mulberry leaves. *Animal Production*, 18 (4), 719-728. (In Farsi)

14. Combs, C.A. (2016). *Tannins, Biochemistry, Food Sources and Nutritional Properties*. Nova Science Publishers, Inc.
15. Danesh mesgaran, M (2009). *Advanced In Vitro Methods for Animal Science Researches (Special View on Agriculture By-Products in Animal Nutrition)*. Ferdowsi University of Mashhad Publication.
16. Dousti, F., Ghoorchi, T., Sepahvand, A., Dastar, B. & Azarfar, A. (2017). The effect of different levels olive cake in fermentation parameters, enzyme cellulytic and the rumen microbial protein production Lory male lambs. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 9 (4), 424-436. (In Farsi)
17. Ebadi, M., Mohammadabadi, T., Tabatabaei Vakili, S., Chaji, M. Mirzadeh, Kh. (2016). The study of the effect of diets containing Subabul plant on digestibility and rumen fermentation and some blood parameters of Arabia sheep. *Iranian Veterinary Journal*, 12 (3), 58-68. (In Farsi)
18. Getachew, G., Makkar, H.P.S. & Becker, K. (2001). Method of polyethylene glycol application to tannin-containing browses to improve microbial fermentation and efficiency of microbial protein synthesis from tannin- containing browses. *Animal Feed Science Technology*, 92, 51-57.
19. Khoramzadeh, L., Mohammadabadi, T., Mamouei, M., Chaji, M. & Sari, M. (2016). The comparison of degradability, digestion and microbial fermentation of siris leaves or silk tree instead of the alfalfa in cow and buffalo of Khuzestan. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 8 (4), 602-615. (In Farsi)
20. Licitra, G., Hernandez, T.M. & Van Soest, P.G. (1996). Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Animal Feed Science Technology*, 57, 347-358.
21. Makkar, H.P.S. (2000). *Quantification of Tannins in Tree and Shrub Foliage, a Laboratory Manual*. Kluwer Academic Publishers.
22. Marten, G.C. & Barnes, R. F. (1980). Prediction of energy digestibility of forages with in vitro rumen fermentation and fungal enzyme systems. In *standardization of analytical methodology for feeds*. edited by Pigden, W. G. et al. Ottawa: Proc. Int. Workshop Standardization Anal. Methodol. Feeds IDRC-134e. 67-71.
23. McSweeney, C.S., Palmar, B., McNeill, D.M. & Krause, D.O. (2001). Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science Technology*, 91(1-2), 83-93.
24. 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.
25. Min, B.R., Attwood, G.T., McNabb, W.C., Molan, A.L. & Barry, T.N. (2005). The effect of condensed tannins from Lotus corniculatus on the proteolytic activities and growth of rumen bacteria. *Animal Feed Science Technology*, 121 (1-2), 45-58.
26. Mojadam, A., Chaji, M., Mohammadabadi, T. & Tabatabaei Vakili, S. (2015). Feeding value of silybum marianum for sheep and its effect on fiber and protein digestion. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 7 (3), 267-277. (In Farsi)
27. National Research Council, (2007). *Nutrient requirements of small ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids*. National Academy of Sciences.
28. Ndemaniho, E.E., Kimoro, B.N., Mtengeti, E.J. & Muhikambe, V.R.M. (2006). The potential of *Albizia lebeck* as a supplementary feed for goats in Tanzania. *Agroforestry Systems*, 67(1), 85-91.
29. Olmos Colmenero, J. J. & Broderick, G. A. (2006). Effect of dietary crude protein concentration on milk production and nitrogen utilization in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 89(5), 704-1712.
30. Ørskov, E. and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *The Journal of Agricultural Science*, 92(2), 499-503.
31. Patra, A.K. (2012). *Dietary Phytochemicals and Microbes*. Springer Dordrecht Heidelberg New York London.
32. Priolo, A., Waghorn, G.C., Lanza, M., Biondi, L. & Pennisi, P. (2000). Polyethylene glycol as a means for reducing the impact of condensed tannins in carob pulp: effects on lamb growth performance and meat quality. *Journal of Animal Science*, 78, 810-816.
33. Rahimi, A., Naserian, A.A., Valizadeh, R., Tahmasbi, A. & Shahdadi, A. (2013). Effect of replacing different levels of alfalfa hay with pistachio hull on feed intake, digestibility of nutrients, rumen fermentative parameters, blood metabolites and nitrogen balance in Balochi male lambs. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 5 (3), 190-200. (In Farsi)
34. Razmazar, V., Torbatinejad, N.M., Seifdavati, J. & Zerehdaran, S. (2016). Effect of different varieties of pomegranate peels (Torsh Jangali Gorgan, malas Behshahr and Shirin kolbad) on dry matter digestibility, number of protozoa and methane production *in vitro*. *Journal of Ruminant Research*, 4 (2), 111-132. (In Farsi)

35. Seifdavati, J., Islami, Z., Abdi Benemar, H., Mirzaei Aghje Gheshlagh, F. & Seyed Sharifi, r. (2017). Green pea (*Pisum sativum* L.) pods phenolic components and their effects on *in vitro* ruminal digestibility and *in vitro* gas production. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 9 (3), 284-299. (In Farsi)
36. Shakeri, P., Aghashahi, A.R., Mostafavi, H. & Mirzaee, M. (2014). Effect of ensiling pistachio by-products on ruminal fermentation and methane emission mitigation using *in vitro* batch fermentation. *Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi)*, 28 (106), 43-54. (In Farsi)
37. Sharifi, A., Chaji, M. & Vakili, S.A. (2017). Effect of treatment recycled poultry bedding with pomegranate peel tannin extract on *in vitro* digestion and fermentation activity of cow rumen microorganisms. *Journal of Animal Production*, 19 (2), 321- 336. (In Farsi)
38. Silanikove, N., Landau, S., Or, D., Kababya, D., Bruckental, I. & Nitsan, Z. (2006). Analytical approach and effects of condensed tannins in carob pods (*Ceratonia siliqua*) on feed intake, digestive and metabolic responses of kids. *Livestock Science*, 99 (1), 29-38.
39. Sniffen, C.J., O'Connor, J.D., Van Soest, P.G., Fox, D.G. & Russel, J.B. (1992). A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *Journal of Animal Science*, 70(11), 3562-3577.
40. Tabatabaei, M.M., Souri, M. & Nik-Khah, A. (1992). Determination of nutritive value of grape residues in growing lamb ration (Mehraban sheep). *Iranian Journal of Agriculture Science*. 23 (2), 43-52. (In Farsi)
41. Vahdani, N., Dehghan Banadaky, M., Rezayazdi, K. & Khalighi-Sigaroodi, F. (2016). Effects of semi-pure tannin usage, on crude protein fractions of soy bean meal and canola meal by CNCPS. *Iranian Journal of Animal Science*, 47 (2), 261-270. (In Farsi)
42. Van Soest, P. J., Robertson, J. B. & Lewis, A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583-3597.
43. Vermeris, W. & Nicholson, R. (2008). *Phenolic Compounds Biochemistry*. Springer Science + Business Media.
44. Yarahmadi, B., Chaji, M., Boujarpour, M., Mirzadeh, Kh. & Rezaei, M. (2017). Effects of sainfoin tannin treated by water or urea on microbial population, gas production parameters, digestibility and *in vitro* fermentation. *Iranian Veterinary Journal*, 13 (3), 97-115. (In Farsi)
45. Yildiz, S., Kaya, I., Unal, Y., Aksu, D., Kaya, S., Cenesiz, M., Kaya, M. & Oncuer, A. (2005). Digestion and body weight change in Tuj lambs receiving oak (*Quercus hartwissiana*) leaves with and without PEG. *Animal Feed Science Technology*, 122 (1-2), 159-172.