Archive of SID

Iranian Journal of Animal Science
Vol 49, No 4, Winter 2019 (545-556)
DOI: 10.22059/ijas.2019.267337.653664

علوم دامی ایران
دورهٔ ۴۹، شمارهٔ ۴، زمستان ۱۳۹۷ (ص ۵۵۶-۵۴۵)

تأثیر اسید استیک و اتوکلاو بر تجزیه‌پذیری مواد مغذی، شمارش پروتوزوآ، پروتئین قابل متابولیسم و بخش‌بندی پروتئین بر اساس CNCPS در گاودانه

فائزه شهبازی[۱]، مهدی کاظمی بن‌چناری[۲*]، امیر حسین خلت‌آبادی فراهانی[۳] و حامد خلیلوندی بهروزیار[٤]
۱، ۲ و ۳. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه اراک
٤. استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۸/۷ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۱۸)

چکیده

تأثیر فرآوری گاودانه با اسید استیک و اتوکلاو بر تجزیه‌پذیری مواد مغذی، برخی فراسنجه‌های شکمبه‌ای، شمارش پروتوزوآ، و بخش‌بندی پروتئین بر اساس سیستم کرنل با استفاده از سه راس گوسفند دارای فیستولای شکمبه‌ای در آزمایش فاکتوریل ۳ در ۳ (دوره‌های ۲۱ روزه) مورد بررسی قرار گرفت. سه تیمار آزمایشی شامل؛ ۱) گاودانه خام؛ ۲) گاودانه فرآوری‌شده به روش شیمیایی (اسید استیک ۸ درصد) و ۳) گاودانه فرآوری شده به روش فیزیکی (اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱۱۷ کیلوپاسکال) بود. انکوباسیون کیسه‌ها به منظور انجام آزمایش تجزیه‌پذیری در ساعت‌های ۲، ٤، ۸، ۱٦، ۲٤ و ٤۸ انجام گردید. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده در آزمایش کیسه‌گذاری پروتئین قابل متابولیسم تیمارها نیز محاسبه گردید. هر دو نوع فرآوری قابلیت تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام گاودانه را در شکمبه کاهش دادند. علیرغم این‌که فرآوری‌ها سبب تغییر روند تجزیه‌پذیری در شکمبه گردیدند اما بر محتوی پروتئین قابل متابولیسم تأثیر نداشتند. اتوکلاو سبب کاهش بخش‌های پروتئینی A و B1 شد و بخش‌های کند تجزیه را افزایش داد (P<۰/۰۵). نیتروژن آمونیاکی شکمبه تحت تأثیر هر دو روش فرآوری نسبت به گاودانه خام متمایل به کاهش بود (P=۰/۰٦). جمعیت پروتوزوآی شکمبه در دام‌هایی که گاودانه اتوکلاو شده مصرف کرده بودند در مقایسه با دیگر تیمارها بیشتر بود (P=۰/۰٤). نتایج نشان داد که فرآوری‌های فیزیکی (اتوکلاو) و شیمیایی (اسید استیک) سبب کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمبه می‌گردد که در این میان تأثیر فرآوری اتوکلاو بر عبوری کردن پروتئین از شکمبه بیشتر بوده است.

واژه‌های کلیدی: تجزیه‌پذیری پروتئین، فرآوری شیمیایی، فراسنجه‌های شکمبه‌ای، گاودانه.

Effect of acetic acid treating and autoclaving of bitter vetch on nutrients degradability, protozoa counts, metabolisable protein and CNCPS protein fractionation

Faezeh Shahbazi[1], Mehdi Kazemi-Bonchenari[2*], Amir Hossein Khaltabadi-Farahani[3] and Hamed Khalilvandi-Behroozyar[4]
1, 2, 3. Former M.Sc. Student, Associate Professor and Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Arak University, Iran
4. Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Iran
(Received: Oct. 29, 2018 - Accepted: Mar. 9, 2019)

ABSTRACT

The present study was evaluated the effects of acetic acid treating and autoclaving the bitter vetch (*Vicia ervilia*) on nutrients degradability, protozoa counts, some ruminal parameters, and metabolisable protein. Three Farahani permanent rumen-canulated sheep were used in a 3×3 Latin square design with 21-d periods. Three experimental treatments were; 1) raw bitter vetch, 2) chemical processed bitter vetch, and 3) physical processed bitter vetch. Treating bitter vetch with 8% acid acetic and its autoclaving (121 ˚C, 117 Kpa, 20 min) were considered as chemical, and physical processing, respectively. The incubation times for *in situ* experiment were 2, 4, 8, 16, 24 and 48 h. Metabolisable protein was estimated based on *in situ* data as well. The results cleared that both processing methods (i.e. chemical and physical) reduced the degradation of dry matter and protein in the rumen which physical treating was more effective in this reduction. However the processing methods did not change metabolisable protein content of treatments. The results of protein fractionation showed that autoclaving caused to reduce the A and B1 fractions and increased the slow degradable fractions (P<0.05). Ruminal ammonia nitrogen concentration was tended to be significant (P=0.06). The protozoa count increased in rumen fluid of sheep fed autoclaved bitter vetch. The results of the current study showed that both chemical (treating with acetic acid) and physical processing (autoclaving) transferred the protein degradation from the rumen into small intestine and the effect of physical treating (autoclave) was more relevant.

Keywords: Bitter vetch, chemical processing, protein degradation, ruminal parameters.

* Corresponding author E-mail: mehdi_kazemi59@yahoo.com; m-kazemibonchenari@araku.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

گاودانه Bitter vetch (*Vicia ervilia*) دارای حدود ۲۳ درصد پروتئین و ۴۰ درصد نشاسته می باشد که قابلیت استفاده در تغذیه دام دارد و به صورت جایگزین کنجاله سویا در جیره بره‌های پرواری (Hadad, 2006)، و در تغذیه طیور (Sadeghi *et al*., 2009) و گاو شیری (Moini *et al*., 2010) استفاده شده است. با وجود دارا بودن ترکیبات ضد مغذی، این خوراک دارای ترکیبات بهبود دهنده سیستم ایمنی از طریق ترکیبات شبه دارویی خود می باشد (Okba *et al*., 2017). پروفایل اسیدهای آمینه دانه‌های لگومینه عموما مانند دانه‌های غلات کامل بوده و تنها به برخی از اسیدهای آمینه محدود کننده مانند لایزین و متیونین جهت جبران کمبودهای اسید آمینه‌ای خود نیاز دارند (Petterson & Mackintosh, 1994). استفاده از دانه های لگومینه در تغذیه دام ها از محدودیت برخوردار بوده و بازدهی آن ها نیز پایین است. یکی از دلایل مهم این است که سهم بالایی از کل پروتئین این دانه ها را پروتئین محلول با سرعت تجزیه بالا تشکیل می دهد. در دانه‌های لگومینه، ۸۵ تا ۱۰۰ درصد از پروتئین دانه را آلبومین‌ها (پروتئین‌های محلول در آب)، گلوبولین‌ها (پروتئین محلول در نمک) و بین صفر تا ۱۵ درصد را گلوتلین‌ها (پروتئین محلول در قلیاهای ضعیف) تشکیل می‌دهند و بخش پروتئینی این دانه ها فاقد پرولامین‌ها (بخش محلول در الکل) است (Van Straalen & Tamminga, 1990). از طرفی اثبات شده است که یک نرخ تجزیه شکمبه‌ای بالا منجر به بهم ریختن توازن میان تجزیه پروتئین و نرخ سنتز پروتئین میکروبی شده و در نتیجه می‌تواند موجب هدرروی نیتروژن از شکمبه گردد (Tamminga *et al*., 1990; Van Straalen & Tamminga, 1990). همچنین به دلیل محتوای نسبتاً بالای نشاسته در دانه‌های لگومینه انجام فرآوری‌های فیزیکی و شیمیایی بر دسترسی نشاسته نیز تأثیر گذاشته که می‌تواند با پروتئین اثر متقابل داشته باشد. فرآوری‌های متفاوتی نظیر حرارت دادن (Robinson & McNiven, 1993)، پلت کردن (Goelema *et al*., 1999)، اکسترود کردن (Cros *et al*., 1991) و اتوکلاو کردن (Aguilera *et al*., 1992)، در مورد دانه های لگومینه صورت گرفته است. اخیرا نیز نشان داده شده است که انجام انواع فرآوری‌ها سبب بهبود وضعیت ضد مغذی در این دسته از دانه‌ها می گردد (Olawoye et al., 2017). تأثیر فرآوری فیزیکی گاودانه بر روند تجزیه‌پذیری مواد مغذی پیش‌تر مورد بررسی قرار گرفته است (Aguilera *et al*., 1992) اما مقایسه نتایج با فرآوری شیمیایی نیز مورد نیاز است. به لحاظ اینکه انجام فرآوری های متفاوت می‌تواند قابلیت دسترسی مواد مغذی برای پروتوزوآ و باکتری‌های شکمبه را تحت تأثیر قرار دهد بنابراین شمارش پروتوزوآ در زمان انجام انواع فرآوری نیز می‌تواند قابل بحث باشد که پیش‌تر کمتر به آن توجه شده است. با توجه به این‌که پیش‌تر انجام فرآوری شیمیایی و فیزیکی در غلات توانسته است هم قابلیت تجزیه‌پذیری پروتئین و هم نشاسته در شکمبه دام ها را تحت تأثیر قرار دهد (Kazemi-Bonchenari *et al*., 2017) به نظر می‌رسد در مورد مقایسه تأثیر فرآوری فیزیکی و شیمیایی بر قابلیت دسترسی و تجزیه‌پذیری مواد مغذی در دانه لگومینه تحقیقات بیشتری مورد نیاز است. بنابراین ممکن است تأثیر انواع فرآوری‌ها (فیزیکی و شیمیایی) بر محتوی پروتئین قابل متابولیسم در دانه‌های لگومینه و به ویژه گاودانه که جزو خوراک های بومی در ایران نیز قابل دسترس می باشد نیاز به پژوهش بیشتر داشته باشد. در پژوهش حاضر تأثیر فرآوری شیمیایی (اسید استیک) و فیزیکی (اتوکلاو) بر تجزیه‌پذیری مواد مغذی، برخی فراسنجه های شکمبه‌ای، شمارش پروتوزوآ، سطح پروتیئن قابل متابولیسم محاسبه‌شده بر اساس روش کیسه‌گذاری، و همچنین بخش‌بندی پروتئین براساس سیستم کرنل (CNCPS) بر روی گاودانه مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

محل انجام آزمایش و تیمارهای آزمایشی و مدیریت دام‌های آزمایشی

محل انجام پژوهش حاضر در ایستگاه تحقیقاتی گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه

www.SID.ir

Archive of SID

اراک انجام گرفته است. به منظور بررسی و مقایسه تأثیر انواع فرآوری شیمیایی و فیزیکی بر گاودانه سه تیمار به صورت‌های زیر در نظر گرفت شد. ۱) تیمار شاهد که در آن گاودانه خام مورد آزمایش قرار گرفت. ۲) تیمار شیمیایی گاودانه که شامل تیمار آن با محلول اسید استیک ۸ درصد بود و ۳) تیمار فیزیکی گاودانه که شامل اتوکلاو کردن گاودانه در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار ۱۱۷ کیلوپاسکال و به مدت ۲۰ دقیقه صورت گرفت. با توجه به تغییر رطوبت دانه‌ها بعد از فرآوری، تمامی دانه‌ها تا زمان حصول ۹۰ درصد ماده خشک برای تغذیه دام‌ها مورد استفاده قرار می گرفتند. دانه‌ها به صورت هفتگی فرآوری و سپس به وسیله آسیاب غلتکی آسیاب می‌شدند تا بافت دانه‌ها بر پاسخ تأثیرگذار نباشد. برای انجام فرآوری شیمیایی (فرآوری با اسید استیک) گاودانه با نسبت ۱:۱ در اسید استیک ۸ درصد خیسانده شده و پس از خشک شدن در دمای اتاق آسیاب شد. برای فرآوری فیزیکی (اتوکلاو کردن) دانه کامل در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و تحت فشار ۱۱۷ کیلوپاسکال (kpa) برای مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه اتوکلاو، تحت فشار بخار پخته شده و پس از خشک شدن تا ۹۰ درصد ماده خشک آسیاب شدند. بعد از آماده شدن تیمارهای آزمایشی، در جیره‌های مربوط به بره‌های فیستولا شده مورد آزمایش قرار گرفتند. به این منظور از سه راس گوسفند نر نژاد فراهانی فیستولادار شکمبه‌ای و با میانگین وزن ۴۵ کیلوگرم استفاده شد. آزمایش در قالب طرح چرخشی ۳ در ۳ اجرا شد و شامل ۳ دوره آزمایشی بود که در هر دوره ۱۴ روز ابتدایی دوره سازگاری به شرایط آزمایشی و ۷ روز بعدی به نمونه‌گیری اختصاص یافت. هر یک از تیمارهای آزمایشی به صورت تصادفی به هر یک از دام‌ها اختصاص داده شد. جیره‌ها به صورت کاملاً مخلوط تهیه شده (TMR; Total mixed ration) و ۲ بار در روز در ساعات ۸ صبح و ۱۶ عصر و در حد ۱۰ درصد بالاتر از حد نگهداری در اختیار حیوان قرار داده شد. میانگین دمای محیط آزمایش در طول آزمایش ۲۳ درجه سانتیگراد بود. هچنین آب به صورت آزادانه در اختیار آن‌ها قرار داده شد. خوراک مصرفی روزانه در هر دوره ثبت گردید. با توجه به اینکه مقدار مصرف گاودانه در هر سه تیمار برابر بود (۱۵۰ گرم در هر کیلوگرم) محتوای انرژی قابل متابولیسم و پروتئین خام در جیره‌های آزمایشی نسبتاً مشابه هم بود. فرمولاسیون جیره‌های آزمایشی بر اساس احتیاجات مواد مغذی توصیه‌شده توسط انجمن تحقیقات ملی (National Research Council, 2007) صورت گرفت. جیره پایه مصرفی در هر سه تیمار یکسان بوده و تنها تفاوت این سه جیره در نوع گاودانه اضافه شده به جیره بود. جیره‌های آزمایشی شامل تیمارهای زیر بودند: ۱) جیره پایه به همراه ۱۵۰ گرم در کیلوگرم گاودانه خام، ۲) جیره پایه به همراه ۱۵۰ گرم در کیلوگرم گاودانه فرآوری‌شده با محلول اسید استیک ۸ درصد، ۳) جیره پایه به همراه ۱۵۰ گرم در کیلوگرم گاودانه اتوکلاو شده.

صفات اندازه‌گیری شده

جهت تعیین ماده خشک نمونه‌های آزمایشی، نمونه‌های خوراک به‌صورت هفتگی گرفته شد، در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۴۸ ساعت خشک شدند و با استفاده از توری ۱ میلی‌متری آسیاب شدند. بر اساس ماده خشک تعیین شده، ماده خشک مصرفی دام‌ها در طول اجرای آزمایش به صورت روزانه اندازه‌گیری شد. همچنین محتوی پروتئین موجود در نمونه‌های خوراک نیز اندازه‌گیری شد (AOAC, 2000). به‌منظور بررسی و مقایسه تجزیه‌پذیری ماده خشک، ماده آلی و پروتئین خام مربوط به سه تیمار ذکرشده روش کیسه‌های نایلون (in sacco bags) به‌کار گرفته شد. بدین منظور کیسه‌هایی با جنس داکرون با اندازه ۱۱× ۷ سانتی متر با قطر منافذ ۴۳ میکرومتر تهیه شد. برای هر تیمار (گاودانه خام، تیمارشده شیمیایی و تیمارشده فیزیکی) زمان‌های انکوباسیون شامل زمان صفر، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۲۴ و ۴۸ با دو تکرار برای هر زمان در نظر گرفته شد. دانه‌های خام و فرآوری شده گاودانه قبل از قرار دادن در داخل کیسه‌ها با آسیاب آزمایشگاهی آسیاب شدند. در هر کیسه مقدار ۵ گرم از دانه‌های آسیاب‌شده و عبور داده شده از غربال ۲ میلی‌متری

www.SID.ir

Archive of SID

ریخته شد. ورود کیسه‌ها به‌صورت همگانی به داخل شکمبه صورت گرفت و پس از انکوباسیون، کیسه‌های حاوی نمونه در زمان‌های مشخص شده از شکمبه خارج و پس از شستشو با آب سرد به مدت نیم ساعت، به منظور تعیین میزان تجزیه‌پذیری به آزمایشگاه انتقال یافتند. برای اندازه‌گیری زمان صفر نیز دو نمونه به مدت ۳۰ دقیقه شستشو داده شده، سپس همه کیسه‌های در داخل آون با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند. سپس درصد تجزیه‌پذیری مؤثر در سرعت‌های عبور کم، متوسط و زیاد و فراسنجه‌های a، b و c برای ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام و نشاسته با استفاده از معادله غیر خطی Ørskov & McDonald (1979) با استفاده از نرم‌افزار NEWAY (1992) و از طریق معادله زیر محاسبه گردید:

$$p = a + b\,(1 - e^{-ct})$$

در رابطه فوق a بخش تند تجزیه (درصد)، b بخش کند تجزیه (درصد)، c ثابت نرخ تجزیه در واحد زمان، t زمان و p درصد ناپدید شدن می‌باشد. به منظور بررسی اثر تیمارهای آزمایشی بر نیتروژن آمونیاکی و جمعیت پروتوزوآی شکمبه در ۴ ساعت بعد از خوراک‌دهی صبح به‌وسیله پمپ خلأ مایع شکمبه گرفته شد و مایع با استفاده از پارچه متقال چهار لایه صاف گردید. غلظت نیتروژن آمونیاکی با استفاده از روش فنل- هیپوکلریت تعیین گردید (Broderick & Kang, 1980). شمارش پروتوزوآ توسط لام مخصوص هموسیتومتر و با روش Dehority (2003) صورت گرفت. به‌منظور ثابت نگه‌داشتن تک‌یاخته‌ها، میزان ۳ تا ۵ میلی‌لیتر از محلول تثبیت‌کننده فرمالین- نمک (با نسبت ۱ به ۲ از فرمالدهید ۳۷/۸ درصد و نمک مرک ۰/۹ درصد) به مقدار ۲۵ میلی‌لیتر از مایع شکمبه صاف‌شده اضافه گردید و نمونه‌ها بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شده و مورد شمارش قرار گرفتند. در آزمایشگاه، یک قطره از مایع تثبیت‌کننده فرمالین ۳۷ درصد بر روی لام مدرج مخصوص شمارش پروتوزوآ ریخته و تعداد پروتوزوآ توسط میکروسکوپ نوری و با بزرگنمایی ۴۰ شمارش شد. برای هر نمونه ۳ بار شمارش صورت گرفت و درصورتی‌که میان تعداد تک‌یاخته‌های شمارش‌شده اختلاف بالایی وجود داشت، شمارش تکرار می‌شد.

جدول ۱. اقلام مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره آزمایشی پایه (بر اساس گرم در کیلوگرم ماده خشک)

Table 1. The percentages of feed ingredients (DM basis) and nutritive value of the basal diet

Diet	Basal diet
Composition (g/kg)	
Alfalfa Hay	490
Wheat Straw	210
Barely grain	100
Bitter vetch (Raw or treated)	150
Wheat bran	40
Salt	3
Vit-Min Premix[1]	7
Chemical analysis (g/kg DM)	
Dry matter	892.1
Metabolizable Energy (Mcal/kg DM)	2.3
Crude protein	128
Ca	6.5
P	2.2

۱. تیمارهای آزمایشی شامل مصرف ۱۵۰ گرم در هر کیلوگرم برای؛ Tc؛ گاودانه خام، T1؛ گاودانه تیمار شده با اسید استیک، T2؛ گاودانه تیمار شده با اتوکلاو.

Basal diet was contained 150 g/kg of bitter vetch as raw (Tc), treated with acetic acid (T1) and autoclaved (T2).

1. Contained per kilogram of supplement: 250,000 IU vitamin A, 40,000 IU vitamin D, 1,000 IU vitamin E, 110 g Ca, 45 g P, 20 g Mg, 15 g Na, 1000 mg Fe, 2000 mg Zn, 500 mg Cu, 750 mg Mn, 20 mg I, 10 mg Se and 8 mg Co.

تعیین بخش‌های مختلف پروتئین (A، B1، B2، B3، و C) بر اساس سیستم کرنل انجام شد. به منظور تعیین بخش پروتئین A (نیتروژن غیر پروتئینی) از روش تانگستیک اسید استفاده شد و همچنین از شوینده‌های سیستم کرنل (حاوی بافر بوراتو بافر فسفات) برای اندازه‌گیری بخش‌های دیگر بر اساس Licitra *et al.* (1996) انجام گرفت. با استفاده از ضرایب تجزیه‌پذیری پروتئین خام (a، b و c) به‌دست‌آمده از روش کیسه‌های نایلونی و همچنین میزان نیتروژن نامحلول در شوینده اسیدی به‌دست‌آمده از گاودانه، فراسنجه‌های مربوط به برآورد پروتئین قابل متابولیسم و فراسنجه‌های مربوط به آن با استفاده از روابط زیر تخمین زده شد (AFRC, 1992).

1) $QDP = a \times CP$
2) $SDP = (bc/c+k) \times CP$
3) $ERDP = 0.8\,(QDP) + (SDP)$
4) $UDP = CP - (QDP + SDP)$
5) $DUP = 0.9\,(UDP - (6.25 \times (ADIN)$
6) $MP = 0.6375 \times (ERDP) + DUP$

در این معادله‌های فراسنجه‌ها به‌صورت زیر در نظر گرفته شده بودند: QDP= پروتئین با تجزیه‌پذیری سریع در شکمبه، SDP= پروتئین با تجزیه‌پذیری کند

www.SID.ir

Archive of SID

در شکمبه، ERD= پروتئین قابل تجزیه مؤثر در شکمبه، UDP= پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه، DUP= پروتئین غیر قابل تجزیه قابل هضم، MP= پروتئین قابل متابولیسم، k= نرخ عبور مواد هضمی.

تجزیه آماری

داده‌ها در در قالب طرح چرخشی متعادل مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. مدل آماری این طرح به صورت زیر است:

$$Y_{ijklm} = \mu+T_i+C_j+P_k+R_l+e_{ijklm}$$

که در آن Y_{ijklm}= مقدار هر مشاهده، μ= میانگین کل، T_i= اثر تیمار، C_j= اثر حیوان، P_k= اثر دوره و R_l= در مورد داده هایی بود که تکرار داشتند (اثر زمان) و e_{ijklm}= اثر خطای آزمایشی می‌باشد. در مورد داده‌هایی که تکرار در واحد زمان داشتند اثر زمان نمونه‌گیری نیز در نظر گرفته شد (R_l). در نهایت تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از رویه GLM شده نرم‌افزار تجزیه آماری صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها به‌روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن صورت گرفت. داده‌های مربوط به شمارش پروتوزوآ بعد از لگاریتم‌گیری مورد تجزیه قرار گرفتند. سطح احتمال P<۰/۰۵ و P<۰/۱ به‌ترتیب مبین اختلاف آماری معنی‌دار و متمایل به معنی‌دار در نظر گرفته شدند.

نتایج و بحث

سطح پروتئین گاودانه خام مورد استفاده در این آزمایش ۲۳/۶۰ درصد (بر اساس ماده خشک) بود که در قالب سه تیمار (خام، تیمارشده با اسید استیک و اتوکلاو شده) و در آزمایش تجزیه‌پذیری و همچنین در تغذیه دام‌ها استفاده شد. دیواره سلولی، عصاره اتری، خاکستر و کربوهیدرات غیر الیافی (NFC) مربوط به گاودانه مورد آزمایش هم به ترتیب ۱۹/۷، ۱/۸، ۳/۲ و ۵۱/۷ درصد بود. خوراک مصرفی روزانه گوسفندان در تیمار ۱ و ۲ و ۳ برابر ۱/۳۸، ۱/۴۲ و ۱/۴۱ کیلوگرم در روز بود که تفاوت معنی‌داری نیز وجود نداشت. ترکیب شیمیایی مربوط به گاودانه‌های فرآوری‌شده با گاودانه خام تفاوتی نداشت (پروتئین خام، عصاره اتری، NDF و خاکستر به ترتیب برابر ۲۳/۶۰، ۲/۹۸، ۱۴/۷۱ و ۵/۷۳ درصد بود). تنها رطوبت دانه‌ها متفاوت بود (برای تیمارهای ۱، ۲ و ۳ به ترتیب برابر ۸۹، ۷۵ و ۸۸ درصد بود که البته قبل از مصرف توسط دام‌ها تا رطوبت ۹۰ درصد خشک می‌گردید تا رطوبت تأثیری بر نتایج نداشته باشد). به هر حال، ازآنجایی‌که دانه‌ها در هر سه تیمار با ۹۰ درصد ماده خشک برای تغذیه دام‌ها و یا برای آزمایش کیسه‌گذاری استفاده می‌شدند تأثیری در نتایج نداشت. Moini *et al.* (2010) غلظت پروتئین خام گاودانه را ۲۲/۸۰ درصد، اما Arabestani *et al.* (2011) ۲۷/۶۲ درصد گزارش کردند. تأثیر روش فرآوری بر مولفه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک دانه‌های خام و فرآوری شده گاودانه در جدول۲ آورده شده است. فراوری گاودانه با اسید استیک و اتوکلاو سبب کاهش معنی‌دار در بخش سریع تجزیه‌شونده شد (P<۰/۰۱). هر دو روش فراوری نسبت به تیمار شاهد، موجب افزایش معنی‌داری در بخش بالقوه قابل تجزیه و نرخ تجزیه‌پذیری (P<۰/۰۱) و تجزیه‌پذیری مؤثر در سرعت‌های عبور متفاوت شده بودند (P<۰/۰۵). کاهش معنی‌دار بخش سریع تجزیه شونده، ممکن است نشان دهنده‌ی کاهش حلالیت بخش پروتئینی و یا بخش کربوهیدراتی دانه نسبت داد. پیش‌تر نشان داده شده است که میزان تجزیه‌پذیری ماده خشک گاودانه اتوکلاو شده در مدت ۴۸ ساعت انکوباسیون در داخل شکمبه، به میزان ۶/۲ درصد کاهش یافته است (Aguilera *et al.*, 1992) که در آزمایش حاضر تفاوتی در این رابطه مشاهده نشد. به نظر می رسد در نرخ‌های عبور متفاوت تأثیر فرآوری‌ها یکسان بوده است که در بخش تجزیه‌پذیری مؤثر نیز مشاهده می‌شود.

روند تجزیه‌پذیری مربوط به گاودانه اتوکلاو شده کمترین مقدار در مقایسه با دو تیمار دیگر بوده است. بررسی تجزیه‌پذیری مؤثر در جدول ۳ ارائه شده است. فراوری با اسید و اتوکلاو نسبت به دانه خام موجب کاهش معنی‌دار بخش سریع تجزیه شونده (P<۰/۰۵) شد. همچنین هر دو روش فرآوری نسبت به تیمار شاهد، موجب افزایش بخش بالقوه قابل تجزیه شد، که این افزایش متمایل به معنی‌داری بود (P =۰/۰۶).

www.SID.ir

Archive of SID

نرخ تجزیه‌پذیری پروتئین خام دانه‌های فرآوری شده نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت (P<۰/۰۱). همچنین میزان تجزیه‌پذیری مؤثر پروتئین خام دانه اتوکلاو شده در سرعت‌های عبور ۲، ۵ و ۸ درصد نسبت به دانه خام و دانه فراوری‌شده با اسید، کاهش یافت (P<۰/۰۱). هم‌راستا با نتایج این تحقیق، نشان داده شده که غالب فرآوری‌ها در مورد منابع پروتئینی، کاهش محلولیت پروتئین را به همراه داشته است (Kirkpatrick & Kennely, 1987). این کاهش شاید به یک افزایش در استحکام پیوندهای میان اسیدهای آمینه همچون پیوندهای گوگردی و یا تغییر ساختار پروتئین مرتبط باشد که در نهایت منجر به محلولیت کمتر آن می شود (Moshtaghi nia & Ingalls, 1992; Aldrich *et al*., 1995).

در بررسی تأثیر تیمار کردن کنجاله کانولا با اسید استیک و فرآوری حرارتی، تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای بخش پروتئینی با سرعت تجزیه بالا تحت تأثیر تیمار اسید استیک قرار گرفت و نسبت به گروه شاهد به میزان معنی‌داری کاهش یافت (۶۱/۰۲ در مقابل ۲۵/۵۶ درصد) و در مقابل بخش دارای پتانسیل تجزیه به میزان معنی‌داری افزایش یافته بود (Eghbali *et al*., 2011). نتایج این محققین نشان داد که اگرچه فرآوری نمودن کنجاله کانولا موجب کاهش بخش‌های محلول پروتئین شد، اما در مورد بخش نامحلول تفاوت معنی‌داری میان تیمارهای حرارتی خشک و اسیدی مشاهده نشد. در نتیجه پیشنهاد کردند که فرآوری منابع پروتئینی شاید یک فاز تأخیری (lag time) در قابلیت حل شدن بخش نیتروژنی و یا پروتئینی آن ایجاد نموده، اما این بخش‌ها را برای میکروب‌های شکمبه‌ای، نامحلول و یا غیرقابل دسترس نخواهد نمود. استفاده از اسید تانیک در سطوح ۱، ۲ و ۳درصد برای کنجاله سویا هم نشان‌دهنده کاهش گاز تولیدی حاصل از بخش محلول کنجاله سویا می‌باشد که نشان‌دهنده کاهش بخش محلول این خوراک در زمان استفاده از اسید می‌باشد(El-Waziry *et al*., 2005).

جدول ۲. مؤلفه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک گاودانه خام و فرآوری‌شده

Table 2. *In situ* degradation parameters of dry matter for untreated and treated bitter vetch

Item		Experimental Diets				
		Tc	T1	T2	SEM	P-value
Degradation parameters	a[1]	14.81[a]	14.23[b]	12.02[c]	0.96	< 0.01
	b[2]	84.29[c]	85.04[b]	86.62[a]	3.64	< 0.01
	c[3]	0.0569[c]	0.0593[b]	0.0631[a]	0.01	< 0.01
ED[4]	*k* = 0.02	77.16[b]	77.83[ab]	77.93[a]	2.12	0.01
	k = 0.05	59.70[b]	60.36[ab]	60.50[a]	1.98	< 0.01
	k = 0.08	49.86	50.46	50.40	3.08	0.06

تیمارهای آزمایشی شامل؛ Tc؛ گاودانه خام، T1؛ گاودانه تیمار شده با اسید استیک، T2؛ گاودانه تیمار شده با اتوکلاو.

1) a: Rapidly degradable fraction. 2) b: Potentially degradable fraction. 3) c: Fractional degradation rate of the potentially degadable fraction (1−*a*), expressed in h−1. [4]ED: Effective degradability with *k* the passage rate from the rumen (0.02, 0.05 and 0.08 h^{-1}). SEM: Standard error of means. Means with different letters in each column are significantly different (*P*<0.05). Tc: raw bitter vetch seed. T1: acetic acid treated bitter vetch seed.T2: autoclaved bitter vetch seed.

جدول ۳. مؤلفه‌های تجزیه‌پذیری پروتئین خام مربوط به گاودانه خام و گاودانه فرآوری‌شده

Table 3. *In situ* degradation parameters of crude protein for untreated and treated bitter vetch

Item		Experimental Diets				
		Tc	T1	T2	SEM	P-value
Degradation parameters	a[1]	7.71[a]	4.65[b]	3.07[c]	0.72	0.02
	b[2]	91.21	93.06	94.03	2.34	0.06
	c[3]	0.082[a]	0.075[b]	0.069[c]	0.01	< 0.01
ED[4]	*k* = 0.02	79.90[a]	79.50[a]	76.05[b]	2.78	< 0.01
	k = 0.05	62.70[a]	62.60[a]	57.65[b]	1.89	< 0.01
	k = 0.08	52.10[a]	51.85[a]	46.65[b]	1.65	< 0.01

تیمارهای آزمایشی شامل مصرف ۱۵۰ گرم در هر کیلوگرم برای؛ Tc؛ گاودانه خام، T1؛ گاودانه تیمار شده با اسید استیک، T2؛ گاودانه تیمار شده با اتوکلاو.

1) a: Rapidly degradable fraction. 2) b: Potentially degradable fraction. 3) c: Fractional degradation rate of the potentially degradable fraction (1−*a*), expressed in h−1. [4]ED: Effective degradability with *k* the passage rate from the rumen (0.02, 0.05 and 0.08 h^{-1}). SEM: Standard error of means. Means with different letters in each column are significantly different (*P*<0.05). Tc: raw bitter vetch seed. T1: acetic acid treated bitter vetch seed.T2: autoclaved bitter vetch seed.

www.SID.ir

Archive of SID

علاوه بر این نشان داده شد که فرآوری کنجاله‌هایی مانند کنجاله کانولا با اسید استیک موجب سخت و مقاوم‌تر شدن بخش‌های پروتئین و کاهش محلولیت پروتئین شده و پتانسیل کاهش قابلیت تجزیه‌پذیری پروتئین را داراست (Khorasani *et al*., 1993). در رابطه با نحوه‌ی تأثیر تیمار حرارتی بر مولفه‌های تجزیه‌پذیری، بکار بردن حرارت کنترل شده از طریق فرآیندهای دناتوریزاسیون و واکنش های میلارد و در نتیجه آن کاهش محلولیت و نرخ تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین، موجب کاهش تجزیه پروتئین در شکمبه می‌شود (Moshtaghi nia & Ingalls, 1992). همچنین ممکن است که به‌کارگیری توأم حرارت و رطوبت بتواند کارایی فرآیندها و واکنش‌های ذکرشده را افزایش دهد. در ارتباط با تأثیر فرآوری منابع پروتئینی با اسیدهای آلی منابع و بررسی‌های اندکی وجود دارد. برخی محققان پیشنهاد کرده‌اند که فرآوری کردن کنجاله کانولا با اسید استیک در افزایش نرخ عبور و گریختن پروتئین موجود در کنجاله از شکمبه به روده کوچک مؤثر بوده است.

در حقیقت فرآوری کنجاله‌های کانولا و سویا با اسیدهای آلی از طریق کاهش اندازه بخش پروتئین خام محلول و کاهش نرخ تجزیه بخش پروتئین خام دارای پتانسیل تجزیه، تجزیه‌پذیری خالص شکمبه‌ای پروتئین خام را کاهش داده است (Khorasani *et al*., 1989; Khorasani *et al*., 1993; El-Waziry *et al*., 2005). به‌نظر می‌رسد در آزمایش حاضر نیز روند کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین ایجادشده توسط انواع فرآوری‌ها مشهود بوده است و این کاهش در مورد اتوکالاو بیشتر بوده است. این تغییر می تواند بر هضم مواد مغذی در بعد از شکمبه نیز تأثیر داشته که در نهایت بر بازدهی دام تأثیرگذار خواهد بود (Waghorn, 2008). نتایج مربوط به اندازه‌گیری فراسنجه‌های شکمبه‌ای از قبیل pH، نیتروژن آمونیاکی و تعداد پروتوزوآ در جدول ۴ ارائه شده است. در همه جیره‌های آزمایشی، pH مایع شکمبه در محدوده ۶/۴۸ تا ۶/۷۹ قرار داشت که در دامنه بهینه (۶/۲-۷/۲) جهت فعالیت بهینه میکروارگانیسم‌های شکمبه قرار داشت (Van Soest, 1994). سطح pH مایع شکمبه، تحت تأثیر هیچ یک از سه تیمار قرار نگرفت (P=۰/۱۵). در تمام جیره‌های آزمایشی، غلظت آمونیاک مایع شکمبه در دامنه بهینه (۸/۵ تا بیش از ۳۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) گزارش شده است (McDonald *et al*., 2011). غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه‌ای در دام‌هایی که گاودانه خام مصرف کرده بودند از نظر عددی بیشتر از غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه‌ای دام هایی بوده است گاودانه فرآوری شده مصرف نموده بودند (P=۰/۰۶). با استفاده از روش تولید گاز نشان داده شده که اتوکلاو کردن دانه کانولا منجر به کاهش بخش نیتروژن غیر پروتئینی (NPN) نسبت به تیمار شاهد شد (Kafilzadeh *et al*., 2013).

تحقیقات دیگر، یافته‌های مشابهی را در مورد اعمال تیمار حرارتی متوسط بر کنجاله کانولا (Moshtaghi nia & Ingalls, 1992) و کنجاله سویا (Demjanec *et al*., 1995) گزارش کرده‌اند. در واقع حرارت موجب تسهیل وقوع واکنش میلارد میان گروه‌های آلدئیدی قندها و گروه‌های دارای اسید آمینه‌های آزاد پروتئین برای تشکیل کمپلکس آمینو-قندی تشکیل می‌شود. این کمپلکس در مقایسه با پپتیدهای طبیعی، مقاومت بیشتری در برابر هیدرولیز آنزیمی دارد (Lin & Kung, 1999).

جدول ۴. غلظت نیتروژن آمونیاکی، pH مایع شکمبه و تعداد پروتوزوآ در گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی

Table 4. Ammonia nitrogen (NH_3-N) concentration, pH value and protozoa counts in fistulated sheep fed experimental diets

Parameters	Experimental diets				
	Tc	T1	T2	SEM	P-value
NH_3-N, mg/dL	14.14	12.34	13.57	1.09	0.06
Rumen pH	6.65	6.79	6.48	0.79	0.15
Protozoa counting ($\times 10^4$)	62.12^c	74.43^b	79.43^a	5.12	0.04

تیمارهای آزمایشی شامل مصرف ۱۵۰ گرم در هر کیلوگرم برای؛ Tc؛ گاودانه خام، T1؛ گاودانه تیمار شده با اسید استیک، T2؛ گاودانه تیمار شده با اتوکلاو.

SEM: standard error of means. Means with different letters in each column are significantly different ($P<0.05$). Tc: diet with 150 g/kg of raw bitter vetch seed. T1: diet with 150 g/kg of acetic acid treated bitter vetch seed.T2: diet with 150 g/kg of autoclaved bitter vetch seed.

www.SID.ir

Archive of SID

این نوع فرآوری همچنین بخش محلول پروتئین خوراک را کاهش داده که موجب کمتر شدن نیتروژن آمونیاکی تولیدی در شکمبه شده و در نهایت باعث کاهش تجزیه پروتئین ساختاری به اسیدهای چرب فرّاری همچون استیک و والریک اسید می‌گردد (Seifdavati & Taghizadeh, 2012). فرآوری خوراک‌ها با اسید استیک در تغذیه گوسفند سبب کاهش غلظت و نرخ تجمع نیتروژن آمونیاکی در شکمبه گردیده است که دلیل آن نرخ پایین‌تر تجزیه پروتئین در داخل شکمبه گزارش گردیده است (Atwal *et al*., 1974). مشخص شده که فرآوری منابع پروتئینی با اسیدهای آلی تولید آمونیاک شکمبه را کاهش می‌دهد. برای مثال، فرآوری کنجاله کانولا با سطوح مختلف اسید استیک منجر به کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی در روش برون‌تنی شده است (Khorasani *et al*., 1989). همچنین گزارش شده که فرآوری کنجاله سویا با اسید پروپیونیک و فرمیک، تجمع نیتروژن آمونیاکی را کاهش داده است (Waltz & Loerch, 1986). در مغایرت با این نتایج، فرآوری کردن کنجاله کانولا با اسید استیک بخش پروتئین محلول موجود در مایع شکمبه گاوهای شیری را در حدود ۴۳ درصد کاهش داد اما بر غلظت‌های نیتروژن آمونیاکی، بی‌تأثیر بوده است (Khorasani *et al*., 1993). تفاوت میان نتایج به‌دست‌آمده را می‌توان به تفاوت در خوراک و یا شرایط فرآوری نسبت داد. همچنین ممکن است بحث همزمان‌سازی منبع نیتروژن و انرژی نیز می‌تواند مطرح باشد. در توضیح این‌که انجام فرآوری ممکن است سبب تغییر همزمان‌سازی منبع نیتروژن و انرژی می‌گردد که در نهایت بر پارامترهای تخمیری شکمبه و به ویژه غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه‌ای و در نهایت بر عملکرد دام تأثیر خواهد گذاشت.

تعداد تک‌یاخته‌های موجود در مایع شکمبه تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت (P=۰/۰۴)، به طوری که مایع شکمبه حاصل از تیمار شاهد و اتوکلاو به ترتیب دارای کمترین و بیشترین تعداد پروتووزوآ بودند. اگرچه جمعیت پروتوزوآ کمتر از جمعیت باکتریایی شکمبه می‌باشند، اما پروتوزوآ در تجزیه پروتئین بسیار مؤثر هستند (Ørskov & Miller, 1988). در یک مطالعه ارتباط و تأثیر پروتوزوآ با تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین خام منابع پروتئینی مانند کنجاله سویا، پودر ماهی و لوبیا در گوسفند مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد پروتوزوآ بر تجزیه بخش تند تجزیه‌شونده یا همان بخش محلول پروتئین (a) بی‌تأثیر بوده اما بر نرخ تجزیه‌پذیری بخش بالقوه قابل تجزیه (b) تأثیر داشته و این فراسنجه‌ها را به میزان معنی‌داری افزایش داده است و بیان شد که میان پروتوزوآ و مقدار و نرخ تجزیه‌پذیری بخش b همبستگی و تأثیر مثبت وجود داشته است و افزایش تعداد پروتوزوآ سبب افزایش نرخ تجزیه‌پذیری بخش b خواهد شد (Ushida & Jouany, 1985). ثبت بالاترین بخش بالقوه قابل تجزیه در تیمار اتوکلاو در آزمایش حاضر نشان داد تیمار اتوکلاو و پس از آن تیمار اسیدی نسبت به تیمار خام در بازه زمانی بیشتری پس از مصرف خوراک، بخش b سوبسترا را برای فعالیت پروتوزوآ فراهم آورده‌اند.

نتایج مربوط به تقسیم‌بندی پروتئین در گاودانه خام و فرآوری‌شده بر اساس سیستم کرنل در جدول ۵ ارائه شده است. نتایج نشان داد تمامی بخش‌های محاسبه شده بر اساس سیستم کرنل در گاودانه خام و فرآوری شده تفاوت نشان داده‌اند به‌گونه‌ای که بخش A در گاودانه خام بیشتر بوده و در مورد فراسنجه‌های دیگر بخش‌های کند تجزیه‌شونده و یا بخش غیر قابل تجزیه در گاودانه‌های فرآوری شده بیشتر بود. پیش‌تر مشخص گردیده است که افزایش بخش NIDP موجود در دانه آفتابگردان در اثر تیمار اتوکلاو گزارش شده است (Mustafa *et al*., 2000). تحقیقات دیگر، یافته‌های مشابهی را در مورد تیمار حرارتی بر روی کنجاله کانولا (Moshtaghi nia & Ingalls, 1992) و کنجاله سویا (Demjanec *et al*., 1995) گزارش کرده‌اند. پیشنهاد شده که تیمار حرارتی بهینه، غلظت پروتئین محلول را به حداقل و NDIP را به حداکثر خواهد رساند، بدون اینکه موجب افزایش قابل توجه در غلظت ADIP گردد (Van Soest, 1989). در واقع حرارت موجب تسهیل وقوع واکنش میلارد یا واکنش غیرآنزیمی قهوه‌ای شدن میان گروه‌های آلدئیدی قندها و گروهای دارای اسید آمینه‌های آزاد پروتئین شده تا یک کمپلکس آمینو-قندی تشکیل دهد. این کمپلکس در مقایسه با پپتیدهای

www.SID.ir

Archive of SID

طبیعی، مقاومت بیشتری در برابر هیدرولیز آنزیمی داشته و برگشت این واکنش به دما و طول مدت قرار گرفتن در معرض حرارت بستگی دارد (Lin & Kung, 1999). تأثیر تیمار کنجاله کانولا با اسید استیک و حرارت بر بخش بندی پروتئین در روش CNCPS تأثیری بر میزان NDIN و ADIN نداشته، اما بخش پروتئینی با سرعت تجزیه بالا (A+B1) تحت تأثیر تیمار اسید استیک قرار گرفت و نسبت به گروه شاهد به میزان معنی‌داری کاهش و در مقابل بخش B۲ به میزان معنی‌داری افزایش یافت (Eghbali *et al.*, 2011) که این مطلب می‌تواند قابلیت هضم کل دستگاه گوارش را نیز در نهایت تأثیر بگذارد (Waghorn, 2008).

نتایج به‌دست‌آمده توسط این محققین نشان می‌دهد اگرچه فرآوری نمودن کنجاله کانولا موجب کاهش بخش‌های محلول پروتئین شده، اما در مورد بخش نامحلول تفاوت معنی‌داری میان تیمارهای حرارتی خشک و اسیدی مشاهده نشد، در نتیجه پیشنهاد کردند که فرآوری کنجاله کانولا یک فاز تأخیری (lag time) در قابلیت حل‌شدن بخش نیتروژنی و یا پروتئینی کنجاله کانولا ایجاد نموده، اما این بخش‌ها را برای میکروب‌های شکمبه‌ای، نامحلول و یا غیر قابل دسترس ننموده است. هم‌راستا با نتایج این تحقیق، نشان داده شده که هر نوع فرآوری منابع پروتئینی پتانسیل کاهش محلولیت پروتئین را دارد (Kirkpatrick & Kennely, 1987). این کاهش حلالیت شاید به یک افزایش در استحکام پیوندهای میان اسیدهای آمینه همچون پیوندهای گوگردی و یا تغییر ساختار پروتئین مرتبط باشد که در نهایت منجر به محلولیت کمتر آن می‌شود (Aldrich *et al*., 1995).

نتایج مربوط به شاخص‌های پروتئین قابل متابولیسم و کیفیت پروتئین (نسبت پروتئین قابل متابولیسم به پروتئین خام) موجود در تیمارهای آزمایشی در جدول ۶ ارائه شده است. همان‌طورکه در بخش تجزیه‌پذیری پروتئین اشاره گردیده بود نتایج حاصل از بررسی قابلیت تجزیه و عبوری بودن پروتئین نیز نشان داد که بخش تند تجزیه شونده در شکمبه (QDP) به‌طور معنی‌داری در گاودانه‌های فرآوری شده نسبت به گاودانه خام کاهش یافت و از طرف دیگر پروتئین قابل تجزیه مؤثر (ERDP) در گاودانه خام نسبت به گاودانه های فرآوری شده بالاتر بود.

جدول ۵. تقسیم‌بندی پروتئین گاودانه خام و دانه فرآوری‌شده بر اساس سیستم پروتئین خالص کرنل (CNCPS)

Table 5. Protein fractions (% crude protein) based on Cornell Net Carbohydrate and Protein System for untreated and treated bitter vetch

Item	Different treatments[1]				
	Tc	T1	T2	SEM	P-value
Protein fractions[2] (g/kg CP)					
A	247.09[a]	224.5[b]	226.8[b]	11.23	0.02
B1	265.55[a]	249.0[b]	207.2[c]	17.19	<0.01
B2	329.41[c]	351.4[b]	376.1[a]	20.91	<0.01
B3	119.68[c]	136[b]	143.2[a]	5.89	<0.01
C	38.28[c]	38.92[b]	46.1[a]	1.45	<0.01

تیمارهای آزمایشی شامل؛ Tc؛ گاودانه خام، T1؛ گاودانه تیمارشده با اسید استیک، T2؛ گاودانه تیمار شده با اتوکلاو.

1) Treatments were; Tc: raw bitter vetch seed. T1: acetic acid treated bitter vetch seed. T2: autoclaved bitter vetch seed.

2) Protein fractions; 1- A: Non-protein nitrogen. 2- B1: rapidly degradable protein. 3- B2: Intermediately degradable protein. 4- B3: Slowly degradable protein. 5- C: unavailable protein. SEM: standard error of means. Means with different letters in each row are significantly different (P<0.05).

جدول ۶. شاخص‌های تجزیه پروتئین در شکمبه (تند تجزیه‌شونده، کند تجزیه شونده، قابل تجزیه مؤثر، غیر قابل تجزیه، و غیر قابل تجزیه و قابل هضم) به همراه پروتئین قابل متابولیسم محاسبه‌شده بر اساس فراسنجه‌های کینتیک تجزیه‌پذیری پروتئین به روش کیسه‌گذاری (درصد از پروتئین خام)

Table 6. Ruminal protein degradation items (QDP, SDP, EDRP, UDP and DUP) and metabolisable protein estimated based on in situ degradation kinetics in rumen (% of crude protein)

Treatments	Items (based on total protein content; DM basis)						
	QDP[1]	SDP[2]	ERDP[3]	UDP[4]	DUP[5]	MP[6]	MP/CP[7]
Tc	1.81[a]	17.22	18.67[a]	4.55[c]	1.29[c]	13.19	55.92
T1	1.09[b]	17.08	17.95[b]	5.42[b]	2.06[b]	13.51	57.26
T2	0.72[c]	16.64	17.22[b]	6.23[a]	2.79[a]	13.77	58.37
SEM	0.21	0.19	0.20	0.18	0.19	0.20	0.89
P-value	0.03	0.14	0.01	0.01	0.02	0.15	0.15

تیمارهای آزمایشی شامل؛ Tc؛ گاودانه خام، T1؛ گاودانه تیمار شده با اسید استیک، T2؛ گاودانه تیمار شده با اتوکلاو.

Tc: raw bitter vetch seed. T1: acetic acid treated bitter vetch seed. T2: autoclaved bitter vetch seed. Items were 1) QDP; quickly degradable protein, 2) SDP; slowly degradable protein, 3) ERDP; effective rumen degradable protein, 4) UDP; un-degradable dietary protein, 5) DUP; digestible un-degradable protein, 6) MP; metabolisable protein, 7) MP/CP; metabolisable protein to crude protein ratio. Means with different letters in each column are significantly different (P<0.05).

www.SID.ir

Archive of SID

با توجه به این‌که این یافته‌ها بر اساس محاسبات این فراسنجه‌ها بر مبنای داده‌های کیسه‌گذاری صورت گرفته است، به هر حال روند تغییرات همانند وضعیت تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمبه بوده است. بخش پروتئین عبوری در گاودانه فرآوری‌شده با اتوکلاو به صورت معنی داری از هر دو تیمار بیشتر بود که نشان دهنده تأثیر اتوکلاو بر عبوری کردن پروتئین موجود در این خوراک بود. همچنین بالا بودن بخش پروتئین قابل هضم عبوری در این خوراک نیز نشان‌دهنده این است که اتوکلاو کردن صرفاً سبب افزایش عبوری کردن از طریق افزایش نیتروژن نامحلول در اسید نمی گردد و این‌که قابلیت دسترسی پروتئین عبوری برای دام نیز بالا خواهد بود. علی‌رغم این‌که پروتئین عبوری و پروتئین عبوری قابل هضم در آزمایش حاضر تحت تأثیر فرآوری قرار گرفته است، اما پروتئین قابل متابولیسم محاسبه‌شده تأثیرپذیری از تیمارهای مختلف نداشته است. به‌نظر می‌رسد هم فرآوری فیزیکی و هم شیمیایی سبب تغییر روند تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمبه و تغییر جایگاه تجزیه‌پذیری می‌گردند و در نهایت بر محتوی پروتئین قابل متابولیسم تأثیری ندارند. به نظر می‌رسد مطالعات بیشتری در مورد تأثیر انواع فرآوری‌ها بر محتوی پروتئین قابل متابولیسم و روند تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای و هم‌چنین روده‌ای پروتئین مربوط به دانه‌های لگومینه نیاز می‌باشد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که فرآوری‌های شیمیایی (اسید استیک) و فیزیکی (اتوکلاو کردن) می‌توانند سبب کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین در گاودانه گردند که در بین دو فرآوری انجام‌شده، تأثیر اتوکلاو بر کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمبه بیشتر از اسید استیک بود. از طرف دیگر این فرآوری‌ها سبب کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی موجود در مایع شکمبه گردید که نشان‌دهنده قابلیت افزایش پروتئین عبوری ناشی از فرآوری‌ها بوده است که بالاترین شاخص پروتئین عبوری از شکمبه در تیمار گاودانه اتوکلاو شده نیز این مطلب را نشان داد.

سپاسگزاری

پژوهش حاضر مستخرج از پژوهش انجام‌شده تحت نظر و امتیاز معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه اراک بوده است که به این ترتیب از حمایت‌های مالی انجام شده توسط این معاونت، تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERNCES

1. Agricultural and Food Research Council. (1992). Energy and Protein requirements of ruminants. *Technical committee on responses to nutrients*. CAB International. Wallingford, U.K.
2. Aguilera, J. F., Bustos, M. & Molina, E. (1992). The degradation of legume seed meals in the rumen: effect of heat treatment. *Animal Feed Science and Technology*, 36, 101-112.
3. Aldrich, C. G., Merchen, N. R., Nelson, D. R. & Barmore, J. A. (1995). The effects of roasting temperature applied to whole soybeans on site of digestion by steers: II. Protein and amino acid digestion. *Journal of Animal Science*, 73, 2131-2140.
4. Association of Official Analytical Chemists. (2000). *Official Methods of Analysis*. (13th ed.). AOAC, Washington, DC.
5. Arabestani, A., Kadivar, M., Shahedi, M. & Goli, S. A. H. (2011). Structural and antioxidant characteristics of bitter vetch and its effect on oxidative indices of sunflower oil. *New Techniques in Food Science*. 2, 3-14. (in Farsi)
6. Atwal, A. S., Milligan, L. P. & Young, B. A. (1974). Effects of volatile fatty acid treatment on the protection of protein in the rumen. *Canadian Journal of Animal Science*, 54, 393-398.
7. Broderick, G. A. & Kang, J. H. (1980). Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media. *Journal of Dairy Science*, 54, 1176-1183.
8. Cros, P., Benchaar, C., Bayourthe, C., Vernay, M. & Moncoulon, R. (1991). *In situ* evaluation of the ruminal and intestinal degradability of extruded whole lupin seed nitrogen. *Journal of Reproduction Nutrition Development*, 31, 575-583.
9. Dehority, B. A. (2003). *Rumen Microbiology*. First published. British Library Cataloguing in Publication Data. Nottingham University Press.
10. Demjanec, B., Merchen, N. R., Cremin, J. D., Aldrich, C. G. & Berger, L. L. (1995). Effect of roasting on site and extent of digestion of soybean meal by sheep: I. Digestion of nitrogen and amino acids. *Journal of Animal Science*, 73, 824-834.

www.SID.ir

Archive of SID

11. Eghbali, F., Kafilzadeh, F., Hozhabri, S., Afshar, M. & Kazemi-Bonchenari, M. (2011). Treating canola meal changes *in situ* degradation, nutrient apparent digestibility and protein fractions in sheep. *Small Ruminant Research*, 96, 136-139.
12. El-Waziry, A. M., Nasser, M. E. A. & Sallam, S. M. A. (2005). Processing methods of soybean meal: 1- Effect of roasting and tannic acid treated-soybean meal on gas production and rumen fermentation in vitro. *Journal of Applied Science Research*, 3, 313-320.
13. Goelema, J. O., Smits, A., Vaessen, L. M. & Wemmers A. (1999). Effects of pressure toasting, expander treatment and pelleting on *in vitro* and *in situ* parameters of protein and starch in a mixture of broken peas, lupins and faba beans, lupins and faba beans. *Animal Feed Science and Technology*, 78, 109-126.
14. Hadad, S. G. (2006). Bitter vetch grains as a substitute for soybean meal for growing lambs. *Livestock Science*, 99, 221-225.
15. Kafilzadeh, F., SahebiAla, M. & Heidary, N. (2013). The effect of physical and chemical treatments of canola seed varieties on crude protein fractions using CNCPS and *in vitro* gas production. *Journal of Agricultural Technology*, 9 (6), 1411-1421.
16. Kazemi-Bonchenari, M., Salem, A.Z.M., & Lopez, S. (2017). Influence of barley grain particle size and treatment with citric acid on digestibility, ruminal fermentation and microbial protein synthesis in Holstein calves. *Animal*, 11, 1295-1302
17. Khorasani, G. R., Robinson, P. H. & Kennelly, J. J. (1989). Effect of chemical treatment on *in vitro* and *in situ* degradation of canola meal crude protein. *Journal of Dairy Science*, 72, 2074-2081.
18. Khorasani, G. R., Robinson, P. H. & Kennelly, J. J. (1993). Effects of canola meal treated with acetic acid on rumen degradation and intestinal digestibility in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 76, 1607-1616.
19. Kirkpatrick, B. K. & Kennely, J. J. (1987). *In situ* degradability of protein and dry matter from single protein sources and from a total diet. *Journal of Animal Science*, 65, 567-576.
20. Licitra, G., Mernandez, T. M. & Van Soest, P. J. (1996). Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 57, 347-358.
21. Lin, C. & Kung, L. (1999). Heat treated soybeans and soybean meal in ruminant nutrition. *Technical Bull*. American Soybean Association & United Soybean Board, 1-18.
22. McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F. D., Morgan, C. A., Sinclair, L. A. & Wilkinson, R. G. (2011). *Animal Nutrition*. 7th edition; Longman Group UK, Harlow, UK, 693.
23. Mohamed, D. E. & Smith, R. H. (1977). Measurement of protein degradation in the rumen. *Proceedings of the Nutrition Society*, 1 (36), 52-59.
24. Moini, M. M., Azari-Torbat, M. & Amanlou, H. (2010). Evaluation the feeding value, degradability and optimum level of bitter vetch in lactating dairy cows. *Animal Production Journal*, 12 (2), 51-59. (in Farsi)
25. Moshtaghi nia, S. A. & Ingalls, J. R. (1992). Effect of heating on canola meal protein degradation in the rumen and digestion in the lower gastrointestinal tract of steers. *Canadian Journal of Animal Science*, 72, 83-88.
26. Mustafa, A. F., Christensen, D. A., McKinnon, J. J. & Newkirk, R. (2000). Effects of stage of processing of canola seed on chemical composition and protein quality of canola products for ruminants. *Canadian Journal of Animal Science*, 80, 211-214.
27. National Research Council. (2007). *Nutrient requirements of small ruminants*: *Sheep, goats, cervids and new world camelids*. National Academy Press, Washington DC.
28. Okba, M. M., Abdel-Jaleel, G. A., Yosif, M. F. & ElDeeb, J. S. (2017). Vicia ervilia L. seeds newly explored biological activities. *Cogent Biology*, 3, 1299-1307.
29. Olawoye, B. T., Gbadamosi, A. O., & Yildiz, F. (2017). Effect of different treatments on *in vitro* protein digestibility, antinutrients, antioxtidant properties and mineral composition of Amaranthus viridis seed. *Cogent Food and Agriculture*, 3, 1296-1302.
30. Ørskov, E. R. & McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighed according to rate of passage. *Journal of Agriculture Science (Camb.)*, 92, 499-503.
31. Ørskov, E. R. & Miller, E. L. (1988). *Protein evaluation in ruminants*. In: Ørskov E.R. (Edition) Feed Science. Netherlands: Elsevier Science Publishers BV, 103-127.
32. Petterson, D. S. & Mackintosh, J. B. (1994). The chemical composition and nutritive value of Australian grain legumes. *Grain Research and Development Corporation, Canberra*, 13-16.
33. Robinson, P. H. & McNiven, M. A. (1993). Nutritive value of raw and roasted sweet white lupins (*lupinus albus*) for lactating dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 43, 275-290.
34. Sadeghi, G. H., Pourreza, J., Samei, A. & Rahmani, H. (2009). Chemical composition and some anti-nutrient content of raw and processed bitter vetch (*Vicia ervilia*) seed for use as feeding stuff in poultry diet. *Tropical Animal Health and Production*, 41, 85-93.

www.SID.ir

Archive of SID

35. Seifdavati, J. & Taghizadeh, A. (2012). Effects of moist heat treatment on ruminal nutrient degradability of and *in vitro* intestinal digestibility of crude protein from some of legume seeds. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 10 (2), 390-397.
36. Tamminga, S., van Vuuren, A. M., van der Koelen, C. J., Ketelaar, R. S. & van der Togt, P. L. (1990). Ruminal behavior of structural carbohydrates, non-structural carbohydrates and crude protein from concentrate ingredients in dairy cows. *Netherlands Journal of Agriculture Science*, 38, 513-526.
37. Ushida, K. & Jouany, J. P. (1985). Effect of protozoa on rumen protein degradation in sheep. *Reproduction Nutrition Development*, 25 (6), 1075-1081.
38. Van Soest, P. J. (1989). On the digestibility of bound N in distiller's grains: A reanalysis Procedure. *Cornell Nutrition Conference*. Syracuse, NY. pp. 185-189.
39. Van Soest, P. J. (1994). *Nutritional ecology of the ruminant*. 2nd edition; Ithaca: Cornell University Press.
40. Van Straalen, W.M. & Tamminga S. (1990). *Protein degradation in ruminant diets*. In: Wiseman J., Cole D.J.A. (Editions.), Feed Evaluation. Butterworth, London, 55-72.
41. Vincini, J. L., Clark, J. H. & Crooker, B. A. (1983). Effectiveness of acetic acid and formaldehyde for preventing protein degradation in the rumen. *Journal of Dairy Science*, 66, 350-358.
42. Waltz, D. M. & Loerch, S. C. (1986). Effect of acid and alkali treatment of soybean meal on nitrogen utilization by ruminants. *Journal of Animal Science*, 1 (63), 879-887.
43. Waghorn, G. C. (2008). Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production-Progress and challenges. *Animal Feed Science and Technology*, 147, 116-139.

www.SID.ir