تحقیقات تولیدات دامی
سال چهارم/شماره اول/بهار ۱۳۹۴ (۹۳-۷۹)

اثر سیلو کردن پوست انار بر ترکیبات شیمیایی، فراسنجه‌های تولید گاز و تولید توده میکروبی در شرایط برون‌تنی

علی حاتمی[۱]، داریوش علیپور[۲*]، میثم طباطبایی[۳]، فردین هژبری[۴]

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا
۲- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا
۳- استادیار گروه امنیت زیستی و زیست‌فناوری میکروبی، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران
۴- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی

(تاریخ دریافت: ۹۳/۵/۲۹ - تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۱/۱۴)

چکیده

این پژوهش به منظور مقایسه ترکیبات شیمیایی، فراسنجه‌های تولید گاز، گوارش‌پذیری برون‌تنی ماده خشک و دیواره سلولی و تولید توده میکروبی در پوست انار سیلو شده و خشک شده با چهار تکرار انجام شد. پروتئین خام، خاکستر خام، دیواره سلولی، دیواره سلولی بدون همی‌سلولز پوست انار سیلو شده (به ترتیب ۵۱، ۴۸/۴، ۲۹۹/۹ و ۱۷۳/۷ گرم در کیلوگرم ماده خشک) در مقایسه با پوست خشک شده آن (به ترتیب ۳۶/۵، ۳۷/۵، ۲۲۱/۹ و ۱۵۰/۲ گرم در کیلوگرم ماده خشک) بالاتر (P<۰/۰۵) و کربوهیدرات‌های غیرفیبری (۵۸۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک) آن پایین‌تر بود (P<۰/۰۵). سیلو کردن باعث کاهش کل ترکیبات فنولی (۱۹۱/۱۷ در مقابل ۲۵۵/۳ معادل گرم اسید تانیک بر کیلوگرم ماده خشک)، کل تانن‌ها (۱۶۲/۴ در مقابل ۲۱۹ معادل گرم اسید تانیک بر کیلوگرم ماده خشک) و ترکیبات فنولی غیرتاننی (۲۹/۳ در مقابل ۳۶/۲ معادل گرم اسید تانیک بر کیلوگرم ماده خشک)، pH (۳/۶۹ در مقابل ۳/۹۲) و کربوهیدرات‌های محلول در آب (۲۴/۶ در مقابل ۳۴/۵ گرم در کیلوگرم ماده خشک) شد، اما ظرفیت بافری، غلظت آمونیاک و اسید لاکتیک را در پوست انار افزایش داد (P<۰/۰۵). تولید گاز، انرژی قابل متابولیسم و غلظت اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (۰/۷۲۳ در مقابل ۱/۰۲۳ میلی‌مول) در پوست انار خشک شده بالاتر بود (P<۰/۰۵). گوارش‌پذیری برون‌تنی دیواره سلولی، ضریب تفکیک، تولید توده میکروبی، بازده تولید توده میکروبی و غلظت آمونیاک شکمبه‌ای در پوست انار سیلو شده بالاتر بود (P< ۰/۰۵). هرچند سیلو کردن تا حدی باعث کاهش ترکیبات فنولیک شد اما ارزش غذایی پوست انار را در مقایسه با خوراک خشک شده بهبود نبخشید.

واژه‌های کلیدی: پوست انار، تانن، توده میکروبی، سیلاژ، گوارش‌پذیری برون‌تنی

* نویسندهٔ مسئول: alipourd@basu.ac.ir

مقدمه

ایران خاستگاه اصلی درخت انار (*Punicagranatum*, *Punicaceae*) است و حدود ۴۷ درصد انار جهان در ایران تولید می‌شود (FAO, 2010). در سال ۱۳۹۰ سطح زیر کشت انار بارور (۷۰۲۴۶ هکتار) و غیر بارور (۱۸۸۲۰ هکتار) در کشور ۸۹۰۶۶ هکتار و میزان تولید آن ۹۰۸۵۵۰ تن بود (آمارنامه محصولات کشاورزی و دامی، ۱۳۹۰). با احتساب اینکه تقریباً ۵۰ درصد انار تولیدی کشور وارد فرآیند تولید فرآورده‌های صنعتی شده و حدود ۵۰ درصد میوه انار را پوست تشکیل می‌دهد، میزان تولید پوست انار در سال ۱۳۹۰ حدود ۲۲۷۱۳۷ تن برآورد می‌شود که بخش عمده‌ای از آن بدون استفاده باقی می‌ماند و باعث آلودگی‌های زیست محیطی می‌شود. با توجه به هزینه بالای خوراک در صنعت دامپروری، استفاده از پسماندهای محصولات کشاورزی روشی مناسب برای کاهش هزینه تغذیه دام محسوب می‌شود و از طرفی می‌تواند رقابت غذایی بین انسان و دام‌ها و همچنین مشکلات زیست محیطی را کاهش دهد. در یک پژوهش گزارش شد که تغذیه پوست تازه انار به صورت کافه تریا به گوساله‌های گوشتی خوراک مصرفی را افزایش داده و اضافه وزن روزانه نیز تمایل به افزایش داشته است (Shabtayv *et al.*, 2008). آن‌ها همچنین پیشنهاد کردند که خاصیت آنتی‌اکسیدانی پوست انار ممکن است عملکرد ایمنی را بهبود بخشد و بر سلامت گوساله‌ها موثر باشد. اما تغذیه با عصاره‌های انار برای گوساله‌های جوان در ۷۰ روز اول زندگی باعث کاهش مصرف کنسانتره و گوارش‌پذیری چربی و پروتئین شد (Oliveira *et al.*, 2010). استفاده از عصاره تغلیظ شده بقایای میوه انار آبگیری شده به میزان ۴ درصد جیره گاوهای شیری باعث افزایش خوراک مصرفی، افزایش تولید شیر و افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی شیر و کاهش سلول‌های سوماتیکی شیر شده است (Shabtay *et al.*, 2012).

پوست انار دارای مقدار زیادی ترکیبات فنولی است (Gözlekçi *et al.*, 2011). تانن‌ها گروهی از ترکیبات پلی‌فنولی هستند که ممکن است اثرات مفید و مضری داشته باشند (Frutos *et al.*, 2004). تانن‌ها می‌توانند با پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و مواد معدنی باند شوند و باعث کاهش گوارش‌پذیری آن‌ها شوند و همچنین به علت مزه گس و خاصیت قابضی که دارند باعث کاهش خوراک مصرفی شوند و عملکرد دام را کاهش دهند (Barry and Manley, 1984; Reed, 1995). از جمله اثرات سودمند این ترکیبات می‌توان به ممانعت از بروز نفخ، کاهش انگل‌های روده‌ای و همچنین جلوگیری از تجزیه بیش از حد پروتئین‌های باکیفیت در شکمبه و افزایش جریان اسیدهای آمینه ضروری به روده اشاره نمود که باعث افزایش عملکرد و بازده تولید می‌شوند (Barry and Manley, 1984; Barry *et al.*, 1986; Wang *et al.*, 1994; Niezen *et al.*, 1993; Min *et al.*, 2003). تولید فرآورده‌های صنعتی میوه انار (کنسانتره، آب، شربت و رب و...) محدود به فصل برداشت انار می‌باشد. بنابراین بهینه‌سازی استفاده از پوست انار در صنعت دامپروری، نیازمند روش‌های نگهداری مناسب می‌باشد. با توجه به رطوبت بالای پوست انار تهیه مواد سیلو شده می‌تواند راهکار مناسبی برای نگهداری طولانی‌مدت و کاهش اثرات ضد تغذیه‌ای تانن‌ها باشد.

دیواره سلولی (NDF) و دیواره سلولی بدون همی‌سلولز (ADF) سیلاژ پوست انار در یک پژوهش به ترتیب ۱۳/۶ و ۸/۶ درصد ماده خشک سیلاژ گزارش شده است (Taher-Maddah *et al.*, 2012a). اما در مطالعه دیگری به ترتیب ۳۹/۸ و ۳۱/۶ درصد ماده خشک گزارش شده است (Ebrahim Pour *et al.*, 2014). میزان انرژی قابل متابولیسم سیلاژ پوست انار در این دو مطالعه به ترتیب ۸/۵۸ و ۷/۶۹ مگاژول بر کیلو گرم ماده خشک گزارش شده است.

با توجه به گزارش‌های متفاوت، ترکیبات شیمیایی سیلاژ پوست انار و عدم وجود داده‌هایی مبنی بر فراسنجه‌های تخمیری سیلاژ پوست انار از قبیل محتوای کربوهیدارت‌های غیرساختمانی، اسید لاکتیک و نیتروژن آمونیاکی و همچنین اثرات سیلو کردن بر گوارش‌پذیری ماده خشک و دیواره سلولی و همچنین بر محتوای ترکیبات فنولی، تولید توده میکروبی و بازده سنتز توده میکروبی، این پژوهش برای نیل به اهداف بالا انجام شد.

مواد و روش‌ها

پوست انار مورد استفاده در این پژوهش از کارخانه سحر همدان تهیه شد. سپس با چاپر به قطعات ۲۰- ۳۰ میلی-متری خرد شد. پوست (فاقد هسته دانه) انار خرد شده داخل سیلوهای کوچکی از جنس پلی وینیل کلرید (PVC) با طول ۷۰ و قطر ۱۵ سانتی‌متر و گنجایش ۱۲ کیلوگرم در چهار تکرار به مدت ۷۰ روز سیلو شد. همچنین مقداری از پوست تازه انار به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۵۵-۶۰ درجه سانتی‌گراد در چهار تکرار خشک شد. pH نمونه‌ها به روش MAFF/ADAS (1986) که به وسیله Faithfull (2002) بازنگری شده است اندازه‌گیری شد.

برای تعیین خصوصیات تخمیری از نمونه‌ها (پوست تازه انار و سیلاژها) عصاره‌گیری شد. تنها در این بخش از آزمایش از پوست تازه انار استفاده گردید. برای این منظور ۲۵ گرم از نمونه تر توزین و ۲۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر به آن افزوده شد و به مدت دو دقیقه با هموژنایزر مخلوط شدند. سپس به وسیله پارچه متقال چهار لایه صاف شدند و مایع صاف شده برای تعیین اسید لاکتیک (Taylor, 1996)، کربوهیدرات‌های محلول در آب با استفاده از عصاره آبی آنترون (MAFF, 1982) در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

برای اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی ۲۰ گرم از نمونه تر توزین و داخل ارلن‌های دربسته ریخته شد، سپس ۶۰ میلی‌لیتر کلرید پتاسیم ۲ مولار به آنها افزوده شد و حدود سی دقیقه بهم زده شد و پس از آنبا استفاده از کاغذ واتمن ۵۴ فیلتر شد. نیتروژن آمونیاکی به روش فنول هیپوکلریت اندازه‌گیری گردید (Broderick and Kang, 1980). در این روش ۵۰ میکرولیتر نمونه را با ۲/۵ میلی‌لیتر محلول فنول و ۲ میلی-لیتر محلول هیپوکلریت مخلوط کرده و سپس به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد در حمام آب گرم قرار گرفت. پس از خنک شدن با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۶۳۰ نانومتر قرائت انجام شد. استاندارد بکار رفته در این روش سولفات آمونیوم بود که استانداردها به صورت میلی‌مول تهیه شده بودند، بنابراین نمودار کالیبراسیون استانداردها بر اساس میلی‌مول بود و متعاقباً غلظت نمونه‌ها هم برحسب میلی مول بدست آمد. لذا با ضرب کردن جرم مولکولی آمونیاک در میلی‌مول بدست آمده، نتایج به میلی‌گرم تبدیل شدند. در پایان وزن نمونه تر، درصد ماده خشک آن، درصد کل نیتروژن آن و حجم کلرید پتاسیم ۲ مولار بکار رفته در عصاره‌گیری به منظور محاسبه نیتروژن آمونیاکی (به صورت گرم بر کیلوگرم نیتروژن کل) دخالت داده شدند. ظرفیت بافری پوست تازه و سیلاژها به روش Moharrery (2007) تعیین شد. در این روش، نمونه‌ها به صورت تر به مقداری برداشته شدند که حدود ۰/۵ گرم ماده خشک را شامل شود. سپس داخل یک بشر ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته شدند و ۳۰ میلی-لیتر آب مقطر به آن افزوده گردید و پس از دو دقیقه pH اولیه نمونه‌ها یادداشت شد. ظرفیت بافری با تیتر کردن محلول ۳۰ میلی‌لیتری تحت شرایط همزن مغناطیسی با سود (هیدروکسید سدیم) ۱ نرمال تا زمانی که pH محلول به ۷ برسد اندازه‌گیری شد. ظرفیت بافری تحت معادله زیر به میلی‌اکی‌والان بر لیتر تبدیل شد:

ظرفیت بافری (میلی‌اکی‌والان بر لیتر) = ۱ نرمال سود میلی‌لیتر $\times 10^{3}/30$

ماده خشک، پروتئین خام، عصاره اتری و خاکستر خام طبق توصیه AOAC (1990) تعیین شد. مقدار NDF و ADF با روش Van Soest *et al*. (1991) تعیین و برای اندازه‌گیری دیواره سلولی از سولفیت سدیم استفاده شد.

کربوهیدرات‌های غیر فیبری با استفاده از معادله زیر محاسبه شدند (NRC, 2001):

NFC% = 100 - درصد (دیواره سلولی + خاکستر خام + پروتئین خام + عصاره اتری)

مقدار کل ترکیبات فنولی (TP) با استفاده از فولین-سیوکالتو اندازه‌گیری شد (Makkar, 2000a). ترکیبات فنولی غیرتانینی (NTP) به دنبال جذب تانن‌ها با پلی وینیل پلی پیرولیدون نامحلول تعیین، و کل تانن‌ها (TT) از کسر ترکیبات فنولی غیرتانینی از کل ترکیبات فنولی محاسبه شدند. برای سنجش کل ترکیبات فنولی، کل تانن و ترکیات فنولی غیرتانینی اسید تانیک به عنوان استاندارد بکار رفت.

آزمون تولید گاز به روش برون تنی

آزمون تولید گاز به روش Menke and Steingass (1988) انجام شد. مایع شکمبه از سه راس گوسفند نر مهربان که روزانه در دو نوبت (۸ صبح و ۴ بعد از ظهر) با جیره حاوی ۶۵۰ گرم یونجه و ۳۵۰ گرم کنسانتره تغذیه می‌شدند، از طریق کانولای شکمبه‌ای جمع‌آوری شد. مایع شکمبه داخل فلاسک پر شده از گاز دی اکسید کربن ریخته و به آزمایشگاه منتقل شد. مایع شکمبه با چهار لایه پارچه متقال صاف شد و به نمونه‌های خوراکی که قبلا به صورت سه تایی توزین (۲۰۰ میلی گرم) و داخل سرنگ‌ها قرار داده شده بودند، ۳۰ ملی‌لیتر محلول بافر- مایع شکمبه تزریق گردید. پیستون سرنگ‌ها از قبل به وازلین بدون اسانس آغشته شده بودند. پس از هواگیری و یادداشت کردن زمان صفر، سرنگ-ها داخل حمام آب گرم (دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شدند.

به سه سرنگ فاقد مواد خوراکی که اولین و آخرین و سرنگ وسط را تشکیل می‌دادند تنها محلول بافر-مایع شکمبه اضافه شده و به عنوان شاهد در نظر گرفته شد و در انتهای آزمون میانگین گاز تولیدی این سه سرنگ از گاز تولیدی سرنگ‌های حاوی نمونه‌ها کسر گردید. تولید گاز در زمان‌های ۰، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۰، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶، ۱۲۰ و ۱۴۴ ساعت یادداشت شد. آزمون تولید گاز در سه نوبت جداگانه انجام شده و پارامترهای تولید گاز با استفاده از مدل France *et al*. (2000) برآورد شدند.

$$G= A\ (1-e^{-c(t-L)})$$

G (میلی‌لیتر به ازای گرم ماده‌ی خشک): تولید گاز در زمان t و A (میلی‌لیتر به ازای گرم ماده‌ی خشک): پتانسیل تولید گاز، c (بر ساعت): نرخ تولید گاز و L: زمان تاخیر (ساعت) و از آنجایی که زمان تاخیر در تمام تیمارها نزدیک به عدد صفر بود در جداول گزارش نشد.

گوارش‌پذیری و فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای در شرایط برون‌تنی

برای تعیین گوارش‌پذیری و فراسنجه‌های تخمیری نمونه‌ها، آزمون گاز جداگانه‌ای در سه تکرار و در سه نوبت طراحی شد. در این آزمایش ۵۰۰ میلی گرم نمونه خوراکی داخل سرنگ‌ها قرار داده شده و ۴۰ میلی‌لیتر بافر مایع شکمبه به سرنگ‌ها تزریق شدند. در این آزمایش نیز در سه سرنگ تنها بافر مایع شکمبه به عنوان شاهد افزوده شد تا تصحیح گازها و مواد هضم نشده از بافر شکمبه انجام گیرد. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون تولید گاز یادداشت گردید و برای متوقف کردن فعالیت‌های تخمیری، سرنگ‌ها داخل ظرف حاوی یخ قرار داده شدند. محتویات سرنگ‌ها داخل کیسه‌های پلی استر با قطر منافذ ۴۰ میکرون که قبلاً توزین شده بودند ریخته شد. مقداری از مایع فیلتر شده به منظور اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی برداشته شد و به ازای هر ۱۵ میلی‌لیتر مایع فیلتر شده حدود یک میلی‌لیتر اسید هیدروکلریدریک ۶ نرمال افزوده شد و در دمای ۲۰- نگهداری گردید. بعد از فیلتراسیون، بقایای حاوی سرنگ‌ها در آون با دمای ۶۰-۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد و پس از خشک شدن، توزین شدند و گوارش‌پذیری ظاهری ماده خشک محاسبه شد. سپس کیسه‌ها در محلول شوینده خنثی همراه با سولفیت سدیم به مدت یک ساعت جوشانده شدند. سپس کیسه‌ها خارج، و چندین بار با آب مقطر شستشو داده شدند و در آون در دمای ۵۵-۶۰ به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند و گوارش‌پذیری حقیقی ماده خشک طبق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$IVTD = \frac{\text{پلاتک} - \text{مقدار ماده خشک پس از جوشاندن در محلول شوینده خنثی} - \text{مقدار ماده خشک انکوبه شده}}{\text{مقدار ماده خشک انکوبه شده}}$$

$$dNDF = \frac{\text{پلاتک} - \text{مقدار دیواره سلولی سوبسترا پس از جوشاندن در محلول} - \text{مقدار دیواره سلولی سوبسترا}}{\text{مقدار دیواره سلولی سوبسترا}}$$

IVTD: گوارش‌پذیری حقیقی ماده خشک، dNDF: گوارش-پذیری دیواره سلولی.

ضریب تفکیک[1] به صورت میلی‌گرم ماده هضم شده واقعی بخش بر میلی‌لیتر گاز تولیدی در ۲۴ ساعت انکوباسیون

[1]Partitioning factor

محاسبه شد (Blümmel *et al*., 1997). تولید توده میکروبی و راندمان تولید توده میکروبی به روش برون‌تنی با استفاده از معادله‌های زیر محاسبه شدند (Blümmel, 2000):

(۲/۲ × گاز تولیدی) − ماده آلی هضم شده واقعی = تولید توده میکروبی

$$\frac{\text{(۲/۲ × گاز تولیدی) − ماده آلی هضم شده واقعی}}{\text{ماده آلی هضم شده واقعی}} = \text{بازده تولید توده میکروبی}$$

۲/۲: فاکتور استوکیومتریکی برای علوفه‌ها

انرژی قابل متابولیسم (ME) و گوارش‌پذیری ماده آلی (OMD) با معادله‌های Menke *et al*. (1979) و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر(SCFA) با استفاده از معادله Makkar (2005) برآورد شدند:

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

$$OMD(g/100\ g\ DM) = 14.88 + 0.889 \times Gp + 0.45 \times CP + 0.0651 \times XA$$

$$SCFA\ (mmol) = 0.0222 \times GP - 0.00425$$

CP: پروتئین خام (درصد ماده خشک)، GP: گاز تولیدی خالص در انکوباسیون ۲۴ ساعته (میلی‌لیتر بر ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک)، XA: خاکستر خام (درصد ماده خشک). تجزیه و تحلیل داده‌ها با چهار تکرار با استفاده از آزمون T برای نمونه‌های مستقل با رویه T-TEST و نرم افزار SAS (2004) صورت گرفت.

نتایج و بحث

ترکیبات شیمیایی سیلاژ و پوست خشک شده انار در جدول ۱ نشان داده شده است. میزان ماده خشک سیلاژ پوست انار از مقادیر گزارش شده به وسیله Shabtay*et al*. (2008) و Ebrahim Pour *et al*. (2014) بیشتر و از Taher-Maddah *et al*. (2012a) کمتر بود. کمتر بودن این مقدار نسبت به مطالعه Taher-Maddah*et al*. (2012a) ممکن است به علت نحوه جدا کردن دانه از پوست باشد که در مطالعه این پژوهشگران پوست انار از مزارع سنتی جمع‌آوری شده بود که معمولاً در این حالت میوه انار کمتر شستشو می‌شود؛ این عمل ممکن است بر میزان ماده خشک پوست انار موثر باشد. میزان پروتئین خام، خاکستر خام، NDF و ADF سیلاژ و پوست خشک شده انار در پژوهش حاضر از سیلاژ و تفاله انگور (Alipour and Rouzbehan, 2007) و سیلاژ و محصولات فرعی پسته تازه (مختارپور و همکاران،۱۳۹۱) و سیلاژ ساقه و برگ درخت موز (شکیب و یوسف الهی، ۱۳۹۱) کمتر بود.

سیلو کردن باعث افزایش پروتئین خام، خاکستر خام، NDF و ADF شد، اما کربوهیدرات‌های غیرفیبری در طول فرآیند سیلو کردن کاهش یافتند (P<۰/۰۵)، که با نتایج Shabtay*et al*. (2008) موافق است. همچنین سیلو کردن تفاله انگور باعث افزایش NDF و ADF شده است (Alipour and Rouzbehan, 2007). سیلو کردن برگ بلوط باعث افزایش غلظت دیواره سلولی آن شده است (Makkar and singh, 1993). گزارش شده است که سیلو کردن محصولات فرعی پسته تاثیری بر غلظت NDF و ADF آن‌ها نداشته است (مختارپور و همکاران، ۱۳۹۱). اما سیلو کردن ساقه و برگ درخت موز باعث کاهش غلظت NDF و ADF آن شده است (شکیب و یوسف الهی، ۱۳۹۱). افزایش ترکیبات فوق ممکن است به علت تخمیر گسترده کربوهیدرات‌های غیرفیبری بویژه کربوهیدرات‌های محلول در آب طی فرآیند سیلو کردن باشد، منجر به کاهش مقدار آن‌ها در سیلاژ شده، که در پی آن درصد ترکیبات بالا افزایش یافته است. از طرفی ممکن است مقداری از مواد مغذی محلول به شکل گاز یا به صورت پساب از سیلاژ خارج شوند، لذا غلظت اجزای تشکیل دهنده دیواره سلولی در طول سیلو کردن افزایش یابد (McDonald *et al*., 1991). پروتئین خام سیلاژ پوست انار در پژوهش حاضر از نتایج Shabtay *et al*. (2008) پایین‌تر بود که این ممکن است به علت پایین‌تر بودن پروتئین خام پوست انار تازه پژوهش حاضر (۳/۶۸ درصد ماده خشک) نسبت به مطالعه(Shabtay *et al*. (2008 (۵/۸ درصد ماده خشک) باشد. اما پروتئین خام سیلاژ تحقیق حاضر از مطالعات Taher-Maddah *et al*. (2012a) و Ebrahim Pour *et al*. (2014) بالاتر بود.

با توجه به اینکه پسماند محصولات کشاورزی از فرآوری خوراک‌های انسانی حاصل می‌شوند، ترکیبات آن‌ها به ترکیبات مواد گیاهی اصلی، روش‌های فرآوری و نوع

ترکیباتی که استخراج و یا حذف می‌شوند بستگی دارند (Depetes*et al.*, 1997). به طور کلی تفاوت در ترکیبات شیمیایی سیلاژ پوست انار در تحقیق حاضر با نتایج برخی از پژوهشگران می‌تواند به علت تفاوت در ترکیبات شیمیایی پوست انار اولیه و شرایط سیلو کردن باشد.

مقدار TP پوست انار در این پژوهش ۲۵۵ گرم در کیلوگرم ماده خشک بود (جدول ۲) که با نتایج Li *et al.* (2006) که ترکیبات فنولی پوست انار را ۲۴۹ گرم بر کیلوگرم ماده خشک گزارش کردند، مطابقت داشت.

جدول۱- ترکیبات شیمایی پوست انار خشک و سیلو شده (گرم بر کیلوگرم ماده خشک، بجز برای ماده خشک، گرم بر کیلوگرم وزن تازه)

Table 1. Chemical compositions of dried and ensiled pomegranate peel (g kg^{-1} DM, except DM g kg^{-1}fresh weight)

Treatments	Parameters†						
	DM	CP	Ash	NDF	ADF	EE	NFC
Ensiled pomegranate peel	327.9^{b}	51.0^{a}	48.4^{a}	299.9^{a}	173.7^{a}	19.7	580.8^{b}
Dried pomegranate peel	952^{a}	36.5^{b}	37.5^{b}	221.9^{b}	150.2^{b}	15.1	688.9^{a}
SEM	0.968	0.250	0.612	3.929	1.336	1.874	3.796
P-value	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0011	0.2214	<0.0001

† DM: dry matter; CP: crude protein; NDF: neutral detergent fiber; ADF: acid detergent fiber; EE: ether extract; NFC: non fiber carbohydrates, SEM: standard errors of means. Means in a column with different letters differs significantly (P<0.05).

جدول ۲- ترکیبات فنولی کل و تانن کل و ترکیبات فنولیکی غیرتانني پوست انار خشک و سیلو شده

Table 2. Total phenols (TP), total tannins (TT) andnon-tannin phenols (NTP) of dried and ensiled pomegranate peel

Treatments	Parameters†		
	TP	TT	NTP
Ensiled PP	191.7^{b}	162.4^{b}	29.3^{b}
Dried PP	255.3^{a}	219.0^{a}	36.2^{a}
SEM	2.485	2.232	2.161
P-value	<0.0001	<0.0001	0.0849

†Total phenols, total tannins and non-tannin phenols as g of tannic acid equivalents kg^{-1} DM. PP: pomegranate peel. SEM: standard errors of means. Means in a column with different letters differs significantly (P<0.05).

میزان TP پوست انار از ۱۷۵ تا ۳۵۴ گرم در کیلوگرم ماده خشک بیان شده است (Gözlekçi *et al.*, 2011). میزان ترکیبات فنولی ممکن است تحت تاثیر شرایط محیطی، نوع گونه و شرایط برداشت و ذخیره‌سازی قرار گیرد (Van Soest, 1994; Frutos*et al.*, 2004; Gözlekçi*et al.*, 2011). سیلو کردن باعث کاهش ترکیبات فنولی و تانن‌ها شد (P<۰/۰۵). همچنین گزارش شده است که سیلو کردن تفاله انگور(Alipour and Rouzbehan, 2007) و سورگوم با تانن بالا (Oliveira *et al.*, 2009) باعث کاهش ترکیبات فنولی آن‌ها شده است.کاهش ترکیبات فنولی و تانني در طی سیلو کردن ممکن است به علت پلیمریزاسیون

میزان TT سیلاژ پوست انار در این پژوهش ۱۶۲/۴ گرم در کیلوگرم ماده خشک بود که از مقدار گزارش شده به‌وسیله فیضی و همکاران (۱۳۸۵) (۲۰۶/۲گرم در کیلوگرم) کمتر بود.

(Makkar and Singh, 1993) و اکسیداسیون تانن‌ها (Ben Salem *et al*., 2005) باشد.

همانطور که در جدول ۳ نشان داده شده است سیلو کردن پوست انار باعث افزایش ظرفیت بافری، نیتروژن آمونیاکی و اسید لاکتیک شد، اما کربوهیدرات‌های محلول در آب و pH را کاهش داد (*P*<۰/۰۵). تاکنون این خصوصیات تخمیری سیلاژ پوست انار به وسیله پژوهشگران دیگری گزارش نشده است. کاهش کربوهیدرات‌های محلول در آب و pH در سیلو-ها ممکن است به علت تخمیر گسترده کربوهیدرات‌های محلول در آب به وسیله باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک باشد که اسیدهای آلی تولید می‌کنند و باعث کاهش pH سیلو می‌شوند (McDonald *et al*., 2011). افزایش سطوح پروتئین خام و خاکستر خام می‌تواند باعث افزایش ظرفیت بافری علوفه‌ها در طول سیلو کردن شود (McDonald *et al*., 1991). در این پژوهش pH پوست انار و سیلاژ آن به ترتیب برابر با ۳/۹۲ و ۳/۶۹ بود (جدول شماره ۳). میزان pH پایین پوست انار ممکن است به علت وجود اسیدهای آلی در آن باشد. گزارش شده است که پوست انار حاوی اسیدهای آلی سیتریک، مالیک، اگزالیک و سوکسینیک می‌باشد (Dafny-Yalin *et al*., 2010).

جدول ۳- خصوصیات تخمیری پوست انار تازه و سیلو شده

Table 3. Fermentation characteristics of fresh and ensiled pomegranate peel.

Treatments	pH	lactic acid (g kg^{-1}DM)	Ammonia (g kg^{-1} total N)	WSC† (g kg^{-1}DM)	BC†† (meq^{-1} L)
Ensiled pomegranate peel	3.69^{b}	42.7^{a}	97.0^{a}	24.6^{b}	12.73^{a}
Fresh pomegranate peel	3.92^{a}	0.162^{b}	52.0^{b}	34.5^{a}	8.79^{b}
SEM	0.0104	0.6111	3.56	0.523	0.2484
P-value	<0.0001	<0. 0001	0.0009	<0. 0001	<0. 0001

† WSC: water soluble carbohydrates
†† BC: buffering capacity
Means in a column with different letters differs significantly (*P*<0.05).

واکنش‌های پروتئولایتیک یک رخداد غیرقابل انکار در فرآیند سیلو کردن می‌باشند که حتی ممکن است بیش از ۷۵ درصد پروتئین حقیقی علوفه‌ها در روزهای اولیه سیلو کردن تحت تاثیر پروتئازهای گیاهی و میکروبی به نیتروژن غیرپروتئینی تبدیل شوند (Rooke and Hatfield, 2003; Hassanat *et al*., 2006). نیتروژن آمونیاکی سیلاژ پوست انار (۹/۷ درصد نیتروژن کل) در حد قابل قبولی بود. پیشنهاد شده است که نیتروژن آمونیاکی در یک سیلاژ خوب نباید بیش از ۱۰ درصد کل نیتروژن موجود در آن سیلاژ باشد (McDonald *et al*., 2011). پتانسیل تولید گاز پوست انار نسبت به پوست انار خشک شده کربوهیدرات‌های غیرفیبری بالاتر و دیواره سلولی پایین‌تری داشت (Taher-Maddah *et al*. 2012a). در سیلاژ پوست انار پایین‌تر بود (*P*<۰/۰۵)، اما بین سرعت تولید گاز در سیلاژ و پوست خشک شده انار تفاوتی مشاهده نشد (*P*>۰/۰۵). گزارش شده است که پتانسیل و سرعت تولید گاز در سیلاژ و پوست انار خشک شده تفاوتی نداشته است (Taher-Maddah *et al*., 2012a). کمتر بودن پتانسیل تولید گاز در سیلاژ پوست انار نسبت به پوست خشک شده انار در مطالعه حاضر ممکن است به علت پایین‌تر بودن کربوهیدرات‌های غیر فیبری و محلول در آب به عنوان منبع انرژی میکروارگانیسم‌های شکمبه و بالاتر بودن NDF و ADF در سیلاژ پوست انار باشد. اما در مطالعه دیگر سیلاژ

سیلو کردن اثری بر گوارش‌پذیری ظاهری و حقیقی برون-تنی ماده خشک پوست انار نداشت (*P*>۰/۰۵). گوارش-پذیری حقیقی برون‌تنی ماده خشک در سیلاژ و پوست

خشک شده انار به ترتیب برابر با ۷۷ و ۸۱ درصد بود. تاکنون داده‌ای مبنی بر گوارش‌پذیری ماده خشک و یا دیواره سلولی سیلاژ و پوست خشک شده انار منتشر نشده است. مقدار گوارش‌پذیری ماده خشک در این پژوهش بیش از حد معمول بود و حتی بالاتر از علوفه‌هایی مانند یونجه بود. علت این موضوع را می‌توان به ناکارآمد بودن روش‌های گراویمتری برای اندازه‌گیری گوارش‌پذیری در خوراک‌های حاوی تانن دانست (Makkar, 2004). با توجه به اینکه بخش زیادی از پوست انار را ترکیبات فنولی تشکیل داده است، احتمالا در حین فرآیند انکوباسیون این ترکیبات در محیط انکوباسیون حل شده‌اند در حالیکه مورد استفاده میکروارگانیسم‌ها قرار نگرفته‌اند. گوارش‌پذیری دیواره سلولی سیلاژ و پوست خشک شده انار به ترتیب ۲۵/۱ و ۱۴/۶ درصد بود. گوارش‌پذیری برون تنی دیواره سلولی برای سیلاژ یونجه، سیلاژ ذرت و سیلاژ گندم به ترتیب ۴۹، ۴۱/۷ و ۴۱ درصد گزارش شده است (Getachew *et al*., 2004) که از گوارش‌پذیری برون‌تنی دیواره سلولی سیلاژ پوست انار پژوهش حاضر به طور قابل توجهی بالاتر بودند. برخلاف گوارش‌پذیری ماده خشک، گوارش‌پذیری دیواره سلولی در سیلاژ پوست انار بالاتر بود که این می‌تواند به علت پایین‌تر بودن میزان تانن در سیلاژ پوست انار باشد. گوارش‌پذیری دیواره سلولی در شکمبه دام‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی تانن (Lotus pedunculatus و Calliandra calothyrsus) کاهش یافته بود (Barry *et al*., 1986; Palmer and McSweeney, 2000). تانن‌ها از طریق مهار آنزیم‌ها و کاهش باکتری‌های فیبرولایتیک و همچنین جلوگیری از اتصال میکروارگانیسم‌ها به دیواره سلولی گیاهان باعث کاهش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای دیواره سلولی می‌شوند (Scalbert, 1991; McAllister *et al*., 1994; McMahon *et al*., 2000).

همانطور که در جدول ۴ نشان داده شده است گوارش‌پذیری برآورد شده ماده آلی سیلاژ و پوست انار خشک شده به ترتیب برابر با ۴۵/۹ و ۵۶/۹ درصد بود. سیلو کردن باعث کاهش گوارش‌پذیری برآورد شده ماده آلی شد (P<۰/۰۵). در یک پژوهش گوارش‌پذیری برآورد شده ماده آلی برای پوست تازه انار و سیلوی آن به ترتیب ۷۶/۲ و ۶۳ درصد گزارش شده است و سیلو کردن گوارش‌پذیری ماده آلی را کاهش داده بود (Shabtay *et al*., 2008)، اما در پژوهش دیگری گوارش‌پذیری ماده آلی برآورد شده برای سیلاژ و پوست انار خشک شده به ترتیب ۵۷/۲ و ۵۷/۳ درصد گزارش شده است (Taher-Maddah *et al*., 2012a). گوارش‌پذیری ماده آلی برای پوست خشک شده انار در پژوهش آن‌ها با پژوهش حاضر مطابقت داشت اما گوارش-پذیری ماده آلی سیلاژ پوست انار را بالاتر از پژوهش حاضر گزارش کردند.

همانطور که در جدول ۴ نشان داده شده است انرژی قابل متابولیسم و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر در سیلاژ پوست انار کمتر از پوست خشک شده آن بود. Shabtay *et al*. (2008) گزارش کردند که انرژی قابل متابولیسم سیلاژ پوست انار از پوست تازه انار کمتر بود. سیلو کردن تفاله انگور باعث کاهش انرژی قابل متابولیسم آن شده است (Alipour and Rouzbehan, 2007). هرچند Taher-Maddah *et al*. (2012a) گزارش کردند که انرژی قابل متابولیسم و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر سیلاژ و پوست انار خشک شده تفاوتی نداشتند. همبستگی مثبت بالایی بین تولید گاز و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر مشاهده شده است (Beuvink and Spoelstra, 1992; Blümmel and Ørskov, 1993; Makkar *et al*.,1995). همچنین همبستگی منفی بین تولید گاز وانرژی قابل متابولیسم با دیواره سلولی گزارش شده است (Karabulut *et al*., 2007).

جدول ۴- پارامترهای تولید گاز، گوارش‌پذیری ظاهری برون تنی ماده خشک،گوارش پذیری حقیقی برون تنی ماده خشک، گوارش-پذیری برون تنی دیواره سلولی، گوارش‌پذیری ماده آلی، انرژی قابل متابولیسم و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر پوست انار خشک و سیلو شده

Table 4. Gas production characteristics, *in vitro* apparent dry matter digestibility (IVAD), *in vitro* true digestibility (IVTD), *in vitro* fiber digestibility (dNDF), organic matter digestibility (OMD), metabolisable energy (ME) and short chain fatty acids (SCFA) of dried and ensiled pomegranate peel.

Treatments	Parameters†							
	A	C	IVAD ($g\ kg^{-1}DM$)	IVTD ($g\ kg^{-1}DM$)	dNDF ($g\ kg^{-1}DM$)	OMD ($g\ kg^{-1}DM$)	ME ($MJ\ kg^{-1}DM$)	SCFA (mmol)
Ensiled PP	173.1^{b}	0.222	590	770.3	251.0^{a}	459.16^{b}	7.01^{b}	0.723b
Dried PP	256.2^{a}	0.235	614.4	812.2	146.4^{b}	569.32^{a}	8.74^{a}	1.023a
SEM	8.08	0.0164	16.52	7.356	16.20	9.722	0.0998	0.0163
P-value	0.0184	0.6174	0.4162	0.0727	0.0169	0.0013	0.0003	0.0002

† A: potential gas production ($ml^{-1}g$ DM), c: rate of gas production (h^{-1}), PP:pomegranate peel, SEM: standard errors of means. Means in a column with different letters differs significantly ($P<0.05$).

کاهش انرژی قابل متابولیسم و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر در نتیجه سیلو کردن ممکن است به علت تفاوت در ترکیبات شیمیایی از جمله پایین‌تر بودن کربوهیدرات‌های غیرفیبری و بالاتر بودن دیواره سلولی و دیواره سلولی فاقد همی‌سلولز در سیلاژ پوست انار باشد. انرژی قابل متابولیسم در سیلاژ و پوست خشک شده انار به ترتیب برابر با ۷/۰۲ و ۸/۷۴ مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک (MJ/KgDM) بود که انرژی قابل متابولیسم پوست خشک شده انار از انرژی برخی از پسماندهای کشاورزی از قبیل تفاله انگور (MJ/Kg DM ۶/۶۹)، سیلاژ تفاله انگور (MJ/Kg DM ۵/۹۳)، هسته خشک شده دانه انار (MJ/Kg DM ۵/۱۰)، سیلاژ هسته دانه انار (MJ/Kg DM ۶/۳۷) و سیلاژ ساقه و برگ درخت موز (MJ/Kg DM ۶/۶۲) بیشتر و از انرژی قابل متابولیسم تفاله گوجه فرنگی (MJ/Kg DM ۹/۹) کمتر و قابل مقایسه با تفاله سیب (MJ/Kg DM ۷/۷۸) بود (شکیب و یوسف الهی، ۱۳۹۱؛ مختار پور و همکاران، ۱۳۹۱؛ Taher-Maddah *et al*., 2012b ؛ NRC, Alipour and Rouzbehan, 2007; 2001).

داده‌های تولید گاز (پس از ۲۴ ساعت)، ضریب تفکیک، تولید توده میکروبی، بازده تولید توده میکروبی و غلظت آمونیاک در جدول ۵ نشان داده شده است. تولید گاز در پوست خشک شده انار بالاتر بود. Shabtay *et al*. (2008) گزارش کردند که تولید گاز در پوست تازه انار بالاتر از سیلاژ آن بود، اما Taher-Maddah *et al*. (2012a) گزارش کردند که تولید گاز بین سیلاژ و پوست خشک شده انار تفاوت معنی‌داری نداشته است. بالاتر بودن تولید گاز در پوست خشک شده انار نسبت به سیلاژ پوست انار می‌تواند به علت بالاتر بودن کربوهیدرات‌های غیر فیبری و پایین‌تر بودن NDF و ADF باشد. تولید گاز با دیواره سلولی همبستگی منفی بالایی دارد (De Boever *et al*., 2005). ضریب تفکیک، تولید توده میکروبی و بازده تولید توده میکروبی در سیلاژ بالاتر از پوست خشک شده انار بود. تاکنون داده‌ای در مورد فراسنجه‌های فوق الذکر برای سیلاژ و پوست انار گزارش نشده است. نمونه‌های خوراک نباید تنها بر اساس داده‌های تولید گاز مورد سنجش قرار گیرند، زیرا بخشی از انرژی حاصل از تجزیه سوبسترا علاوه بر تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر صرف سنتز پروتئین میکروبی می‌شود. یک خوراک با ضریب تفکیک بالاتر نشان دهنده این است که بیشتر سوبسترای تجزیه شده در تولید توده میکروبی شرکت کرده است و بازده سنتز پروتئین میکروبی بالاتری داشته است. خوراک با ضریب تفکیک بالاتر مصرف بالاتری نیز دارد (Makkar, 2000b). همچنین بالاتر بودن ضریب تفکیک در شرایط برون‌تنی بازگوکننده سنتز پروتئین

میکروبی اندازه‌گیری شده به وسیله مشتقات پورینی در شرایط درون‌تنی می‌باشد (Blümmel *et al.*, 2000). بنابراین نتایج نشان می‌دهند که ضریب تفکیک محاسبه شده در شرایط برون‌تنی اطلاعات ارزشمندی برای پیش-بینی خوراک مصرفی دام و تولید توده میکروبی در شکمبه ارائه می‌دهد. ضریب تفکیک در سیلاژ و پوست خشک شده انار به ترتیب برابر با ۴/۳۳ و ۳/۲۱ بود. مقادیر فوق از لحاظ نظری در دامنه طبیعی (۴/۴۱ -۲/۷۵) برای خوراک‌های مرسوم بود (Blümmel *et al.*,1997). ضریب تفکیک برای کنجاله نارگیل و کنجاله تخم پنبه به ترتیب ۳/۹۲ و ۳/۸۶ و برای سبوس گندم و دانه ذرت به ترتیب ۳/۷۸ و ۳/۳۸ و برای کاه یولاف و کاه برنج به ترتیب ۳/۲۰ و ۲/۹۳ گزارش شده است (Kiran and Krishnamoorthy, 2007). همچنین در پژوهشی دیگر ضریب تفکیک برای تفاله سیب و تفاله گوجه فرنگی به ترتیب ۲/۵۷ و ۱/۹۹ گزارش شده است (Besharati *et al.*, 2008). بنابراین ضریب تفکیک برای سیلاژ پوست انار بالاتر از موارد ذکر شده بود. گزارش شده است که سیلو کردن تفاله انگور باعث کاهش ضریب تفکیک، تولید توده میکروبی و بازده تولید توده میکروبی شده است که در تضاد با یافته‌های این پژوهش است (Alipour and Rouzbehan, 2007). یک همبستگی منفی بالایی بین اسیدهای چرب کوتاه زنجیر تولید شده در شکمبه و سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه گزارش شده است (Hungate, 1966; Leng, 1993; Blümmel *et al.*, 1997) که پژوهش حاضر نیز چنین روندی را نشان می‌دهد.

جدول ۵- تولید گاز در ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر بر گرم ماده خشک)، ضریب تفکیک (میلی‌گرم ماده آلی هضم شده بر تولید گاز در ۲۴ ساعت)، تولید توده میکروبی (میلی‌گرم بر گرم ماده انکوبه شده)، بازده تولید توده میکروبی (میلی‌گرم توده میکروبی بر میلی لیتر گاز تولید شده در ۲۴ ساعت انکوباسیون)، غلظت آمونیاک (میلی‌مول بر لیتر) پوست انار خشک و سیلو شده

Table 5. Gas production in 24h (ml g^{-1} DM), partitioning factor (mg OM truly degraded/ml gas produced in 24 h), efficiency of microbial biomass production, microbial biomass production (mg/g incubated feed) and ammonia concentration (mmol/l) of dried and ensiled pomegranate peel

Treatments	Parameters†				
	GP	PF	MBP	EMBP	Ammonia
Ensiled PP	163.78[b]	4.33[a]	348.2[a]	0.491[a]	25.38[a]
Dried PP	231.4[a]	3.21[b]	234.2[b]	0.351[b]	18.54[b]
SEM	3.670	0.0285	8.9425	0.0038	0.2993
P-value	0.0002	<0.0001	0.0008	<0.0001	<0.0001

† GP: gas production, PF: partitioning factor, MBP: microbial biomass production, EMBP: efficiency of microbial biomass production. PP:pomegranate peel. SEM: standard errors of means.
Means in a column with different letters differs significantly (P<0.05).

همانطور که در جدول ۵ نشان داده شده است سیلو کردن باعث افزایش نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه شده است که این افزایش ممکن است به دلیل افزایش پروتئین خام و کاهش ترکیبات فنولی سیلاژ پوست انار باشد. همبستگی مثبت بالایی بین تولید نیتروژن آمونیاکی شکمبه و پروتئین خام گزارش شده است (Getachew *et al.*, 2004). تانن‌ها باعث کاهش نیتروژن آمونیاکی شکمبه شده‌اند (Barry and Manley, 1984; Waghorn, 1996). کاهش نیتروژن آمونیاکی ممکن است بدلیل تشکیل کمپلکس بین تانن و پروتئین و در نتیجه قابلیت دسترسی کمتر پروتئین خام و همچنین محدود کردن آنزیم‌های پروتئولایتیک و کاهش پروتئولیز باشد (Albercht and Muck, 1991; Frutos *et al.*, 2004).

به طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که پوست خشک شده انار در مقایسه با سیلاژ آن ارزش غذایی بالاتری داشت اما سیلو کردن تا حدی باعث کاهش ترکیبات فنولی پوست

انار شود. پیشنهاد می شود پژوهش‌های بیشتری در ارتباط با خصوصیات سیلو کردن پوست انار از جمله استفاده ملاس، اوره و افزودن این خوراک به سایر سیلاژها مانند سیلوی ذرت و یونجه انجام شود.

فهرست منابع

شکیب ع. و یوسف الهی م. ۱۳۹۱. بررسی ارزش غذایی سیلاژ پسماند درخت موز با استفاده از روش *in situ* و *in vitro*. مجله علوم دامی ایران، ۴۳ (۳): ۳۱۷-۳۳۵.

فیضی ر.، زاهدی‌فر م.، دانش مسگران م.، رئیسیان زاده م. و کاشکی و. ۱۳۸۹. اثر افزودن اوره بر میزان تانن و تولید گاز پوست انار سیلو شده. چهارمین گنگره علوم دامی ایران، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران(کرج)، ۲۲۹۷-۲۲۹۴.

مختارپور ا.، ناصریان ع.، ولیزاده ر. و طهماسبی ع. ۱۳۹۱. تاثیر سیلاژ محصولات فرعی پسته عمل‌آوری شده با پلی اتیلن‌گلیکول و اوره بر ترکیبات فنولی و تولید گاز در شرایط برون تنی و عملکرد گاوهای شیری هلشتاین. نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران، ۴(۱): ۶۲-۵۵.

وزارت جهاد کشاورزی.۱۳۹۰. آمارنامه محصولات کشاورزی و دامی، قابل دسترس در سایت http://www.maj.ir.

Albrecht K. A. and Muck R. E. 1991. Proteolysis in ensiled legumes that vary in tannin concentration. Crop Science, 31: 464–469.

Alipour D. and Rouzbehan Y. 2007. Effects of ensiling grape pomace and addition of polyethylene glycol on *in vitro* gas production and microbial biomass yield. Animal Feed Science and Technology, 137(1): 138-149.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC).1990.Official Methods of Analysis, vol. II, 15th ed. Associationof Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.

Barry T. N. and Manley T. R. 1984.The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus*for sheep. 2. Quantitative digestion of carbohydrate and proteins. British Journal of Nutrition, 51: 493–504.

Barry T. N., Manley T. R. and Duncan S. J. 1986.The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotuspedunculatus* for sheep. British Journal of Nutrition, 55: 123–137.

Ben Salem H., Saghrouni L. and Nefzaoui A. 2005.Attempts to deactivate tannins in fodder shrubs with physical and chemical treatments. Animal Feed Science and Technology, 122: 109–121.

Besharati M., Taghizade A., Janmohammadi H. and Moghadam G. A. 2008.Evaluation of some by-products using in situ and *in vitro* gas production techniques. American Journal of Animal and Veterinary Sciences, 3: 7-12.

Beuvink J. M. W. and Spoelstra S. F. 1992. Interactions between substrate, fermentation end products, buffering systems and gas production upon fermentation of different carbohydrates by mixed rumen microorganisms in vitro. Applied Microbiology and Biotechnology, 37: 505-509.

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

Blümmel M. 2000. Predicting the partitioning of fermentation products by combined *in vitro* gas volume–substratedegradability measurements: opportunities and limitations. In: Gas Production: Fermentation Kinetics forFeed Evaluation and to Assess Microbial activity. British Society of Animal Science, Penicuik, Midlothian,pp. 48–58.

Blümmel M., Makkar H. P. S. and Becker K. 1997. *In vitro* gas production: a technique revisited. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 77: 24–34.

Blümmel M., Mgomezulu R., Chen X. B., Makkar H. P. S., Becker K. and Ørskov E. R. 2000. The modification of *in vitro* gas production test to detect roughage related differences in in vivo microbial protein synthesis as estimated by the excretion of purine derivatives. The Journal of Agricultural Science, 133(3): 335-340.

Broderick G. A. and 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.

Dafny-Yalin M., Glazer I., Bar-Ilan I., Kerem Z., Holland D. and Amir R. 2010. Color, sugars and organic acids composition in aril juices and peel homogenates prepared from different pomegranate accessions. Journal of agricultural and food chemistry, 58(7): 4342-4352.

De Boever J. L., Aerts J. M.,Vanacker J. M. and De Brabander D. L. 2005. Evaluation of the nutritive value of maize silages using a gas production technique. Animal Feed Science and Technology, 255: 123-124.
DePeters E. J., Fadel J. G. and Arosemena A. 1997. Digestion kinetics of neutral detergent fiber and chemical composition within some selected by-product feedstuffs. Animal Feed Science and Technology, 67: 127–140.
Ebrahim Pour M., Haghparvar R. U., Rowghani E., Shojaian K. and GhaderiZefrei M. 2014. The effect of a bacterial inoculant, urea and molasses on chemical composition, in vitro gas production and energy content of ensiled pomegranate (*Punicagranatum L.*) seeds and peel pulp. Research Opinions in Animal and Veterinary Sciences, *4*(1): 85-90.
Faithfull N. T. 2002. Methods in agricultural chemical analysis: a practical handbook. CABI Publishing, UK266 pp.
FAO. 2010.Statistical database.Food and Agriculture Organization of the United Nations, <http://www.fao.org> Accessed May 23, 2010.
France J., Dijkstra J., Dhanoa M. S., Lopez S. and Bannink A. 2000. Estimating the extent of degradation of ruminant feeds from a description of their gas production profiles observed *in vitro*: derivation of models and other mathematical considerations. British Journal of Nutrition, 83:143-150.
Frutos P., Hervas G., Giráldez García F. J., Mantecón A. R. 2004. Review. Tannins and ruminant nutrition. Spanish Journal of Agricultural Research, 2(2): 191-202.
Getachew G., Robinson P. H., De Peters E. J. and Taylor S. J. 2004. Relationships between chemical composition, dry matter degradation and *in vitro*gas production of several ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology,111: 57-71.
Gözlekçi Ş., Saraçoğlu O., Onursal E. and Özgen M. 2011. Total phenolic distribution of juice, peel, and seed extracts of four pomegranate cultivars. Pharmacognosy Magazine, 7(26): 161-164.
Hassanat F., Mustafa A. F. and Seguin P. 2006. Chemical composition and ensiling characteristics of normal and brown midrib pearl millet harvested at two stages of development in southern Quebec. Canadian Journal of Animal Science, 86: 71–80.
Hungate R. 1966. Rumen and its microbes. Academic Press, London.
Jones G. A., McAllister T. A., Muir A. D and Cheng K. J. 1994. Effects of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) condensed tannins on growth and proteolysis by four strains of ruminal bacteria. Applied and environmental microbiology, 60:1374-1378.
Karabulut A., Canbolat O., Kalkan H., Gurbuzol F., Sucu E. and Filya I. 2007. Comparison of *in vitro* gas production, metabolizable energy, organic matter digestibility and microbial protein production of some legume hays. Asian Australian Journal of Animal Sciences, 20(4): 517-522.
Kiran D. and Krishnamoorthy U. 2007. Rumen fermentation and microbial biomass synthesis indices of tropical feedstuffs determined by the *in vitro* gas production technique. Animal feed science and technology, *134*(1): 170-179.
Leng R. A. 1993. Quantitative ruminant nutrition a green science. Australian Journal of Agricultural Research, 44: 363–380.
Li Y., Guo C., Yang J., Wei J., Xu J. and Cheng S. 2006. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. Food chemistry, 96(2): 254-260.
Makkar H. P. S. (Ed.). 2000a. Quantification of tannins in tree foliage. A laboratory manual for the FAO/IAEA co-ordinated research project on use of nuclear and related techniques to develop simple tannin assays for predicting and improving the safety and efficiency of feeding ruminants on tanniniferous tree foliage joint FAO/IAEA division of nuclear techniques in food and agriculture, animal production and health sub-program, FAO/IAEA Working Document, IAEA, Vienna, Austria.
Makkar H. P. S. 2000b. Application of the *in vitro* method in the evaluation of feed resources, and enhancement of nutritional value of tannin-rich tree/browse leaves and agro-industrial by-products. In: Development and Field Evaluation of Animal Feed Supplementation Packages. Proceeding of the final review meeting of an IAEA Technical Co-operation Regional AFRA Project organized by the Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture and held in Cairo, Egypt, 25–29 November, pp. 23–40.
Makkar H. P. S. 2005.*In vitro* gas methods for evaluation of feeds containing phytochemicals. Animal Feed Science and Technology, 123/124: 291–302.
Makkar H. P. S. and Singh B. 1993. Effect of storage and urea addition on detannification and in sacco dry matter digestibility of mature oak (*Quercusincana*) leaves. Animal Feed Science and Technology, 41: 247–259.
Makkar H. P. S., Blümmel M., and Becker K. 1995. *In vitro* effects of and interactions between tannins and saponins and fate of tannins in the rumen. Journal of the Science of Food and Agriculture,69: 481–493.

Makkar H. P. S. 2004. Recent advances in the *in vitro* gas method for evaluation of nutritional quality of feed resources. Assessing Quality and Safety of Animal Feeds. FAO Animal Production and Health Series 160. FAO, Rome, pp. 55–88.
McAllister T. A., Bae H. D., Yanke L. J., Cheng K. J. and Muir A. 1994. Effect of condensed tannins from birdsfoot trefoil on the endoglucanase activity and the digestion of cellulose filter paper by ruminal fungi. Canadian Journal of Microbiology, 40: 298-305.
McDonald P., Edwards R. A., Greenhalgh J. F. D., Morgan C. A., Sinclair L. A. and Wilkinson R. G. 2011.Animal nutrition.Seventh ed., Prentice Hall. London.
McDonald P., Henderson A. and Heron S. 1991. The biochemistry of silage, 2nd ed. Chalcombe Publications, Welton, UK.
McMahon L. R., McAllister T. A., Berg B. P., Majak W., Acharya S. N., Popp J. D., Coulman B. E., Wang Y. and Cheng K. J. 2000. A review of the effects of forage condensed tannins on ruminal fermentation and bloat in grazing cattle. Canadian Journal of Plant Science, 80:469-485.
Menke K. H., Raab L., Salewski A., Steingass H., Fritz D. and Schneider W. 1979.The estimation of the digestibility and metabolisable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. The Journal of Agricultural Science, 93: 217–222.
Menke K. H and Steingass H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Animal Research and Development, 28: 7–55.
Min B. R., Barry T. N., Attwood G. T. and McNabb W. C. 2003. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: A review. Animal Feed Science and Technology, 106: 3–19.
Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (MAFF), 1982.The analysis of agricultural materials, 2nd ed. ministry of agriculture, fisheries and food, London, UK.
Moharrery A. 2007. The Determination of buffering capacity of some ruminant's feedstuffs and their cumulative effects on TMR ration. American Journal of Animal and Veterinary Sciences, 2(4): 72-78.
Niezen J. H., Waghorn S. T., Waghorn G.C. and Charlestone W.A.G. 1993. Internal parasites and lamb production a role for plants containing condensed tannins? Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production, 17: 290–293.
NRC. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th Revised ed. National Academy Press, Washington, D.C.
Oliveira R. A., Narciso C. D., Bisinotto R. S., Perdomo M. C., Ballou M. A., Dreher M. and Santos J. E. P. 2010. Effects of feeding polyphenols from pomegranate extract on health. Growth, nutrient digestion, and immune competence of calves. Journal of Dairy Science, 93: 4280–4291.
Oliveira S. G. D., Berchielli T. T., Reis R. A., Vechetini M. E. and Pedreira M. D. S. 2009. Fermentative characteristics and aerobic stability of sorghum silages containing different tannin levels. Animal Feed Science and Technology, 154(1): 1-8.
Palmer B. and McSweeney C. S. 2000. Tannins in Calliandra calothyrsus: effect of polyethylene glycol (PEG) and an evaluation of 19 accessions. In: Brooker, J.D (Ed.), Tannins in Livestock and Humman Nutrition. ACIAR Proccedings, No.92: 36-39.
Reed J. D. 1995.Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. Journal of Animal Science, 73: 1516–1528.
Rooke J. A. and Hatfield R. D. 2003.Biochemistry of ensiling. In: Buxton, D. R., Muck, R. E., Harrison, J. H. (Eds.),Silage Science and Technology. ASA Inc., Madison, WI, USA, pp. 95–140.
SAS Institute. 2004. User’s Guide. Version 9.1: Statistics. SAS Institute,Cary, NC.
Scalbert A. 1991. Antimicrobial properties of tannins. Phytochemistry, 30: 3875-3883.
Shabtay A., Eitam H., Tadmor Y., Orlov A., Meir A., Weinberg P., Weinberg Z. G., Chen Y., Brosh A., Izhaki I. and Kerem Z. 2008. Nutritive and antioxidative potential of fresh and stored pomegranate industrial byproduct as a novel beef cattle feed. Journal of Agriculture Food Chemistry, 56: 10063-10070.
Shabtay A., Nikbachata A., ZenouaE., Yosef A., Arkinb O., Sneerb A., Shwimmerc A., Yaari D., Budmand E., Agmond G. and Mirona J. 2012. Effects of adding a concentrated pomegranate extract to the ration of lactating cows on performance and udder health parameters. Animal Feed Science and Technology, 175: 24–32.
Taher-Maddah M., Maheri-Sis N., Salamatdoustnobar R. and Ahmadzadeh A. 2012a. Comparing nutritive value of ensiled and dried pomegranate peels for ruminants using *in vitro* gas production technique. Annals of Biological Research, 3(4): 1942-1946.
Taher-Maddah M., Maheri-Sis N., Salamatdoustnobar R. and Ahmadzadeh A. 2012b .Estimating fermentation characteristics and nutritive value of ensiled and dried pomegranate seeds for ruminants using *in vitro* gas production technique. Open Veterinary Journal, 2: 40-45

Taylor K. A. 1996. A simple colorimetric assay for muramic acid and lactic acid. Applied Biochemistry and Biotechnology, 561: 49-58.

Van Soest P. J (ed.). 1994. Nutritional ecology of the ruminant, 2nd ed. Cornell University Press. Ithaca, NY, USA.476 pp.

Van Soest, P. J, Robertson, J. B. and Lewis B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch carbohydrates in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74: 3583–3597.

Waghorn G. C. 1996. Condensed tannins and nutrient absorption from the small intestine. Proc of the 1996 Canadian Society of Animal Science Annual Meeting, Lethbridge, Canada (Rode L.M., ed.). pp. 175-194.

Wang Y., Wanghorn G. C., Douglass G. B., Barry T. N. and Wilson G. F. 1994. The effects of condensed tannin in *Lotus corniculatus*upon nutrient metabolism and upon body growth and wool growth in grazing sheep. Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production, 54: 219–222.

Animal Production Research
Vol. 4, No. 1, 2015 (79-93)

University of Guilan

Effect of ensiling pomegranate peels on chemical composition, *in vitro* gas production kinetics and microbial biomass production

A. Hatami[1], D. Alipour[2*], M. Tabatabaei[3], F. Hozhabri[4]

1. PhD student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University
2. Associate professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University
3. Assistant professor, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Microbial Biotechnology and Biosafety Department, Karaj, Iran
4. Associate professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Razi University

(Received: 20-8-2014 – Accepted: 3-2-2015)

Abstract

The aim of this study was to compare chemical composition, tannin content, *in vitro* gas production kinetics, *in vitro* dry matter and NDF digestibility and microbial biomass production of dried and ensiled pomegranate peel (PP; in four replicates). The crude protein, crude ash, neutral detergent fiber and acid detergent fiber in ensiled pomegranate peel (51, 48.4, 292.9 and 173.7, g/kg DM, respectively) were higher than the dried one (36.5, 37.5, 221.9 and 150.2 g/kg DM, respectively; $P<0.05$), whereas non-fiber carbohydrates (580 *VS*. 688.9 g kg^{-1}DM) were lower in pomegranate peel silages ($P<0.05$). Ensiling decreased the total phenolics (191.17 *VS*. 255.3 g of tannic acid equivalents kg^{-1} DM), total tannins (162.4 *VS*.219 g of tannic acid equivalents kg^{-1} DM) and non-tannin phenols (29.3 *VS*. 36.2 g of tannic acid equivalents kg^{-1} DM), pH (3.69 *vs*. 3.92) and water soluble carbohydrates (24.6 *vs*. 34.5), but increased the buffering capacity (12.73 *vs*. 8.79 meq^{-1} L), ammonia concentration (97 *vs*. 52 g kg^{-1} total N) and lactic acid (42.7 vs. 0.162 g kg^{-1}DM) in pomegranate peel ($P<0.05$). The gas production, metabolizable energy and short chain fatty acids concentration (0.723 *vs*. 1.023 mmol) in dried PP were higher than those of ensiled PP ($P<0.05$). The *in vitro* fiber digestibility, partitioning factor, microbial biomass production, efficiency of microbial biomass production and ruminal ammonia concentration were higher in pomegranate peel ($P<0.05$). Although ensiling to some extent decreased phenolic contents, but did not improve the nutritive value of PP in comparison with drying.

Keywords: Silage, Pomegranate peel, Tannins, *In vitro* digestibility, Microbial biomass

*Corresponding author: alipourd@basu.ac.ir