



اثرات افزودن پلی اتیلن گلیکول بر تولید گاز متان در شکمبه، قابلیت هضم و انرژی قابل متابولیسم تفاله‌های انگور و لیموترش

امیررضا صفائی^۱، نورمحمد تربتی‌نژاد^۲، هرمز منصوری^۳ و سعید زره‌داران^۴

۱- دانشجوی دکتری، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان (نویسنده مسؤل: amirrezasafaei@yahoo.com)

۲ و ۴- استاد و دانشیار، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۳- استادیار، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور

تاریخ دریافت: ۹۲/۹/۹ تاریخ پذیرش: ۹۳/۳/۴

چکیده

در این پژوهش، اثرات اضافه کردن پلی اتیلن گلیکول (PEG) به تفاله‌های انگور و لیموترش بر روند تولید گاز متان حاصل از تخمیر شکمبه‌ای، قابلیت هضم و انرژی قابل متابولیسم، بررسی شد. تفاله‌های انگور و لیموترش باقیمانده از تولید آمیوه جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. تفاله‌ها در فضای مسقف و با تهویه مناسب خشک و آسیاب (با الکتیک یک میلی‌متر) شدند. ترکیبات شیمیایی این تفاله‌ها شامل پروتئین خام، دیواره سلولی، خاکستر خام، چربی خام، ترکیبات فنلی، تانن کل و انرژی خام تعیین شد. آزمایش تولید گاز برای زمان‌های مختلف تخمیر شکمبه‌ای و نیز مقدار تولید گاز متان با شش تیمار شامل تفاله‌های انگور، لیموترش و شاهد (بدون و حاوی PEG) در قالب طرح فاکتوریل (۲×۳) که با ۳ تکرار انجام و نیز با نرم‌افزار آماری R تجزیه و تحلیل شدند. ترکیبات شیمیایی تفاله انگور با تفاله لیموترش متفاوت ($P < 0.05$) شد. مقدار تولید گاز متان (در ۲۴ ساعت تخمیر به ازای هر ۲۰۰ میلی‌گرم) تفاله انگور (بدون و حاوی PEG) به ترتیب ۱۳/۳ و ۲۷/۷ میلی‌لیتر و در تفاله لیموترش ۷۳/۸ و ۶۷/۳ میلی‌لیتر بود. در مجموع افزودن PEG به تفاله‌ها، باعث افزایش معنی‌داری در قابلیت هضم و انرژی قابل متابولیسم شد. اضافه کردن PEG، باعث تغییر رفتار دوگانه‌ای در مقدار تولید گاز متان شد به نحوی که در تفاله‌های انگور و لیموترش به ترتیب باعث افزایش و کاهش معنی‌داری ($P < 0.05$) در تولید گاز متان شد.

واژه‌های کلیدی: پلی اتیلن گلیکول، تولید متان، انگور، لیموترش، تفاله

مقدمه

شکمبه، منجر به کاهش اتلاف منابع انرژی و پروتئین از طریق کاهش تولید گاز متان و آمونیاک می‌شود (۳۹). تخمیر در جهت تولید افزایش متان باعث کاهش بهره‌وری ۱۰ تا ۲۰ درصدی بازده شکمبه می‌گردد (۲۹). از جمله

افزایش بازده شکمبه، سبب بهبود تولید در نشخوارکنندگان پرتولید شده که یکی از اهداف مدیریت صحیح تغذیه نشخوارکنندگان می‌باشد (۳۳، ۸). روش‌های بهبود بازده

تانن دار، باعث کاهش اثرات تانن در بدن نشخوارکنندگان می شود (۳۲،۲۶،۱). همچنین کاهش متان منجر به افزایش تولید شیر و گوشت در نشخوارکنندگان می گردد (۲۰،۹،۴). کشور ایران با تولید حدود ۳ میلیون تن انگور در سال، دارای رتبه ششم جهانی است. همچنین در ایران سالانه مقدار ۴۰۰ هزار تن لیموترش تولید شده که در خلال صنعت آبمیوه گیری انگور و لیموترش، به طور متوسط به ترتیب میزان ۱۰ و ۲۰ درصد میوه به تفاله تبدیل می گردد (۴۰،۳۴،۱۹). البته مقدار کمی از این حجم زیاد تفاله، در صنایع تبدیلی و تولید کود گیاهی مصرف می شود و بقیه تفاله ها سوزانده شده و یا دفن می گردد (۱۰). لذا بررسی اثرات بیولوژیکی تفاله انگور و نیز تفاله لیموترش بر میزان کل تولید گاز حاصل از تخمیر شکمبه ای و کاهش تولید گاز متان، جهت تعیین دقیق ارزش غذایی و قرار گرفتن در زنجیره غذایی نشخوارکنندگان و همچنین کاهش آلاینده جو زمین، ضروری به نظر می رسد.

مواد و روش ها

تفاله های انگور سیاه و لیموترش از کارخانه آبمیوه گیری سن ایچ (عالی فرد) تهیه و به موسسه تحقیقات علوم دامی کشور منتقل شد. تفاله ها در فضای مسقف و با تهویه مناسب، خشک و آسیاب (الک یک میلی متر) شدند. ترکیبات شیمیایی تفاله ها مشتمل بر ماده خشک، پروتئین خام، دیواره سلولی، چربی

روش های دستکاری تخمیر شکمبه ای، کاربرد افزودنی های طبیعی و شیمیایی می باشد (۳۰). وجود ترکیبات ثانویه گیاهی مانند ساپونین، گوسیپول، اسیدهای آلی و تانن ها، در جیره نشخوارکنندگان دارای اثرات مثبتی از جمله افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی، کاهش تولید گاز متان، کاهش نفخ، کاهش تجزیه پذیری و کنترل فعالیت های نماد توده های دستگاه گوارش می باشد (۲۵،۵). تانن موجود در تفاله انگور (۴،۱) به عنوان افزودنی طبیعی، دارای اثرات بیولوژیکی شامل افزایش تراوش پروتئین غنی شده پرولین در بزاق، کاهش فعالیت آنزیم های سلولاز و آمیلاز، حفاظت پروتئینی و مواد معدنی، خاصیت ضد سرطانی و ضد دیابتی می باشد (۲۹،۸،۷). هر گوسفند با میانگین وزن ۴۰ کیلوگرم، مقدار ۲۶/۱ لیتر به ازای هر کیلوگرم جیره مصرفی در هر روز، متان تولید می کند (۲۱). تولید متان در شکمبه، بر اثر فعالیت آرکیاهای متانوژنز صورت می گیرد که وجود تانن های متراکم در خوراک نشخوارکنندگان برای باکتری های متانوژنز سمی است (۳۵،۲۵،۷). لذا از PEG جهت خنثی کردن تانن و اثرات سمی آن، استفاده می شود. البته شاید کاهش اثرات سمی تانن های متراکم توسط PEG مناسب نباشد چون باعث افزایش تولید گاز متان می شود (۳۵). از تفاله لیموترش به عنوان تفاله میوه فاقد تانن که سرشار از کربوهیدرات غیر فیبری است، در تغذیه دام استفاده می گردد (۲۲،۱۸،۱۰). افزودن PEG به مواد

اختلاف حجم به دست آمده، بیانگر میزان انتشار گازمتان بود (۲۱،۱۲). آزمایش تولید کل گاز و مقدار تولید گازمتان با شش تیمار شامل تفاله‌های انگور، لیموترش و علوفه یونجه به‌عنوان تیمار شاهد (بدون و حاوی PEG) در قالب طرح فاکتوریل (۳×۲) با سه تکرار انجام و نتایج با نرم‌افزار آماری R تجزیه و تحلیل شد (۳۳).

همچنین با استفاده از رابطه $P = b(1 - e^{-ct})$ مقدار تولید گاز بخش محلول در آب، بخش دیر تخمیر و نیز نرخ تولید گاز، توسط نرم‌افزار کمکی Fitcurve برازش شدند (۲۸). مقدار اسیدهای چرب زنجیره کوتاه و قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، ماده آلی در ماده خشک، ماده آلی و نیز انرژی خالص شیردهی، انرژی متابولیسمی از رابطه‌های ذیل برآورد شدند (۳۷،۲۳،۱۷،۱۴). رابطه‌های مورد استفاده بعضی از محققان (۳۸،۲۴،۱۶،۱۴) عبارتند از:

خام، خاکسترخام، ترکیبات فنلی، تانن کل و انرژی خام (به روش AOAC) و با ۳ تکرار تعیین شد (۳۸،۱۶،۲). آزمایش اندازه‌گیری کل‌گاز تولیدی به روش منک و استینگاش (۲۴) برای زمان‌های ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت تخمیر شکمبه‌ای انجام شد (۲۳). در هتر سرنگ تولید گاز حاوی پلی‌اتیلن‌گلیکول، مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه آزمایشی، ۲۰ میلی‌لیتر بزاق مصنوعی، ۱۰ میلی‌لیتر شیرابه شکمبه (به دست آمده از ۳ راس گاو نر تالشی فیستولا گذاری شده) و دو برابر وزن نمونه‌های آزمایشی، PEG (MERCK, MW=6000) ریخته شد. در روش اندازه‌گیری تولید گازمتان به روش ماکار و ورکو (۲۱) پس از قرائت سرنگ‌ها (طی زمان‌های مختلف تخمیر) در آزمایش تولید گاز، به سه سرنگ مقدار ۴ میلی‌لیتر سود ۱۰ مولار اضافه شده و بعد از گذشت ۱۰ دقیقه، دوباره سرنگ‌های مزبور قرائت و حذف شدند.

$$0.0425 \text{ Gas} - 0.222 \text{ Gas} = \text{میلی مول) اسیدهای چرب زنجیره کوتاه}$$

$$0.075 \text{ CP} + 0.136 \text{ Gas} + 2/2 = \text{(مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک) انرژی قابل متابولیسم}$$

$$0.014 \text{ CP} + 0.054 \text{ Gas} + 0.156 \text{ Gas} - 0.36 = \text{(مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک) انرژی خالص شیردهی}$$

$$0.054 \text{ Ash} - \text{EE}$$

$$0.45 \text{ CP} + 0.889 \text{ Gas} + 14/88 = \text{(درصد) قابلیت هضم ماده آلی}$$

$$1199 \text{ (c)} - 10/2 \text{ (a+b)} + 29 = \text{(درصد) قابلیت هضم ماده خشک}$$

$$0.45 \text{ CP} + 0.889 \text{ Gas} + 14/88 = \text{OM (درصد) قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک}$$

$$\text{CP} = \text{پروتئین خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک)}$$

$$\text{OM} = \text{ماده آلی (گرم بر کیلوگرم ماده خشک)}$$

$$\text{Gas} = \text{تولید گاز (میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک در ۲۴ ساعت تخمیر شکمبه‌ای)}$$

$$a, b \text{ و } c \text{ به ترتیب گاز بخش محلول در آب (میلی لیتر)، بخش نامحلول در آب و دیر تخمیر}$$

$$\text{(میلی لیتر) و سرعت تولید گاز (میلی لیتر بر ساعت)}$$

$$t = \text{زمان تولید گاز (ساعت)}$$

چشمگیری در میزان کربوهیدرات‌های غیرفیبری می‌شود. پروتئین تفاله انگور از علوفه یونجه به صورت معنی‌داری کمتر بود ($P < 0.05$) که شاید باند شدن پروتئین با ترکیبات تانن‌دار موجود در این تفاله باعث دستکاری و بهبود بازده تخمیر شکمبه و نیز کاهش مقدار تولید گاز متان شود (۳۱،۶). همچنین میزان چربی خام در این دو نوع تفاله آزمایشی یکسان شد ($P > 0.05$). در پژوهش سالاما و همکاران (۳۶) میزان پروتئین خام، دیواره سلولی، ترکیبات فنلی و تانن کل علوفه یونجه به ترتیب ۱۸/۲، ۵۳، ۱/۰۲، ۰/۶ درصد ماده خشک گزارش شده که تفاوت این مقادیر با یونجه آزمایشی، مربوط به رقم یونجه تولید شده در شرایط آب و هوایی ایران می‌باشد (۳۵).

در نهایت داده‌های به دست آمده در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی (3×2) و با استفاده از نرم‌افزار آماری R نسخه 3.0.2 تجزیه و تحلیل شدند (۳۳). این نرم‌افزار قابلیت تعیین حداقل سطح معنی‌داری و خطای استاندارد میانگین‌ها را دارد (۳۳).

نتایج و بحث

نتایج ترکیبات شیمیایی (جدول ۱) نشان داد که ماده آلی، دیواره سلولی، ترکیبات فنلی و تانن کل در تفاله انگور بیشتر ($P < 0.05$) از تفاله لیموترش شد که با گزارشات محققین دارد (۳۶،۳،۱). آنها نشان دادند که تفاله انگور به سبب داشتن حدود ۵۰ گرم تانن در کیلوگرم ماده خشک می‌تواند تأثیر مثبتی بر عملکرد نشخوارکنندگان داشته باشد. البته وجود پکتین در تفاله لیموترش باعث افزایش

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی تفاله برخی میوه‌ها (درصد ماده خشک)

تیمارها	پروتئین خام	ماده آلی	دیواره سلولی	خاکستر خام	چربی خام	قندهای غیرفیبری	ترکیبات فنلی	تانن کل
یونجه (شاهد)	۱۴/۴ ^a	۹۰/۴ ^c	۵۳/۶ ^b	۹/۶ ^a	۱/۳ ^b	۲۱/۱ ^c	۱/۴ ^b	۰/۷ ^b
تفاله انگور	۸/۳ ^c	۹۶/۳ ^a	۵۷/۸ ^a	۳/۷ ^c	۶/۷ ^a	۲۳/۴ ^b	۵/۸ ^a	۴/۵ ^a
تفاله لیموترش	۹/۳ ^b	۹۳/۲ ^b	۲۲/۴ ^c	۶/۵ ^b	۶/۴ ^a	۵۵/۲ ^a	۱/۱ ^c	۰/۳ ^c
SEM	۲/۳	۲/۱	۱۳/۷	۲/۱	۲/۱	۱۳/۵	۱/۹	۱/۶
سطح احتمال	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱
سطح احتمال مقایسات تیمار ۱ مقابل تیمار ۲	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۹	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱
تیمار ۱ مقابل تیمار ۳	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۹	۰/۰۶
تیمار ۲ مقابل تیمار ۳	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۲۲	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱

حروف متفاوت در هر ستون، نشانه تفاوت معنی‌داری بین میانگین‌ها می‌باشد ($P < 0.05$) و SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

با توجه به نتایج ترکیبات شیمیایی، تفاله انگور قابلیت جایگزین شدن به‌عنوان تامین کننده فیبر غیر علوفه‌ای را دارد (۳) و تفاله لیموترش نیز می‌تواند منبع تولید انرژی در نشخوارکنندگان باشد. بر اساس جدول ۲ میزان تولید کل گاز حاصل از تخمیر شکمبه‌ای تفاله‌های آزمایشی متفاوت

شد به‌نحوی که در ساعت‌های مختلف تخمیر در شرایط برون‌تنی، تفاله لیموترش به‌دلیل وجود کربوهیدرات غیرفیبری، ۲/۵ برابر بیشتر از تفاله‌انگور گاز تولید کرد. تحقیق کمالک و همکاران (۱۵) بیان می‌کند که ترکیبات ثانویه گیاهی موجود در تفاله انگور موجب کاهش تولید گاز می‌شود.

جدول ۲- اثرات (افزودن و متقابل) PEG بر میزان کل تولید گاز تیمارهای آزمایشی (میلی لیتر به ازای هر ۲۰۰ میلی گرم)

ساعت‌ها تیمارها	۳	۶	۹	۱۲	۲۴	۴۸	۷۲	۹۶
تیمارهای فاقد PEG	۱۷/۲	۲۹/۲	۳۷/۶	۴۲/۱	۴۹/۲	۵۳/۳	۵۸/۹	۶۴/۷
تیمارهای حاوی PEG	۱۸/۳	۳۱/۳	۴۰/۱	۴۴/۸	۵۲/۳	۵۶/۹	۶۲/۶	۶۹/۲
SEM	۳/۲	۵/۳	۷/۲	۸/۲	۹/۰	۹/۲	۹/۵	۱۰/۰
سطح احتمال	۰/۸۳	۰/۸۱	۰/۸۲	۰/۸۳	۰/۸۲	۰/۷۹	۰/۷۹	۰/۷۶
شاهد	۱۱/۸ ^d	۲۴/۵ ^b	۳۱/۳ ^b	۳۵/۵ ^b	۴۲/۵ ^b	۴۵/۸ ^b	۴۶/۹ ^b	۴۷/۳ ^c
شاهد با PEG	۱۱/۶ ^d	۲۴/۵ ^b	۳۱/۶ ^b	۳۶/۰ ^b	۴۳/۳ ^b	۴۷/۵ ^b	۴۹/۰ ^b	۵۱/۳ ^b
تفاله انگور	۹/۶ ^c	۱۳/۰ ^d	۱۵/۶ ^d	۱۶/۵ ^d	۲۰/۵ ^d	۲۴/۳ ^d	۳۲/۲ ^d	۴۰/۷ ^d
تفاله انگور با PEG	۱۲/۸ ^b	۱۷/۸ ^c	۲۱/۳ ^c	۲۳/۰ ^c	۲۸/۳ ^c	۳۲/۸ ^c	۴۰/۷ ^c	۴۹/۵ ^c
تفاله لیموترش	۳۰/۳ ^a	۵۰/۵ ^a	۶۶/۰ ^a	۷۴/۳ ^a	۸۴/۸ ^a	۸۹/۸ ^a	۹۷/۷ ^a	۱۰۶/۳ ^a
تفاله لیموترش با PEG	۳۰/۵ ^a	۵۱/۳ ^a	۶۷/۳ ^a	۷۵/۳ ^a	۸۵/۳ ^a	۹۰/۳ ^a	۹۸/۳ ^a	۱۰۶/۸ ^a
SEM	۴/۴	۷/۴	۱۰/۰	۱۱/۴	۱۲/۵	۱۲/۷	۱۳/۱	۱۳/۸
سطح احتمال	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱

حروف متفاوت در هر ستون، نشانه تفاوت معنی‌داری بین میانگین‌ها می‌باشد ($P < 0.05$). PEG: پلی‌اتیلن گلیکول، SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

هرچند اضافه کردن PEG به تیمارهای آزمایشی، فقط در تفاله انگور باعث افزایش معنی‌داری ($P < 0.05$) در تولید کل گاز شد. افزودن PEG به تیمارهای آزمایشی موجب افزایش میزان فراسنجه‌های تولید گاز (جدول ۳) و نیز اسید چرب زنجیره کوتاه (SCFA) در تفاله‌های آزمایشی شد. نرخ تولید گاز و میزان SCFA در تفاله انگور به‌صورت معنی‌داری

کاهش داشت. در بین تیمارهای آزمایشی، میزان گاز بخش نامحلول و دیر تخمیر در تفاله لیموترش بسیار زیاد شد که مربوط به تخمیر مواد پکتینی موجود در پوست مرکبات از جمله لیموترش می‌باشد. اثر متقابل تیمار و PEG، فقط در میزان گاز بخش محلول در آب تفاله انگور (بدون و حاوی PEG) اثر معنی‌داری داشت.

بین تیمار و PEG در تمام ساعت‌های تولید گاز متان در تفاله انگور معنی‌دار ($P < 0.05$) شد اما اثر افزودن PEG بین تیمارهای بدون و حاوی PEG تفاوتی نداشت. مقدار تولید گاز متان در تفاله لیموترش حدود ۵ برابر تفاله انگور بوده که دلایل بروز این نتیجه مربوط به بالا بودن میزان کربوهیدرات‌های غیر فیبری و کمتر شدن ترکیبات فنلی به‌ویژه تانن‌های متراکم در تفاله لیموترش می‌باشد.

نتایج جدول ۴ نشان داد که مقدار تولید گاز آلاینده متان حاصل از تخمیر شکمبه‌ای (طی ساعت‌های مختلف) در تفاله انگور کمترین و در تفاله لیموترش بیشترین شد. گزارش حلیمی شبستری و همکاران (۱۳) در مورد تولید گاز متان تفاله انگور نیز مؤید نتایج مقدار تولید گاز متان در این تحقیق می‌باشند. آنها گزارش دادند که ترکیبات ثانویه گیاهی باعث کاهش تولید متان می‌شود. اثر متقابل

جدول ۳- اثرات PEG بر فراسنجه‌های کل تولید گاز تیمارهای آزمایشی (میلی لیتر به ازای هر ۲۰۰ میلی گرم)

تیمارها	گاز بخش محلول	گاز بخش نامحلول دیر تخمیر	نرخ تولید گاز (میلی لیتر در ساعت)	SCFA
تیمارهای فاقد PEG	۴/۴	۶۰/۳	۰/۰۹	۱/۱
تیمارهای حاوی PEG	۷/۸	۶۱/۳	۰/۰۹	۱/۲
SEM	۱/۵۳	۹/۰	۰/۰۲	۰/۲
سطح احتمال	۰/۱۴	۰/۹۴	۰/۸۸	۰/۷۹
شاهد	۰/۴۷ ^c	۴۷/۰ ^b	۰/۱۲ ^a	۰/۹ ^c
شاهد با PEG	۱/۹ ^{bc}	۴۹/۴ ^b	۰/۱۱ ^b	۱/۰ ^b
تفاله انگور	۲/۵ ^b	۳۸/۱ ^c	۰/۰۲ ^d	۰/۵ ^e
تفاله انگور با PEG	۱۱/۱ ^a	۳۸/۲ ^c	۰/۰۴ ^c	۰/۶ ^d
تفاله لیموترش	۱۰/۵ ^a	۹۵/۷ ^a	۰/۱۲ ^a	۱/۹ ^a
تفاله لیموترش با PEG	۱۰/۵ ^a	۹۶/۴ ^a	۰/۱۲ ^a	۱/۹ ^a
SEM	۲/۲	۱۲/۴	۰/۰۲	۰/۳
تفاوت	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱

حروف متفاوت در هر ستون، نشانه تفاوت معنی‌داری بین میانگین‌ها می‌باشد ($P < 0.05$)، PEG: پلی اتیلن گلیکول، SCFA: اسید چرب زنجیره کوتاه (میلی مول) و SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

می‌کنند که تولید متان در شکمبه، بر اثر فعالیت آرکیاهای متانوژنز صورت می‌گیرد. وجود تانن‌های متراکم در خوراک نشخوارکنندگان، برای آرکیاها سمی است و در نهایت باعث کاهش تولید گاز متان می‌گردد (۳۵).

در تحقیقات حلیمی شبستری و همکاران (۱۳) آمده است که علوفه یونجه و دانه جو به ترتیب ۷ و ۱۲ میلی لیتر در ۲۴ ساعت تخمیر شکمبه‌ای به ازای ۰/۲ گرم ماده خشک (غیر تجمعی)، گاز متان تولید می‌کنند. سالاما و همکاران (۳۶) نیز در تحقیقی تاکید

جدول ۴- اثرات PEG بر مقدار تولید گاز متان تیمارهای آزمایشی (میلی لیتر به ازای هر ۲۰۰ میلی گرم)

ساعت	۳	۶	۹	۱۲	۲۴	۴۸	۷۲	۹۶	تیمارها
تیمارهای فاقد PEG	۱۳/۱	۲۴/۳	۳۲/۱	۳۶/۳	۴۲/۱	۴۷/۴	۵۱/۹	۵۳/۶	
تیمارهای حاوی PEG	۱۳/۵	۲۵/۲	۳۳/۸	۳۸/۲	۴۳/۹	۴۹/۱	۵۳/۶	۵۵/۹	
SEM	۱/۶	۲/۶	۳/۴	۳/۷	۴/۲	۴/۶	۵/۲	۵/۰	
سطح احتمال	۰/۹۴	۰/۹۱	۰/۸۵	۰/۸۵	۰/۸۷	۰/۸۹	۰/۸۹	۰/۸۶	
شاهد	۹/۳ ^d	۲۰/۵ ^d	۲۷/۳ ^d	۳۱/۰ ^d	۳۶/۸ ^d	۴۱/۳ ^d	۴۴/۳ ^d	۴۶/۶ ^d	
شاهد با PEG	۱۰/۳ ^c	۲۱/۵ ^c	۲۸/۳ ^c	۳۲/۵ ^c	۳۹/۳ ^c	۴۵/۳ ^c	۴۸/۶ ^c	۵۰/۳ ^c	
تفاله انگور	۲/۳ ^f	۶/۰ ^f	۸/۸ ^f	۱۰/۵ ^f	۱۳/۳ ^f	۱۵/۸ ^f	۱۸/۵ ^f	۲۰/۳ ^f	
تفاله انگور با PEG	۷/۸ ^e	۱۵/۰ ^e	۲۰/۸ ^e	۲۳/۵ ^e	۲۷/۷ ^e	۳۱/۶ ^e	۳۵/۵ ^e	۳۷/۷ ^e	
تفاله لیموترش	۲۶/۸ ^a	۴۵/۵ ^a	۵۹/۳ ^a	۶۶/۰ ^a	۷۳/۸ ^a	۸۱/۳ ^a	۸۸/۷ ^a	۹۰/۳ ^a	
تفاله لیموترش با PEG	۲۳/۳ ^b	۴۰/۰ ^b	۵۳/۳ ^b	۶۰/۰ ^b	۶۷/۳ ^b	۷۴/۳ ^b	۸۱/۳ ^b	۸۳/۳ ^b	
SEM	۴/۳	۶/۷	۸/۷	۹/۶	۱۰/۴	۱۱/۲	۱۲/۱	۱۲/۱	
سطح احتمال	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	

حروف متفاوت در هر ستون، نشانه تفاوت معنی داری بین میانگین‌ها می‌باشد ($P < 0.05$). PEG، پلی اتیلن گلیکول و SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

شد. مقدار تولید گاز متان بخش محلول و نیز نامحلول دیر تخمیر در تفاله انگور بدون و حاوی PEG معنی دار شد. اما میزان تولید کل گاز بخش نامحلول دیر تخمیر در دو تیمار مذکور یکسان بود. تولید گاز متان بخش محلول فقط در تفاله انگور بدون و حاوی PEG معنی دار ($P < 0.05$) شد. مقدار تولید گاز متان حاصل از تخمیر شکمبه‌ای علوفه یونجه در زمان ۲۴ ساعت تخمیر (به ازای ۲۰۰ میلی گرم نمونه) اندکی بیشتر از یونجه آزمایشی بوده که مربوط به افزایش مواد تانن دار در یونجه پژوهش حاضر می‌باشد (۳۶).

استفاده از PEG جهت خنثی کردن تانن و اثرات سمی آن، نکته قابل توجه می‌باشد (۳۵). البته شاید کاهش این اثرات سمی تانن‌های متراکم توسط PEG مناسب نباشد چون باعث افزایش تولید گاز متان می‌شود. افزودن PEG به خوراک‌های دارای تانن (به‌ویژه تانن متراکم) باعث ازدیاد تولید کل گاز حاصل از تخمیر در شکمبه می‌گردد. افزودن PEG به خوراک‌های بدون تانن، شاید تولید کل گاز را سبب نشود ولی تولید گاز متان را بیشتر می‌کند لذا در کاربرد PEG باید دقت فراوان شود. نرخ تولید گاز متان در تفاله انگور کمترین و در تفاله لیموترش بیشترین مقدار

جدول ۵- اثرات PEG بر فراسنجه‌های تولید گاز متان در تیمارهای آزمایشی (میلی لیتر به ازای هر ۲۰۰ میلی گرم)

تیمارها	متان تولیدی از بخش محلول	متان تولیدی بخش نامحلول دیر تخمیر	نرخ تولید متان (میلی لیتر در ساعت)	نسبت متان تولیدی (غیر تجمعی) به کل گاز
تیمارهای فاقد PEG	۴/۶	۴۹/۰	۰/۱۰	۱۲/۱
تیمارهای حاوی PEG	۵/۱	۵۰/۷	۰/۱۱	۱۳/۲
SEM	۰/۴	۴/۷	۰/۰۱	۰/۷
سطح احتمال	۰/۵۸	۰/۸۸	۰/۱۹	۰/۴۳
شاهد	۳/۷ ^c	۴۲/۹ ^d	۰/۱۰ ^d	۱۳/۴ ^c
شاهد با PEG	۳/۶ ^c	۴۶/۶ ^c	۰/۱۱ ^c	۱۶/۰ ^a
تفاله انگور	۲/۷ ^d	۱۷/۶ ^f	۰/۰۷ ^e	۱۳/۷ ^c
تفاله انگور با PEG	۴/۶ ^b	۳۳/۱ ^e	۰/۱۰ ^d	۱۵/۱ ^b
تفاله لیموترش	۷/۵ ^a	۸۲/۸ ^a	۰/۱۳ ^a	۹/۳ ^d
تفاله لیموترش با PEG	۷/۱ ^a	۷۶/۳ ^b	۰/۱۳ ^b	۸/۶ ^d
SEM	۰/۹	۱۱/۲	۰/۰۱	۱/۴
سطح احتمال	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱

حروف متفاوت در هر ستون، نشانه تفاوت معنی داری بین میانگین‌ها می‌باشد ($P < 0/05$). PEG: پلی اتیلن گلیکول و SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

بیشتر از بقیه تیمارهای آزمایشی ($P < 0/05$) شد. اما انرژی متابولیسمی، انرژی خالص شیردهی و قابلیت هضم تفاله انگور کمتر ($P < 0/05$) از خوراک‌های دیگر آزمایشی شد (۲۷، ۲۴). قابلیت هضم ماده خشک تفاله انگور ۲۵ تا ۳۸ درصد گزارش شد که نوع و رقم انگور در آزمایشات آنها با این تحقیق متفاوت بود (۲۷). افزودن PEG به تفاله لیموترش، اثری در تمام شاخص‌های انرژی و قابلیت هضم نداشت و فقط باعث کاهش تولید گاز متان شد.

افزودن PEG به تفاله انگور باعث خنثی شدن اثر تانن شده و در نتیجه موجب افزایش چشمگیری در مقدار تولید گاز متان شد. البته در تفاله لیموترش که مواد تانن‌دار بسیار کم بوده، افزودن PEG موجب کاهش مقدار تولید گاز متان شد که این یافته دارای نوآوری بوده و نیاز به تحقیقات بیشتری دارد. بر اساس جدول ۶ تمام شاخص‌های انرژی و شاخص‌های قابلیت هضم تیمارهای آزمایشی متفاوت ($P < 0/05$) شد. میزان انرژی خام تفاله انگور به دلیل افزایش در میزان ماده آلی، دیواره سلولی، چربی خام و ترکیبات فنلی،

جدول ۶- اثرات (افزودن و متقابل) PEG بر شاخص‌های انرژی (MJ/Kg) و قابلیت هضم (%). تیمارهای آزمایشی

تیمارها	شاخص انرژی			شاخص قابلیت هضم		
	خام	قابل متابولیسم	خالص شیردهی	ماده خشک	ماده آلی	ماده آلی در ماده خشک
تیمارهای فاقد PEG	۱۸/۷	۹/۶	۵/۴	۳۶/۷	۶۳/۹	۴۰/۴
تیمارهای حاوی PEG	۱۸/۷	۱۰/۰	۵/۸	۳۷/۱	۶۶/۶	۴۰/۸
SEM	۱/۲	۱/۲	۱/۱	۱/۶	۸/۰	۱/۵
سطح احتمال	۱	۱/۸۱۲	۰/۸۱	۰/۸۷	۰/۸۲	۰/۸۸
شاهد	۱۷/۸ ^b	۸/۸ ^b	۴/۶ ^b	۳۷/۳ ^b	۵۹/۷ ^b	۴۰/۹ ^b
شاهد با PEG	۱۷/۸ ^b	۸/۹ ^b	۴/۷ ^b	۳۶/۸ ^b	۶۰/۵ ^b	۴۰/۵ ^c
تفاله انگور	۲۰/۷ ^a	۵/۶ ^d	۲/۱ ^d	۳۰/۷ ^c	۳۷/۰ ^c	۳۴/۶ ^c
تفاله انگور با PEG	۲۰/۷ ^a	۶/۷ ^c	۳/۰ ^c	۳۲/۱ ^c	۴۴/۰ ^b	۳۵/۹ ^d
تفاله لیموترش	۱۷/۵ ^c	۱۴/۴ ^a	۹/۵ ^a	۴۲/۳ ^a	۹۴/۸ ^a	۴۵/۷ ^a
تفاله لیموترش با PEG	۱۷/۵ ^c	۱۴/۵ ^a	۹/۶ ^a	۴۲/۵ ^a	۹۵/۳ ^a	۴۵/۹ ^a
SEM	۲/۹	۱/۷	۱/۴	۲/۲	۱۱/۱	۲/۱
سطح احتمال	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱

حروف متفاوت در هر ستون، نشانه تفاوت معنی‌داری بین میانگین‌ها می‌باشد ($P < 0.05$). PEG، پلی‌اتیلن‌گلیکول و SEM، خطای استاندارد میانگین‌ها.

افزودن PEG به مواد متراکم پر انرژی می‌تواند باعث بهبود بهره‌وری تخمیر شکمبه شود. همچنین استفاده مناسب از تفاله انگور در تغذیه نشخوارکنندگان، به سبب داشتن تانن می‌تواند مفید باشد.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم تحقیقاتی شرکت عالیفرد (سن‌ایچ) به جهت تامین تفاله‌های آزمایشی، تشکر می‌گردد. همچنین از ریاست و معاونین محترم موسسه تحقیقات علوم دامی کشور به دلیل تامین منابع مالی و نیز از مدیر و کارشناسان آزمایشگاه‌های علوم دامی موسسه، قدردانی می‌شود.

در مجموع ارزش غذایی تفاله لیموترش از تفاله انگور بیشتر شد اما اضافه کردن PEG، باعث تغییر رفتار دوگانه‌ای در تولید گازمتان شد به نحوی که در تفاله‌های انگور و لیموترش به ترتیب باعث افزایش و کاهش معنی‌داری ($P < 0.05$) در تولید گازمتان شد. با توجه به یافته‌های این تحقیق تاکید می‌گردد که استفاده مناسب از تفاله انگور بدون افزودن PEG در جیره غذایی نشخوارکنندگان، می‌تواند باعث بهبود بازده تخمیر شکمبه‌ای و کاهش گاز آلاینده متان شود. اگر PEG به مواد متراکم پر انرژی و دارای کربوهیدرات‌های غیرفیبری از جمله تفاله لیموترش اضافه گردد نیز باعث کاهش تولید گاز متان شده، هرچند در میزان تولید کل گاز تفاوتی ندارد. لذا

منابع

1. Alipour, D. and Y. Rouzbehan. 2006. Effects of ensiling grape pomace and addition of polyethylene glycol on in vitro gas production and microbial biomass yield. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 137: 138-149.
2. A.O.A.C. 2005. Official methods of analysis. 16th edn. Association of Official Analytical Chemistis, Arlington, VA, USA.
3. Bahrami, Y., A.D. Foroozandeh, F. Zamani, M. Modarresi, S. Eghbal-Saeid and S. Chekani-Azar. 2010. Effect of diet with varying levels of dried grape pomace on dry matter digestibility and growth performance of male lambs. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 6.1: 605-610.
4. Beauchemin, K.A., S.M. Mcginn, T.F. Martinez and T.A. McAllister. 2007. Use of condensed tannin extract from *quebracho* trees to reduce methane emission from cattle. *Journal of Animal Sciences*, 85: 1900-1906.
5. Benchaar, CH. and H. Greathead. 2011. Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 167: 338-355.
6. Ben-Salem, H. 1999. Intake, digestibility, urinary excretion of purine derivatives and growth by sheep given fresh, air dried or polyethylene treated foliage of *Acacia cyanophylla* lindl. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 78: 297-311.
7. Church, D.C. 1991. *Livestock Feeds and feeding*. Prentice-Hall. International, Inc. 350. 3 ed. 97-99 pp.
8. Cottle, D.J., J.V. Nolan and S.G. Wiedemann. 2011. Ruminant enteric methane mitigation: A review. *Journal of Animal Production Science*, 51: 491-514
9. Dijkstra, J., S.M. Van Zijderveld, J.A. Apajalahti, A. Bannink, W.J.J. Gerrits, J.R. Newbold, H.B. Perdok and H. Berends. 2011. Relationships between methane production and milk fatty acid profiles in dairy cattle. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 167: 590-595.
10. Food and Agriculture Organization. 2004. *Assessing quality and safety of animal feeds*. 315 pp.
11. Food and Agriculture Organization. 2010. *Statistic. Statistical year book*. P: 562.
12. Fievez, V., C. Boeckart, B. Vlaeminck, J. Mestdagh and D. Demeyer. 2007. In vitro examination of DHA-edible micro-algae: Effect on rumen methane production and apparent degradability of hay. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 136: 80-95.
13. Halimi-Shabestari, A., R. Salamatdoust-nobar, N. Maheri-Sis, A. Ghorbani, K. Mirzadeh-Ahari, A. Noshadi, H. Samadi and J. Saliminezhad. 2011. Evaluation effects of clove methanol extract on methane production in the in vitro condition. *Pakistan Journal of Nutrition*, 10(12): 1154-1157.
14. Getachew, G., H.P.S. Makkar and K. Becker. 1998. Localization and quantification of tannins in multipurpose tree leaves using a histochemical approach with image analysis. 2nd International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry (ECSOC):1-30.
15. Kamalak, A., O. Canbolat, Y. Gurbuz, O. Ozay, C.O. Ozkan and M. Sakarya. 2004. Chemical composition and in vitro gas production characteristics of several tannin containing tree leaves. *Journal of Livestock Research for Rural Development*, 6: 16-22.

16. Khazaal, K., Z. Parissi, C. Tsiouvaras, A. Nastis and E.R. Ørskov. 1996. Assessment of phenolics related antinutritive levels using the in vitro gas production technique: A comparison between different molecular weight of polyvinylpyrrolidone or polyethylene-glycol. *Journal of Science Food Agriculture*, 71: 405-414.
17. Khazaal, K., M.T. Dentino, J.M. Ribeiro and E.R. Ørskov. 1995. Prediction of apparent digestibility and voluntary intake of hays feed to sheep: comparison between using fiber components: in vitro digestibility or characteristics of gas production or nylon bag degradation. *Journal of Animal Science*, 61: 527-538.
18. Madrid, J., F. Harnandez, M.A. Pulgar and J.M. Cid. 1996. Dried lemon as energetic supplement of diet based on urea-treated barley straw effects on intake and digestibility in goats. *Journal of Animal Feed Science Technology*, 63: 89-98.
19. Makkar, H.P.S. 1995. Applications of the in vitro gas method in the evaluation of feed resources and enhancement of nutritional value of tannin-rich tree/browse leaves and agro-industrial by-products. *Animal Production and Health Section. International Atomic Energy Agency, Vienna.*
20. Makkar, H.P.S. 2003. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Journal of Small Ruminant Research*, 49: 241-256.
21. Makkar, H.P.S. and P.E. Vercoe. 2007. *Measuring Methane Production from Ruminants*. Eds. Springer: Dordrecht. The Netherlands. 148 pp.
22. Mansfield, H.R., M.D. Stern and D.E. Otterby. 1994. Effects of beet pulp and animal by-products on milk yield and in vitro fermentation by rumen microorganisms. *Journal Dairy Science*, 77: 205-211.
23. Menke, K.H. and H. Steingass. 1988. Estimation of energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro production using rumen fluid. *Journal of Animal Research and Development*, 28: 7-55.
24. Moghaddam, M., A. Taghizadeh, A. Nobakht and A. Ahmadi. 2012. Determination of metabolizable energy of grape pomace and raisin vitis leaves using in vitro gas production technique. *International Journal of Agriculture: Research and Review*. 2: 891-896.
25. National Research Council. 2007. *Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids and new world camelids*. 6th ed. National Academy Press, Washington, DC, USA.
26. Oliveira, R.A., C.D. Narciso, R.S. Bisinotto, M.C. Perdomo, M.A. Ballou, M. Dreher and J.E.P. Santos. 2010. Effects of feeding polyphenols from pomegranate extract on health, growth, nutrient digestion and immunocompetence of calves. *Journal Dairy Science*, 93: 4280-4291.
27. Oluyemi, F. and C.S. Ough. 1990. Effect of structural constituents of cell wall on the digestibility of grape pomace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38: 966-968.
28. Ørskov, E.R. and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighed according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science*, 92: 499-512.
29. Ozduven, L. 2005. Determination of fermentation and feed value characteristics of grape pomace silage. *Journal of Science*, 6: 45-50.

30. Patra, A.K. and J. Saxena. 2009. Dietary phytochemicals as rumen modifiers: A review of the effects on microbial populations. *Antonie van Leeuwenhoek*, 96: 363-375.
31. Pirmohammadi, R., O. Hamidi and A. Mohsenpur-Azari. 2007a. Effects of polyethylene-glycol (PEG) addition on composition, degradability and digestibility of white grape pomace. *Journal of Animal and Veterinary Advanaces*, 6.9: 1135-1139.
32. Pirmohammadi, R., A. Golgasemgarebagh and A. Mohsenpur-Azari. 2007b. Effects of ensiling and drying of white grape pomace on chemical composition, degradability and digestibility for ruminants. *Journal of Animal and Veterinary Advanaces*, 6.9: 1079-1082.
33. R statistical software. 2013. R 3.0.2. (www.r-project.org). *The R Journal*, (5/1). June.
34. Radmehr, A. 2011. *Amarnameh Keshavarzi*. 2nd end. Ministry of Jahade-Keshavarzi Press, Tehran, IRAN. 425 pp. (In Persian)
35. Sallama, S.M.A.H., I.C.S. Buenob, P.B. Godoy, E. F. Nozella, D.M.S.S. Vittib and A.L. Abdalla. 2010. Ruminal fermentation and tannins bioactivity if some browses using a semi-automated gas production technique. *Journal of Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 12:1-10.
36. Schroder, J.M. 1999. By-products and regionally available alternative feedstuffs for dairy cattle. *Extension dairy specialist, NDSU animal and range sciences-NDSU Extension service*, AS: 1180.
37. Tisserand, J.I. and M. Valls. 2004. Evaluation of the nutritive value of mediterranean roughages. *Mediterranean Agronomic Institute of Zaragoza (IAMZ): International Centre for Advanced Mediterranean Agronomic Studies (CIHEAM)*.
38. Van Soest, P.J. 1967. New chemical procedures for evaluation forages. *Journal of Animal Science*, 23: 838-847.
39. Van Soest, P.J. 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant*. Cornell University Press. Ithaca. NY. Chaps 3 and 8: 22-39: 108-121.
40. Wadhwa, M. and M.P.S. Bakshi. 2013. Utilization of fruit and vegetable wastes as livestock feed and as substrates for generation of other value-added products. *FAO. Publication*. 58 pp.

Effects of Adding Poly-Ethylene-Glycol on Methane Production in Rumen, Digestion and Metabolic Energy of Grape and Lime Pomaces

Amir-Reza Safaei¹, Nor-Mohammad Torbatinejad², Hormoz Mansouri³ and Saeed Zerehdaran⁴

1- Ph.D. Student, Agricultural Science and Natural Resources University of Gorgan
(Corresponding author: amirrezasafaei@yahoo.com)

2 and 4- Professor and Associate Professor, Agricultural Science and Natural Resources University of Gorgan

3- Assistant Professor, Animal Science Research Institute

Received: November 30, 2013 Accepted: May 25, 2014

Abstract

This experiment was carried out to investigate the effects of adding Poly-Ethylene-Glycol (PEG) on grape and lime pomaces on methane production by ruminal fermentation, digestion and metabolism energy. Grape and lime pomaces remained from in fruit juices were collected and were transferred to laboratory. The pomaces were dried (by fit ventilation) and were milled (by sieve 1mm). Chemical compositions including CP, NDF, Ash, EE, GE, OM, NFC, TP and TT were measured. The gas production test for various ruminal fermentation periods and methane production were analysed using six treatments containing different amounts of grape pomace, lime pomace and control. Results were analyzed by R statistical software, using factorial design with three repetitions. Chemical composition of grape and lime pomaces were significantly ($P < 0.05$) different. Methane production (in 24 hours for per 200 mg) of the grape pomace (with and without PEG) was 13.3 and 27.7 ml and for lime pomace (with and without PEG) was 73.8 and 67.3 ml respectively. In conclusion, a significant increase on digestion and metabolic energy was observed after adding PEG to grape and lime pomaces. Adding PEG to grape pomace increased methane production while it decreased methane production in lime pomace.

Keyword: Poly-Ethylene-Glycol, Methane production, Grape, Lime, Pomace