



استفاده از عصاره محصول فرعی پسته استخراج شده با حلال‌های مختلف به منظور کاهش تجزیه پذیری شکمبه‌ای پروتئین کنجاله کلزا

پیروز شاکری^۱، احمد ریاسی^۲ و علی مداحیان^۳

۱- استادیار بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

(نویسنده مسوول: Pirouz_shakeri@yahoo.co.uk)

۲- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

۳- استادیار، گروه علوم کشاورزی، دانشگاه پیام نور،

تاریخ دریافت: ۹۶/۸/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۲/۲۳

چکیده

این آزمایش با هدف بررسی تأثیر عصاره محصول فرعی پسته در محافظت از تجزیه پروتئین‌های کنجاله کلزا در شکمبه انجام شد. از محصول فرعی پسته با حلال‌های آب، اتانول ۷۰ درصد، متانول ۸۰ درصد و مخلوط کلروفرم و متانول عصاره‌گیری شد. مقادیری از عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی به کنجاله کلزا اضافه شد تا میزان تانن اضافه شده به مخلوط به صفر، ۰/۵ و یک درصد رسید. میزان ناپدیدشدن شکمبه‌ای و پس از شکمبه‌ای و همچنین تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام با سه تکرار اندازه‌گیری شد. برای تعیین میزان ناپدیدشدن شکمبه‌ای و تجزیه‌پذیری نمونه‌ها، از سه رأس گاو نر اخته شده تالشی مجهز به فیستولای شکمبه‌ای و برای تعیین میزان ناپدیدشدن پس از شکمبه‌ای از دستگاه شبیه‌ساز هضم استفاده شد. عصاره‌های آب، اتانول، مخلوط کلروفرم و متانول به ترتیب ۳۷/۱۱، ۵۹/۶۴، ۵۶/۸۷ و ۷/۵۵ درصد از تانن موجود در محصول فرعی پسته را استخراج کردند. فرآوری کنجاله کلزا با ۰/۵ درصد تانن عصاره آبی و یک درصد تانن عصاره متانولی سبب کاهش ناپدیدشدن شکمبه‌ای پروتئین خام شد ($p < 0.01$)، بدون آن که میزان ناپدیدشدن پروتئین خام در کل دستگاه گوارش را تحت تأثیر قرار دهد. همچنین افزودن ۰/۵ و یک درصد تانن عصاره آبی به کنجاله کلزا میزان پروتئین‌های با تجزیه‌پذیری سریع در شکمبه را کاهش داد ($p < 0.01$). به طور کلی نتایج این آزمایش نشان داد که تانن عصاره‌های آبی و اتانولی محصول فرعی پسته می‌توانند در محافظت از تجزیه پروتئین کنجاله کلزا در شکمبه مؤثر باشند، هر چند استفاده از تانن عصاره آبی محصول فرعی پسته می‌تواند اقتصادی و کاربردی تر باشد.

واژه‌های کلیدی: عصاره، تجزیه‌پذیری، محصول فرعی پسته و کنجاله کلزا

مقدمه

بهینه‌سازی بازده استفاده از پروتئین جیره به انتخاب مکمل‌های پروتئینی و غیر پروتئینی که نیتروژن مورد نیاز میکروارگانیزم‌های شکمبه را برای ساخت بیشترین مقدار پروتئین میکروبی فراهم می‌کنند و همچنین به انواع و مقادیر پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه (RUP) و قابل هضم در روده باریک بستگی دارد (۱۶). بخشی از پروتئین خام مصرفی نشخوارکنندگان در شکمبه تجزیه شده و مورد استفاده میکروارگانیزم‌ها قرار می‌گیرد و بخش دیگر پروتئین از تخمیر شکمبه‌ای فرار کرده و به طور مستقیم وارد روده باریک می‌شود. پروتئین تجزیه شده در شکمبه، با حضور کربوهیدرات‌های آسان تخمیر به پروتئین میکروبی تبدیل و نهایتاً از شکمبه وارد روده باریک می‌شود (۷). پروتئین وارد شده به روده نیز به صورت اسید آمینه جذب می‌شود. به عبارت دیگر پروتئین قابل متابولیسم متشکل از پروتئین میکروبی وارد شده به روده، پروتئین عبوری و بخشی از نیتروژن درون‌زادی موجود در خون است که از طریق بزاق و دیواره شکمبه وارد دستگاه گوارش می‌شوند (۲۴).

در یک جیره متوازن باید مقدار کافی از پروتئین قابل تجزیه در شکمبه (RDP) برای به حداکثر رساندن ساخت پروتئین میکروبی و همچنین مقدار کافی از RUP با یک الگوی مناسب از اسیدهای آمینه فراهم باشد تا پروتئین میکروبی را تکمیل و از این طریق تولیدات دامی را به حداکثر و اتلاف نیتروژن را به حداقل برساند (۹).

در شرایطی که RDP جیره بیش از حد باشد، مقدار زیادی آمونیاک در شکمبه تولید می‌شود، که مازاد آن در کبد به اوره

تبدیل شود (۱۶). با تجزیه بیش از حد پروتئین‌ها در شکمبه، لازم است برای تأمین اسیدهای آمینه مورد نیاز حیوان پروتئین جیره افزایش یابد و استفاده از جیره‌های با پروتئین بالا دارای معایبی نظیر تأثیر منفی بر سلامت دام، تأثیر نامطلوب بر عملکرد تولیدی و تولیدمثلی دام، هدروری انرژی برای دفع نیتروژن اضافی، افزایش دفع نیتروژن به محیط و اثرات زیست‌محیطی آن، افزایش هزینه خوراک و کاهش کیفیت پروتئین شیر را به همراه دارد (۲۴).

کنجاله کلزا یکی از مکمل‌های پروتئینی است که به طور گسترده (۷۳/۴ درصد) در شکمبه تجزیه می‌شود و منبع محدودی از RUP برای نشخوارکنندگان می‌باشد (۱۶). میزان بالای پروتئین RDP در این کنجاله نه تنها بازده استفاده از پروتئین را کاهش می‌دهد، بلکه بار متابولیکی زیادی را بر حیوان تحمیل و عملکرد شیرواری را کاهش می‌دهد.

عصاره‌های گیاهی حاوی ترکیبات فنلی و تانن‌ها از طریق تغییر در اکوسیستم میکروبی شکمبه، توانایی تغییر در متابولیسم شکمبه را دارند و اخیراً تحقیقات روی این ترکیبات باهدف افزایش بازده متابولیسم در شکمبه و در نهایت افزایش تولید حیوانات متمرکز شده است (۱۹). تانن‌ها میل ترکیبی بالایی با پروتئین‌ها دارند و از طریق ایجاد اتصال با پروتئین‌ها سبب ایجاد پیوندهای آب‌گریز می‌شوند (۱۹، ۲۵). گزارش شده است که وجود سطوح پایین و متوسط تانن در جیره می‌تواند باعث کاهش هضم پروتئین در شکمبه و افزایش پروتئین عبوری به روده کوچک شود و هیدرولیز آنزیمی بیشتری از پروتئین‌ها را در قسمت‌های پایین دستگاه گوارش فراهم نماید (۴).

و تعیین نسبت آن به محصول فرعی پسته استفاده شده، بازده عصاره‌گیری تعیین شد.

تجزیه شیمیایی نمونه‌ها

ترکیب شیمیایی محصول فرعی پسته آفتاب خشک و کنجاله کلزای مورد استفاده در آزمایش تعیین شد. مقادیر لیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) و لیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) با دستگاه تجزیه فیبر و با روش ون سوست و همکاران (۲۹) اندازه‌گیری شد. غلظت پروتئین خام با دستگاه میکروکلدال تعیین گردید (۵). مقدار ترکیبات فنلی و تانن کل در محصول فرعی پسته و همچنین در عصاره‌های استخراج شده با حلال‌های مختلف، از طریق طیف‌سنجی و با استفاده از معرف فولین شیکالتو و استاندارد اسید تانیک تعیین شد (۱۳).

مکمل کردن کنجاله کلزا با عصاره‌ها

برای محافظت از تجزیه پروتئین کنجاله کلزا در شکمبه با استفاده از عصاره محصول فرعی پسته، مقادیری از هر یک از عصاره‌ها (۳ نوع عصاره؛ عصاره مستخرج با حلال مخلوط کلرفرم و متانول به علت بازده پایین عصاره‌گیری از آزمایش حذف گردید و برای فرآوری کنجاله کلزا استفاده نشد) به کنجاله کلزا اضافه تا میزان کل تانن اضافه‌شده به مخلوط کنجاله و عصاره به ۰/۵ و یک درصد برسد. برای اضافه کردن عصاره‌ها به کنجاله، عصاره‌ها با اتانول ۷۰ درصد (با نسبت مساوی وزن به حجم) محلول شدند (۲۶). به منظور مرطوب شدن کنجاله‌ها مقدار ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر روی ۲۰۰ گرم کنجاله کلزا اسپری و پس از آن عصاره محلول به کنجاله مرطوب اضافه شد. مخلوط به مدت ۵ دقیقه در هم‌زن برقی به هم زده شد و پس از آن به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۵۵ درجه‌سانتی‌گراد خشک گردید. کنجاله‌ها مجدداً با آسیاب آزمایشگاهی مجهز به غربال با منافذ یک میلی‌متر آسیاب شدند.

حیوانات آزمایشی

آزمایش‌های هضمی در موسسه تحقیقات علوم دامی کشور با استفاده از ۳ رأس گاو نر اخته‌شده تالشی با سن حدود ۵ سال و میانگین وزن 297 ± 10 کیلوگرم مجهز به فیستولای شکمبه‌ای انجام شد. گاوها با جیره کاملاً مخلوط (جدول ۱) به صورت تغذیه آزاد، روزانه در ۲ نوبت در ساعات ۸/۰۰ و ۱۶/۰۰ تغذیه شدند.

با استفاده از جیره‌های حاوی محصول فرعی پسته تجزیه پروتئین‌ها در شکمبه کاهش یافته است (۲۵). ضمن اینکه استفاده از عصاره محصول فرعی پسته در جیره بره‌های پروری (۲۰) و گوساله‌های نر هلشتاین (۱۲) غلظت نیتروژن آمونیاکی را در شکمبه کاهش دادند. همچنین مکمل کردن کنجاله کلزا با عصاره آبی محصول فرعی پسته در شرایط آزمایشگاهی تولید گاز، غلظت نیتروژن آمونیاکی را کاهش داد (۲۸) و یا عصاره تفاله انگور حاوی تانن، تجزیه‌پذیری کنجاله سویا در شکمبه را کاهش و قابلیت هضم پروتئین عبوری را افزایش داد (۴).

از سوی دیگر سالانه مقدار زیادی (۵۰۰ هزار تن در سال) محصول فرعی پسته در مناطق پسته‌خیز کشور تولید می‌شود که حاوی $10/38 \pm 2/56$ درصد ترکیبات فنلی و $6/16 \pm 2/18$ درصد تانن است (۲۶)، و می‌تواند برای استخراج عصاره تاننی مورد استفاده قرار گیرد (۱۴، ۱۲). از آن‌جا که حلال‌های مختلف مقادیر متفاوتی از ترکیبات فنلی را از مواد گیاهی استخراج می‌کنند و مواد موجود در گیاهان ممکن است در حلال‌های قطبی یا غیر قطبی، محلول و یا نامحلول باشند (۱۷)، لازم است خصوصیات عصاره‌های تاننی محصول فرعی پسته که با حلال‌های مختلف استخراج شده‌اند مورد بررسی قرار گیرد. این آزمایش با هدف بررسی تأثیر استفاده از عصاره تاننی محصول فرعی پسته برای محافظت از تجزیه پروتئین کنجاله کلزا در شکمبه و افزایش پروتئین عبوری آن از شکمبه انجام شد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی محصول فرعی پسته و عصاره‌گیری

در زمان برداشت پسته، با ۳ بار مراجعه به یکی از پایانه‌های فرآوری پسته در حومه شهر کرمان، هر بار حدود ۵۰ کیلوگرم محصول فرعی پسته (شامل پوست نرم رویی، دم خوشه‌ها، برگ‌ها، سرشاخه‌ها و مقداری پسته‌های پوک و نیمه مغز) تهیه و در مقابل آفتاب کاملاً خشک شد. محصول تهیه‌شده با آسیاب آزمایشگاهی مجهز به الک با قطر منافذ یک میلی‌متر آسیاب شد. برای عصاره‌گیری از محصول تهیه‌شده از ۴ حلال شامل آب، اتانول ۷۰ درصد (۷۰ درصد اتانول و ۳۰ درصد آب)، متانول ۸۰ درصد (۸۰ درصد متانول و ۲۰ درصد آب) و مخلوط کلروفرم و متانول (۵۰ درصد کلروفرم و ۵۰ درصد متانول) استفاده شد (۶). پس از تعیین مقدار عصاره خشک به دست آمده

جدول ۱- جیره غذایی گاوهای نر اخته‌شده آزمایشی

Table 1. Diet of castrated male cows

درصد ماده خشک	مواد خوراکی
۱۶/۶۷	کاه گندم
۵۰/۰۰	یونجه خشک
۲۶/۶۷	دانه جو
۳/۳۳	دانه ذرت
۱/۶۶	سبوس گندم
۱/۳۳	کنجاله پنبه دانه
۰/۳۴	مکمل ویتامینی و معدنی

آزمایش‌های هضمی

برای تعیین میزان ناپدیدشدن شکمبه‌ای، حدود ۳ گرم از هر نمونه (۷ تیمار آزمایشی) با ۶ تکرار در داخل کیسه‌های نایلونی با ابعاد ۱۲×۶ سانتی‌متر با منافذ ۵۰ میکرومتر ریخته شد. کیسه‌های حاوی نمونه به مدت ۱۲ ساعت در شکمبه گاوهای انکوباسیون شدند و پس از خروج، بلافاصله در آب سرد قرار گرفتند. پس از انتقال کیسه‌ها به آزمایشگاه ۳ مرتبه و هر بار ۵ دقیقه در ماشین لباسشویی شستشو و آب‌کشی شدند. محتویات کیسه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد خشک و سپس توزین شدند. پس از اندازه‌گیری مقدار نمونه باقی‌مانده در کیسه‌ها، از محتویات ۳ کیسه برای تعیین میزان پروتئین خام و از ۳ کیسه دیگر برای تعیین قابلیت هضم پس از شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام استفاده شد (۲).

برای تعیین قابلیت هضم پس از شکمبه‌ای با استفاده از دستگاه شبیه‌ساز هضم، تعداد ۳ کیسه از ۶ کیسه انکوباسیون شده در شکمبه، به مدت ۳۰ دقیقه در محلول ۰/۱ درصد متیل سلولوز با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در بن‌ماری شیکردار انکوباسیون گردید. کیسه‌ها به همراه محتویات، حدود ۵ ساعت در هوای آزاد قرار گرفته و سپس ۴۸ ساعت در آون با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد کاملاً خشک شدند. پس از آن کیسه‌های حاوی نمونه در ۲ مرحله شامل: (۱) یک ساعت با ۲ لیتر محلول ۰/۱ نرمال اسیدکلریدریک با pH ۱/۹ و ۲ گرم پپسین، (۲) ۲۴ ساعت با ۲ لیتر محلول بافر حاوی ۱۳۶/۱ گرم پتاسیم دی‌هیدروژن فسفات، ۰/۱ گرم تیمول و ۶ گرم پانکراتین در داخل بطری‌های دستگاه شبیه‌ساز هضم Daisy^{II} انکوباسیون گردید (۲). برای تعیین قابلیت هضم ماده خشک، وزن باقی‌مانده درون کیسه تعیین شد و برای تعیین قابلیت هضم پروتئین خام، میزان پروتئین خام موجود در باقی‌مانده داخل کیسه‌ها تعیین گردید و سپس قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام، پس از شکمبه و در کل دستگاه گوارش محاسبه شد (۲).

برای تعیین روند تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام در نمونه‌های آزمایشی، با انکوباسیون نمونه‌ها به مدت صفر، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در شکمبه گاوها تعیین شد. برای این منظور حدود ۳ گرم از هر نمونه با ۳ تکرار (هر کیسه در شکمبه هر یک از گاوها) در داخل کیسه‌هایی از جنس پلی‌استر با ابعاد ۱۲×۶ سانتی‌متر و با منافذ ۵۰ میکرومتر ریخته شد. کیسه‌ها در زمان‌های مذکور از شکمبه خارج شدند و پس از شستشوی سریع با آب سرد، ۳

مرتبه و هر بار به مدت ۵ دقیقه در ماشین لباسشویی شستشو و آب‌کشی شدند. محتویات کیسه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد خشک و سپس توزین گردیدند. برای تعیین تجزیه‌پذیری ماده خشک، باقی‌مانده داخل کیسه‌ها توزین شد و سپس برای تعیین تجزیه‌پذیری پروتئین، میزان پروتئین خام محتویات کیسه‌ها تعیین شد. فرا سنج‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام تیمارهای آزمایشی با استفاده از نرم‌افزار (A) Fitcurve از طریق رابطه $P = a + b(1 - e^{-ct})$ برآورد گردید (۱۸). در این معادله، P: مقدار ناپدیدشده در زمان t، a: بخش با تجزیه سریع، b= بخش با تجزیه کند، c: ثابت نرخ تجزیه و t: مدت‌زمان انکوباسیون در شکمبه (ساعت) می‌باشند.

همچنین تجزیه‌پذیری مؤثر نمونه‌ها با استفاده از معادله $ED = a + [(b \times c) / (c + k)]$ و با در نظر گرفتن نرخ عبور ۰/۰۴، ۰/۰۶ و ۰/۰۸ در ساعت محاسبه شد. اجزای این معادله:

ED: تجزیه‌پذیری مؤثر، a: بخش با تجزیه سریع، b: بخش با تجزیه کند، c: ثابت نرخ تجزیه و k: نرخ عبور می‌باشند.

تجزیه آماری داده‌ها

آزمایش‌های هضمی در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با ۷ تیمار و ۳ تکرار انجام شد. مدل آماری مورد استفاده برای فرا سنج‌های مورد بررسی به شرح زیر بود:

$$Y_{ijl} = \mu + t_i + k_j +_{ijl}$$

که در این معادله: Y_{ijl} : مقدار هر مشاهده، μ : میانگین کل، t_i : اثر تیمار، k_j : اثر حیوان و $_{ijl}$: خطای آزمایشی بود. تجزیه آماری اطلاعات با نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ و با استفاده از رویه GLM انجام شد و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح آماری ۵ درصد انجام شد (۲۳).

نتایج و بحث

ترکیبات شیمیایی محصول فرعی پسته و کنجاله کلزا

میانگین ترکیبات شیمیایی محصول فرعی پسته مورد استفاده برای عصاره‌گیری و کنجاله کلزای مورد استفاده در آزمایش در جدول ۲ نشان داده شده است. ترکیب شیمیایی محصول فرعی پسته در دامنه گزارش شده برای محصول فرعی پسته بود (۲۶). بازده استخراج عصاره از محصول فرعی پسته با حلال‌های مورد استفاده در جدول ۳ نشان داده شده است. بازده استخراج عصاره با حلال‌های آب، اتانول ۷۰ درصد، متانول ۸۰ درصد و مخلوط کلروفرم و متانول به ترتیب ۳۴/۱۹، ۳۲/۱۷، ۲۹/۹۹ و ۱۲/۰۳ درصد تعیین شد ($p < 0.01$).

جدول ۲- میانگین ترکیبات شیمیایی محصول فرعی پسته و کنجاله کلزای مورد بررسی (درصد)

الیاف نامحلول در شوینده خنثی	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی	پروتئین خام	ماده آزمایشی
۲۵/۹۷ ± ۰/۴۴	۱۸/۷۳ ± ۰/۷۷	۱۳/۲۴ ± ۰/۱۹	محصول فرعی پسته
۴۲/۸۹ ± ۰/۵۱	۱۶/۲۶ ± ۰/۳۱	۳۹/۶۴ ± ۰/۴۹	کنجاله کلزا

۵۹/۶۴، ۵۶/۸۷ و ۷/۵۵ درصد از تانن موجود در محصول فرعی پسته را استخراج کردند. این نتایج نشان داد که اتانول ۷۰ درصد و متانول ۸۰ درصد توانایی بیشتری در استخراج ترکیبات فنلی و تانن محصول فرعی پسته داشته‌اند و حلال‌های

تعیین میزان ترکیبات فنلی و تانن کل در محصول فرعی پسته و مقایسه آن با عصاره‌ها نشان داد که استفاده از آب، اتانول، متانول و مخلوط کلروفرم و متانول به ترتیب ۳۶/۹۶، ۵۸/۸۷، ۶۷/۰۲ و ۸/۸۵ درصد از ترکیبات فنلی و ۳۷/۱۱

مناسب‌تری برای عصاره‌گیری از محصول فرعی پسته می‌باشند. در حالی که متفاوت با نتایج این آزمایش، عصاره‌گیری از محصول فرعی پسته با حلال‌های استون ۷۰ درصد، متانول ۵۰ درصد، اتانول ۵۰ درصد و آب نشان داد که استون ۷۰ درصد بیشترین (۱۳/۸۶ درصد) و آب کمترین (۹/۸۷ درصد) مقدار تانن را استخراج نموده است (۱۴)، اختلاف در نتایج را می‌توان به عواملی مانند اندازه ذرات و خصوصیات فیزیکی ماده اولیه، مدت زمان خیساندن در حلال، حرارت محیط و حلال، نسبت حلال مورد استفاده به ماده اولیه و همچنین روش عصاره

جدول ۳- بازده عصاره‌گیری از محصول فرعی پسته و غلظت ترکیبات فنلی و تانن کل در محصول فرعی پسته و عصاره‌های استخراج شده از آن با حلال‌های مختلف

Table 3. Efficiency of pistachio by-product (PBP) extraction and concentration of phenolic compounds and total tannin in PBP and its extracts by different solvents

خطای استاندارد معنی‌داری	سطح	عصاره‌های استخراج شده با حلال‌های مختلف				محصول فرعی پسته	فرا سنجها (درصد)
		کلروفورم و متانول	متانول ۸۰ درصد	اتانول ۷۰ درصد	آب		
۰/۰۰۰۱	۰/۷۳۱	۱۲/۰۳±۰/۲۰	۲۹/۹۹±۰/۵۱	۳۲/۱۷±۰/۵۲	۳۴/۱۹±۱/۷۲	-	بازده عصاره‌گیری
۰/۰۰۰۲	۰/۶۹۳	۱۲/۰۳±۰/۹۰	۳۶/۵۳±۱/۴۴	۳۳/۴۷±۱/۰۲	۱۷/۵۳±۱/۰۷	۱۶/۳۵ ± ۰/۳۹	ترکیبات فنلی
۰/۰۰۰۵	۰/۴۳۲	۶/۰۹±۱/۱۲	۱۸/۳۹±۱/۰۶	۱۷/۹۸±۱/۳۱	۱۰/۵۱±۰/۶۷	۹/۷۰ ± ۰/۴۹	تانن کل

a-c میانگین فراسنجها برای عصاره‌ها در هر سطر با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

ناپدیدشدن ماده خشک کنجاله‌های کلزای مکمل شده با عصاره‌های مختلف محصول فرعی پسته با کنجاله شاهد تفاوتی نداشت، در حالی که در میزان ناپدیدشدن شکمبه‌ای ماده خشک بین کنجاله‌های فرآوری شده با عصاره‌ها تفاوت مشاهده شد (p=۰/۰۲). میزان ناپدیدشدن ماده خشک کنجاله کلزا پس از شکمبه هم تحت تأثیر فرآوری با عصاره‌ها قرار نگرفت، اما میزان ناپدیدشدن ماده خشک کنجاله‌های کلزا در کل دستگاه گوارش اختلاف داشتند (p=۰/۰۳). کمترین میزان ناپدیدشدن ماده خشک در کل دستگاه گوارش مربوط به کنجاله فرآوری نشده (شاهد) با ۶۶/۱۹ درصد و بیشترین میزان ناپدیدشدن ماده خشک در کل دستگاه گوارش مربوط به کنجاله فرآوری شده با یک درصد تانن عصاره آبی با ۶۹/۶۲ درصد بود (p<۰/۰۵).

گزارش شده است که مقادیر متفاوتی از ترکیبات فنلی گیاهان از طریق عصاره‌گیری با حلال‌های مختلف استخراج می‌شود، زیرا ممکن است این مواد بر اثر قطبی یا غیر قطبی بودن در انواع مختلف حلال محلول و یا نامحلول باشند (۱۷). نتایج تحقیقات قبلی نشان داده است که عصاره محصول فرعی پسته دارای خصوصیات ضد باکتریایی در برابر باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی و قارچ‌ها می‌باشد (۲۱) و از این رو پیش‌بینی می‌شود پتانسیل تغییر در اکوسیستم میکروبی شکمبه را داشته باشد (۱۹).

ناپدید شدن ماده خشک و پروتئین خام در دستگاه گوارش
میانگین میزان ناپدیدشدن ماده خشک و پروتئین خام کنجاله کلزای تیمار شده با نسبت‌های مختلف عصاره محصول فرعی پسته در شکمبه پس از ۱۲ ساعت، پس از شکمبه و در کل دستگاه گوارش در جدول ۴ نشان داده شده است. میزان

جدول ۴- میزان ناپدیدشدن ماده خشک و پروتئین خام کنجاله کلزای تیمار شده با انواع و نسبت‌های مختلف عصاره محصول فرعی پسته در شکمبه، پس از شکمبه و کل دستگاه گوارش

Table 4. Rumen, post rumen and total gastrointestinal tract disappearance of dry matter and crude protein in canola meals supplemented with different doses of pistachio by-products extract

کل دستگاه گوارش	میزان ناپدیدشدن (درصد)		شکمبه‌ای		تیمارهای آزمایشی		
	پروتئین خام	ماده خشک	پروتئین خام	ماده خشک	درصد تانن	نوع عصاره (استخراج شده یا)	
پروتئین خام	۸۲/۴۵	۶۶/۱۹ ^c	۶۰/۳۴ ^a	۳۲/۱۴	۵۸/۲۳ ^a	۵۲/۶۷ ^{ab}	صفر (شاهد)
۸۰/۹۷	۶۷/۶۷ ^{abc}	۵۹/۵۴ ^{ab}	۳۱/۱۱	۵۲/۱۰ ^b	۵۳/۰۶ ^{ab}	۰/۵	آب
۸۰/۹۹	۶۹/۶۳ ^a	۵۵/۸۱ ^c	۳۱/۳۸	۵۷/۰۰ ^a	۵۵/۷۴ ^a	۱	
۸۱/۸۲	۶۸/۵۴ ^{ab}	۵۷/۸۴ ^{abc}	۳۱/۴۰	۵۶/۹۱ ^a	۵۵/۱۴ ^a	۰/۵	
۸۰/۸۳	۶۷/۳۱ ^{bc}	۵۶/۲۱ ^c	۳۰/۱۷	۵۵/۴۷ ^a	۵۳/۱۹ ^a	۱	اتانول ۷۰ درصد
۸۱/۷۳	۶۸/۰۶ ^{abc}	۵۸/۳۳ ^{abc}	۲۹/۲۲	۵۶/۳۷ ^a	۵۲/۸۷ ^{ab}	۰/۵	
۷۹/۹۸	۶۷/۵۸ ^{bc}	۵۷/۴۱ ^{bc}	۳۱/۵۷	۵۲/۲۱ ^b	۵۰/۱۶ ^b	۱	متانول ۸۰ درصد
۰/۵۴۳	۰/۵۹۶	۰/۸۲۵	۰/۶۵۳	۰/۸۶۸	۰/۹۰۹		انحراف استاندارد میانگین‌ها
۰/۱۰	۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۱۱	۰/۰۰۹	۰/۰۲		سطح معنی‌داری

- میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون اختلاف دارای معنی‌دار می‌باشند (p < ۰/۰۵).

مکمل‌های تانن متغیر است و تحت تأثیر عواملی چون نوع، منبع و غلظت تانن و همچنین حیوان مصرف‌کننده و جیره پایه قرار می‌گیرد. با این‌وجود معمولاً سطوح پایین و متوسط برخی از تانن‌ها در جیره می‌تواند سبب کاهش هضم پروتئین در شکمبه و افزایش پروتئین عبوری به روده کوچک گردد و افزایش پروتئین عبوری، هیدرولیز آنزیمی بیشتری از پروتئین‌ها را در قسمت‌های پایین دستگاه گوارش در پی دارد (۱۹).

نتایج میزان ناپدیدشدن پس از شکمبه‌ای پروتئین خام کنجاله کلزا نیز نشان داد که کاهش ناپدیدشدن شکمبه‌ای کنجاله فرآوری‌شده با ۰/۵ درصد تانن عصاره آبی و یک درصد تانن عصاره متانولی پس از شکمبه جبران شد و میزان ناپدیدشدن پروتئین خام این کنجاله‌ها در کل دستگاه گوارش با کنجاله کلزای شاهد یکسان بود. این عدم تفاوت را می‌توان به هیدرولیز آنزیمی بیشتر پروتئین‌های باند شده با تانن در بخش‌های پس از شکمبه دستگاه گوارش نسبت داد.

زیرا اتصالات هیدروژنی و آب‌گریزی که بین گروه‌های فنلی و شاخه‌های جانبی پروتئین‌ها در شکمبه ایجاد می‌گردد پس از رسیدن به شیردان با pH بین ۲/۵ تا ۳ و یا دودنوم با pH در حدود ۸ تجزیه می‌شود (۱۹). در تأیید نتایج این آزمایش، وقتی به جیره بره‌های پرواری با ۱۳/۹ و ۱۱/۳ درصد پروتئین خام، عصاره محصول فرعی پسته اضافه گردید، در بره‌های با جیره با پروتئین بیشتر، دفع نیتروژن از طریق ادرار، اوره پلاسما و نیتروژن آمونیاکی شکمبه کاهش و ابقای نیتروژن افزایش یافت (۲۰).

تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام در کنجاله کلزا

میانگین فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک کنجاله کلزای فرآوری‌شده با نسبت‌های مختلف عصاره‌های محصول فرعی پسته در جدول ۵ نشان داده شده است.

جدول ۵- فرا سنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک کنجاله کلزای تیمار شده با انواع و نسبت‌های مختلف عصاره محصول فرعی پسته پس از ۷۲ ساعت انکوباسیون در شکمبه

Table 5. Dry matter degradability parameters of canola meals supplemented with different doses of pistachio by-product extracts after 72 hours incubation in the rumen

تیمارهای آزمایشی	فرا سنجه‌های تجزیه‌پذیری			تجزیه‌پذیری مؤثر (درصد)		
	a	b	c	۰/۰۴	۰/۰۶	۰/۰۸
نوع عصاره (استخراج شده با)	۲۸/۴۸ ^c	۶۶/۳۲ ^a	۰/۰۲۶ ^c	۵۴/۲۰ ^c	۴۸/۱۸ ^c	۴۴/۴۵ ^c
صفر (شاهد)	۲۹/۸۳ ^{bc}	۵۳/۲۴ ^b	۰/۰۴۸ ^{ab}	۵۸/۶۷ ^b	۵۳/۳۳ ^b	۴۹/۶۶ ^b
۱	۳۴/۵۵ ^a	۵۶/۶۴ ^b	۰/۰۳۹ ^b	۶۱/۹۹ ^a	۵۶/۴۲ ^a	۵۲/۷۴ ^a
۰/۵	۳۰/۴۴ ^{bc}	۵۲/۰۳ ^b	۰/۰۵۲ ^{ab}	۵۹/۷۴ ^{ab}	۵۴/۵۲ ^{ab}	۵۰/۸۹ ^{ab}
۱	۲۹/۷۳ ^{bc}	۵۰/۷۶ ^b	۰/۰۶۵ ^a	۶۱/۱۷ ^a	۵۶/۱۴ ^a	۵۲/۵۱ ^a
۰/۵	۳۲/۶۶ ^{ab}	۵۰/۱۵ ^b	۰/۰۴۹ ^{ab}	۶۰/۴۱ ^{ab}	۵۵/۳۷ ^{ab}	۵۱/۸۸ ^a
۱	۳۲/۸۹ ^{ab}	۵۰/۲۸ ^b	۰/۰۵۴ ^{ab}	۶۱/۵۴ ^a	۵۶/۵۰ ^a	۵۲/۹۷ ^a
انحراف استاندارد میانگین‌ها	۱/۰۸۷	۲/۲۱۵	۰/۰۰۵۲	۰/۷۳۲	۰/۷۰۰	۰/۶۵۱
سطح معنی‌داری	۰/۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۶	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱

۱: a = بخش با تجزیه سریع (درصد)، b = بخش با تجزیه کند (درصد) و c = ثابت نرخ تجزیه (در ساعت)
 ۲: تجزیه‌پذیری مؤثر با فرض سرعت عبورهای ۰/۰۴، ۰/۰۶، ۰/۰۸ و ۰/۰۸ ساعت
 - میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P < ۰/۰۵).

میزان ماده خشک با تجزیه سریع ۲۶/۶۸ درصد و مقدار ماده خشک با تجزیه کند ۵۹/۸۸ درصد گزارش شده است (۱) که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد.

بیش‌ترین میزان ناپدیدشدن پروتئین خام در شکمبه با ۵۸/۲۳ درصد مربوط به کنجاله کلزای عمل‌آوری نشده (شاهد) و کمترین میزان ناپدیدشدن پروتئین خام در شکمبه مربوط به کنجاله‌های عمل‌آوری شده با ۰/۵ درصد تانن عصاره آبی و یک درصد تانن عصاره متانولی و به ترتیب برابر با ۵۲/۱۰ و ۵۲/۲۱ درصد بود (P < ۰/۰۱). بیش‌ترین میزان ناپدیدشدن پروتئین خام پس از شکمبه در کنجاله کلزای فرآوری نشده (شاهد) مشاهده شد، که به‌طور معنی‌داری از کنجاله‌های فرآوری‌شده با یک درصد تانن عصاره آبی، یک درصد تانن عصاره اتانولی و یک درصد تانن عصاره متانولی بیشتر بود (P = ۰/۰۲). همچنین میزان ناپدیدشدن پروتئین خام کنجاله کلزا در کل دستگاه گوارش، تحت تأثیر فرآوری با غلظت‌های متفاوت عصاره‌های محصول فرعی پسته قرار نگرفت.

میزان ناپدیدشدن ماده خشک کنجاله کلزای عمل‌آوری نشده پس از شکمبه و در کل دستگاه گوارش به ترتیب ۳۲/۱۴ و ۶۶/۱۹ درصد تعیین شد. فرآوری کنجاله کلزا با ۰/۵ درصد تانن عصاره آبی و یک درصد تانن عصاره متانولی سبب کاهش ناپدیدشدن شکمبه‌ای پروتئین خام در مقایسه با کنجاله شاهد گردید (P < ۰/۰۱). به‌طور مشابه عصاره تانن‌دار گیاه *Citrus ladanifer* سبب کاهش تجزیه‌پذیری مؤثر و قابلیت هضم کنجاله سویا شد (۱۰) و یا عصاره تانن‌دار تفاله انگور تجزیه‌پذیری کنجاله سویا در شکمبه را کاهش و قابلیت هضم پروتئین عبوری را افزایش داد (۴). یا در آزمایش دیگری با استفاده از یک ترکیب تجاری از اساس‌های گیاهی (شرکت Gland سوئیس، با ترکیب اصلی تیمول، گواکول و لیمونن) در جیره گوسفندان به میزان ۱۱۰ میلی‌گرم در روز به ازای هر رأس، تأثیری بر تجزیه‌پذیری کنجاله کلزا نداشت در حالی که تجزیه‌پذیری کنجاله سویا را کاهش داد (۱۵). جمع‌بندی نتایج اثرات مکمل‌های تانن در یک مقاله گزارش شده‌است که پاسخ به

در تعیین فرا سنجه‌های تجزیه‌پذیری کنجاله کلزا میزان ماده‌خشک با تجزیه سریع دامنه‌ای بین ۲۸/۴۸ تا ۳۴/۵۵ درصد و مقدار ماده خشک با تجزیه کند دامنه‌ای بین ۵۰/۱۵ تا ۶۶/۳۲ درصد داشتند. در آزمایشی مشابه، در کنجاله کلزا

یافت ($p < 0.01$)، درحالی‌که افزودن عصاره‌های محصول فرعی پسته به کنجاله کلزا، غلظت پروتئین‌های با سرعت تجزیه کند (بخش b) را نسبت به کنجاله کلزای شاهد تغییر نداد. همچنین با افزودن یک درصد تانن عصاره آبی و یک درصد تانن عصاره متانولی به کنجاله کلزا، نرخ ثابت تجزیه پروتئین خام به‌طور معنی‌داری نسبت به کنجاله کلزای شاهد کاهش یافت ($p < 0.05$). علاوه بر این افزودن تمامی غلظت‌ها از عصاره‌های مورد استفاده در این آزمایش، تجزیه‌پذیری مؤثر پروتئین خام را با فرض سرعت‌های عبور ۰/۰۴، ۰/۰۶ و ۰/۰۸ در ساعت به‌طور معنی‌داری کاهش دادند ($p < 0.01$).

کاهش غلظت پروتئین‌های با تجزیه سریع در کنجاله کلزای مکمل شده با ۰/۵ و یک درصد تانن عصاره آبی، مشابه با نتایج سانتوس و همکاران (۲۲) می‌باشد، که با عمل‌آوری سیلاژ یونجه و علف برمودا با اسیدتانیک، گزارش کردند که میزان پروتئین‌های خام بخش با تجزیه سریع (بخش a) کاهش یافت، زیرا اسیدتانیک با ایجاد اتصالات عرضی با پروتئین‌ها از تجزیه سریع آن‌ها در شکمبه جلوگیری می‌کند.

تأثیر متفاوت عصاره‌ها و غلظت‌های متفاوت آن‌ها بر سرعت تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام در آزمایش حاضر را می‌توان به‌غلظت متفاوت تانن نسبت داد. گزارش شده است که غلظت تانن موجود در خوراک رابطه خطی و منفی با تجزیه‌پذیری ماده خشک دارد (۱۱). به‌طور مشابهی وقتی عصاره تانن کیوبراکو (حاوی ۷۵۰ گرم در کیلوگرم تانن) با غلظت ۲۲/۵ گرم در کیلوگرم به یونجه افزوده شد، قابلیت هضم پروتئین خام را کاهش داد، اما غلظت‌های ۷/۵ تا ۱۵ گرم در کیلوگرم آن بر قابلیت هضم تأثیری نداشتند (۳).

فرآوری کنجاله کلزا با غلظت‌های مختلف عصاره‌های محصول فرعی پسته تأثیر کاهشی بر غلظت ماده خشک با سرعت تجزیه سریع (بخش a) نداشت، درحالی‌که افزودن تمام عصاره‌ها با تمام غلظت‌ها به کنجاله کلزا سبب کاهش غلظت ماده خشک با سرعت تجزیه کند (بخش b) شدند ($p < 0.01$). همچنین ثابت نرخ تجزیه (c) ماده خشک نیز با مکمل شدن کنجاله کلزا با تمام سطوح عصاره‌های مورد بررسی در این آزمایش افزایش یافت ($p < 0.01$). به‌همین ترتیب تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک کنجاله کلزا با فرض سرعت‌های عبور ۰/۰۴، ۰/۰۶ و ۰/۰۸ در ساعت در کنجاله کلزای فرآوری نشده به‌طور معنی‌داری کمتر از کنجاله‌های فرآوری شده با عصاره‌ها بود ($p < 0.01$).

افزایش غلظت ماده خشک با تجزیه سریع در کنجاله‌های کلزای فرآوری شده با عصاره‌ها را می‌توان به تجزیه ترکیبات مغذی استخراج شده همراه با عصاره‌ها نسبت داد. برای مثال عصاره آبی محصول فرعی پسته تنها حاوی ۱۰/۵۱ درصد تانن بود و برای تأمین یک درصد تانن در مخلوط عصاره آبی و کنجاله کلزا مقدار ۱۱/۳۴ گرم از عصاره با ۸۸/۶۶ گرم کنجاله کلزا مخلوط گردید. با توجه به این که حدود ۸۲/۴۸ درصد از عصاره آبی محصول فرعی پسته را ترکیباتی به‌غیر از مواد فنولی استخراج شده با آب تشکیل می‌دهد، احتمالاً این مواد پس از قرارگیری در محیط آبی، به‌صورت محلول با آب در زمان صفر و همچنین در ساعات بعدی انکوباسیون از کیسه‌ها خارج شده و به‌عنوان جزئی از ماده خشک تجزیه شده در شکمبه محاسبه شده‌اند.

فرا سنج‌های تجزیه‌پذیری پروتئین خام کنجاله کلزای تیمار شده با نسبت‌های مختلف عصاره‌های محصول فرعی پسته نیز در جدول ۶ نشان داده شده است. غلظت پروتئین‌های با تجزیه سریع (بخش a) در کنجاله کلزا با مکمل شدن آن با ۰/۵ و یک درصد تانن عصاره آبی کاهش

جدول ۶- فرا سنج‌های تجزیه‌پذیری پروتئین خام کنجاله کلزای تیمار شده با انواع و نسبت‌های مختلف عصاره محصول فرعی پسته پس از ۷۲ ساعت انکوباسیون در شکمبه

Table 6. Crude protein degradability parameters of canola meal supplemented with different doses of pistachio by-product extracts after 72 hours incubation in the rumen.

تجزیه‌پذیری مؤثر ^۲ (درصد)			فرا سنج‌های تجزیه‌پذیری ^۱			تیمارهای آزمایشی	
۰/۰۸	۰/۰۶	۰/۰۴	c	b	a	درصد تانن	نوع عصاره (استخراج شده با)
۵۵/۳۴ ^a	۵۹/۷۰ ^a	۶۶/۵۳ ^a	۰/۰۳۵ ^a	۶۹/۶۸ ^{bc}	۳۴/۰۲ ^a	صفر (شاهد)	عصاره (استخراج شده با)
۴۹/۹۷ ^c	۵۴/۳۶ ^c	۶۱/۲۵ ^c	۰/۰۳۱ ^{ab}	۷۲/۲۷ ^{ab}	۳۰/۰۶ ^b	۰/۵	آب
۵۰/۳۰ ^c	۵۴/۴۷ ^c	۶۱/۳۰ ^c	۰/۰۲۳ ^c	۷۳/۸۶ ^{ab}	۳۳/۰۶ ^b	۱	آب
۵۲/۲۵ ^b	۵۶/۳۵ ^b	۶۲/۷۳ ^{bc}	۰/۰۳۳ ^{ab}	۶۶/۲۰ ^c	۳۳/۴۵ ^a	۰/۵	اتانول ۷۰ درصد
۵۲/۰۵ ^b	۵۶/۱۲ ^{bc}	۶۲/۴۴ ^{bc}	۰/۰۳۳ ^{ab}	۶۵/۶۸ ^c	۳۳/۳۴ ^a	۱	اتانول ۷۰ درصد
۵۲/۷۱ ^b	۵۶/۹۳ ^b	۶۲/۴۸ ^b	۰/۰۳۳ ^{ab}	۶۸/۱۹ ^{bc}	۳۳/۱۷ ^a	۰/۵	متانول ۸۰ درصد
۵۱/۳۷ ^{bc}	۵۵/۴۳ ^{bc}	۶۱/۹۸ ^{bc}	۰/۰۲۶ ^{bc}	۷۲/۴۹ ^{ab}	۳۳/۸۵ ^a	۱	متانول ۸۰ درصد
۰/۵۲۴	۰/۵۴۰	۰/۵۱۰	۰/۰۰۲۴	۱/۸۰۲	۰/۵۹۵		انحراف استاندارد میانگین‌ها
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	< ۰/۰۰۰۱	۰/۰۴	۰/۰۰۴	۰/۰۰۶		سطح معنی‌داری

۱: a = بخش با تجزیه سریع (درصد)، b = بخش با تجزیه کند (درصد) و c = ثابت نرخ تجزیه (در ساعت)

۲: تجزیه‌پذیری مؤثر با فرض سرعت عبورهای ۰/۰۴، ۰/۰۶ و ۰/۰۸ در ساعت

- میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($p < 0.05$)

کنجاله کلزای فرآوری نشده (شاهد) کمتر بود. همچنین عصاره آبی محصول فرعی پسته میزان پروتئین‌های با تجزیه سریع در کنجاله کلزا را کاهش داد؛ بنابراین با توجه به بازده مناسب عصاره‌گیری خلال آب از محصول فرعی پسته و همچنین دسترسی آسان و قیمت ارزان این خلال، به‌نظر می‌رسد عمل‌آوری کنجاله کلزا با ۰/۵ درصد تانن عصاره آبی برای محافظت از پروتئین آن از تجزیه شکمبه‌ای، کاربردی و قابل توجه باشد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور برای تأمین اعتبار این آزمایش در قالب طرح‌های پژوهشی مصوب این صندوق (طرح شماره ۹۳۰۲۴۶۰۶) تشکر و قدردانی می‌گردد.

با توجه به کاهش غلظت پروتئین‌های بخش با تجزیه سریع در کنجاله کلزا پس از مکمل شدن با عصاره‌های محصول فرعی پسته و همچنین عدم تأثیر نامطلوب تانن موجود در عصاره‌ها بر میزان ناپدیدشدن پروتئین‌ها در کل دستگاه گوارش، به‌نظر می‌رسد فرضیه توانایی تانن عصاره محصول فرعی پسته برای محافظت از تجزیه پروتئین‌های کنجاله کلزا در شکمبه محقق شده است. علاوه بر این که مقادیر کم تانن در جیره سبب کنترل تخمیر شده و سنتز پروتئین میکروبی را افزایش می‌دهد (۱۹)، بنابراین با کاهش سرعت تجزیه پروتئین‌های کنجاله کلزا در شکمبه پس از مکمل شدن با عصاره محصول فرعی پسته، پیش‌بینی می‌شود که در اثر هم‌زمانی آزادشدن کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها ساخت پروتئین میکروبی نیز افزایش یابد.

نتایج این آزمایش نشان داد که میزان ناپدیدشدن شکمبه‌ای پروتئین خام کنجاله کلزای فرآوری‌شده با ۰/۵ درصد تانن عصاره آبی و یک درصد تانن عصاره متانولی، از

منابع

1. Abdi benmar, H. and A. Sobhani Senjabod. 2014. Comparison of *in vitro* and *in situ* techniques for estimating dry matter degradability in some feedstuffs. *Research on Animal Production*, 5(10): 98-112.
2. Adesogan, A.T. 2005. Effect of bag type on the apparent digestibility of feeds in Ankom Daisy^{II} incubators. *Animal Feed Science and Technology*, 119: 333-344.
3. Al-Dobaib, S.N. 2009. Effect of different levels of quebracho tannin on nitrogen utilization and growth performance of Najdi sheep fed alfalfa (*Medicago sativa*) hay as a sole diet. *Journal of Animal Science*, 80: 532-541.
4. Alipour, D. and Y. Rouzbehan. 2010. Effects of several levels of extracted tannin from grape pomace on intestinal digestibility of soybean meal. *Livestock Science*, 128: 87-91.
5. AOAC. 2000. Association of official analytical chemists. *Official Methods of Analysis*. 17th ed. Arlington, VA.
6. Billo, M., P. Cabalion, J. Waikedre, C. Fournieu, S. Bouttier, R. Hocquemiller and A. Fournet. 2005. Screening of some new caledonian and vanuatu medicinal plants for antimycobacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 96: 195-200.
7. Broderick, G.A. 2006. Nutritional strategies to reduce crude protein in dairy diets, 21st Annual Southwest Nutrition and Management Conference February 23-24.
8. Chen, X.B. 1995. "Fitcurve" macro, IFRU, The Macaulay Institute, Aberdeen, UK.
9. Colmenero Olmos, J.J. and G.A. Broderick. 2006. Effect of dietary crude protein concentration on milk production and nitrogen utilization in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 89(5): 1704-1712.
10. Dentinho, M.T.P., O.C. Moreira, M.S. Pereira and R.J.B. Bessa. 2007. The use of a tannin crude extract from *Cistus ladanifer* L. to protect soybean protein from degradation in the rumen. *Animal*, 1: 645-650.
11. Gurbuz, Y. 2006. Determination of nutritive value of leaves of several *Vitis vinifera* varieties as a source of alternative feedstuff for sheep using *in vitro* and *in situ* measurements. *Small Ruminant Research*, 71: 59-66.
12. Jolazadeh, A., R.M. Dehghan-banadaki and K. Rezayazdi. 2015. Effects of soybean meal treated with tannins extracted from pistachio hulls on performance, ruminal fermentation, blood metabolites and nutrient digestion of Holstein bulls. *Animal Feed Science and Technology*, 203: 33-40.
13. Makkar, H.P.S. 2003. Quantification of tannins in tree and shrub foliage: A laboratory manual. Food and Agriculture Organization of the United Nations/International Atomic Energy Agency. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands, 102 pp.
14. Mokhtarpour, A., A.A. Naserian, R. Valizadeh, M. Danesh Mesgaran and F. Pourmollae. 2014. Extraction of phenolic compounds and tannins from pistachio by-products. *Annual Research & Review in Biology*, 4(8): 1330-1338.
15. Newbold, C.J., F.M. McIntosh, P. Williams, R. Losa and R.J. Wallace. 2004. Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*, 114: 105-112.
16. NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle, 7th Ed., National Academy of Sciences. Press, Washington, DC.
17. Ok Hwan, L., L. Boo Yong, L. Junsoo, L. Hee Bong, S. Jong Youn, P. Cheon Seok, S. Kalidas and K. Young Cheul. 2009. Assessment of phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities. *Bioresource Technology*, 100: 6107-6113.

18. Ørskov, E.R., F.D. Deb hovel and F. mould. 1980. The use of the nylon bag technique for the evaluation of feed stuffs. *Tropical Animal Production*, 5: 195-213.
19. Patra, A.K. and J. Saxena. 2011. Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91: 24-37.
20. Rajaei Sharifabadi, H. and A.A. Naserian. 2014. Growth performance and nitrogen retention in lambs fed diets containing two different levels of crude protein supplemented with pistachio by-product extract as a source of tannins. *Research opinions in animal and veterinary sciences*, 4(5): 273-280.
21. Rajaei, A., M. Barzegar, A. Mohabati, M.A. Mobarez Sahari and Z. Hamidi Esfahan. 2010. Antioxidant, anti-microbial and antimutagenicity activities of pistachio (*Pistachia vera*) green hull extract. *Food and Chemical Toxicology*, 48: 107-112.
22. Santos, G.T., R.L. Oliveira and H.V. Petit. 2000. Effect of tannic acid on composition and ruminal degradability of Bermuda grass and alfalfa silages. *Journal of Dairy Science*, 83: 2016-2020.
23. SAS. 2003. SAS User's Guide Statistics. Version 9.1 Edition. SAS Inst., Inc., Cary NC.
24. Schwab, C.G., S.E. Boucher and B.K. Sloan. 2007. Metabolizable protein and amino acid nutrition of the cow. *Proceedings of the Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers*, 121-138.
25. Shakeri, P., A. Riasi and M. Alikhani. 2014. Effects of long period feeding pistachio by-product silage on chewing activity, nutrient digestibility and ruminal fermentation parameters of Holstein male calves. *Animal*, 8: 1826-1831.
26. Shakeri, P., M.H. Ghaffari and H. Fazeli. 2016. Pistachio by-product as a forage source for ruminant nutrition: A review. (Part A: Reservation, chemical composition, feed intake, performance, and digestibility). *Animal Science Journal (Pajuhesh & Sazandegi)*, 112: 129-144 (In Persian).
27. Shakeri, P., Z. Durmic, J. Vadhanabhuti and P.E. Vercoe. 2017. Products derived from olive leaves and fruits can alter *in vitro* ruminal fermentation and methane production. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97: 1367-1372.
28. Sharifi, M., A.A. Naserian and H. Khorasani. 2013. Effect of tannin extract from pistachio by product on *in vitro* gas production. *The Iranian Journal of Applied Animal Science*, 3(4): 667-671.
29. Van Soest, P.J., J.B. Robertson and B.A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharide in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74: 3583-3597.

Use of Pistachio By-Product Extracts by Different Solvents to Reduce Ruminal Degradability of Canola Meal Protein

Pirouz Shakeri¹, Ahmad Riasi² and Ali Madahian³

1- Animal Science Research Department, Kerman Agricultural and Natural Resource Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Kerman, Iran

(Corresponding author: Pirouz_shakeri@yahoo.co.uk)

2- Associated Professor, Department of Animal Science, Isfahan University of Technology, Isfahan

3- Assistant Professor, Department of Agriculture, Payame Noor University

Received: November 1, 2017

Accepted: March 14, 2018

Abstract

The objective of this study was to evaluate the effects of different doses of pistachio by-products (PBP) extracts on the protein protection from ruminal degradability in canola meals. PBP were extracted by four different solvents, i.e. 70% ethanol, 80% methanol, a mixture of chloroform and methanol, and water. Then, an *in situ* trial was conducted to determine ruminal degradability and disappearance (three head of castrated Taleshi male calves) and post ruminal (Daisy^{II} incubator) of proteins in canola meal with 0.5 and 1 % tannins of PBP extracts supplementation. The total extraction of tannin contents with water, ethanol, methanol and mixture of chloroform and methanol extracts of PBP were 37.11, 9.64, 56.87 and 7.55 %, respectively. Canola meal supplementation with 0.5 % tannin from water and 1 % tannin from ethanol extracts decreased the protein ruminal disappearance ($P < 0.01$) without any negative effect on total gastrointestinal tract disappearance of protein. Also, the addition of 0.5 and 1 % water extracted tannin to canola meal reduced ($P < 0.01$) the ruminal degradability of rapidly degradable proteins. In conclusion, the results showed that tannins of water and methanol of PBP extracts could be effective on canola meals protein protection from ruminal degradability; however, the use of tannin from water extract of PBP can be more economical and practical.

Keywords: By-Product, Canola Meal, Degradability, Extract, Pistachio