



بررسی ترکیب شیمیایی، الگوی اسیدهای چرب، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و تولید گاز بقایای انار به روش برون‌تنی

سیمین خورسندی^۱، احمد ریاسی^۲ و محمد خورش^۳

۱- دانشجوی دکتری تغذیه نشخوارکنندگان، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان
۲- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، (نویسنده مسول: ariasi@cc.iut.ac.ir)
۳- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان
تاریخ دریافت: ۹۶/۱۰/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۷/۶/۶

چکیده

هدف از این آزمایش، بررسی ارزش تغذیه‌ای بقایای حاصل از آبیگری انار (تفاله دانه و پوست) و پتانسیل آن در تهیه سیلاژ، در مقایسه با علوفه ذرت بود. ابتدا مقدار کافی بقایای تازه انار از یک کارخانه تولید آب میوه در فصل پاییز تهیه شد. سپس ترکیب شیمیایی، الگوی اسیدهای چرب، ترکیبات فنولیک و فراسنجه‌های تولید گاز در نمونه‌های خشک بقایای انار و علوفه ذرت اندازه‌گیری شد. شاخص‌های مربوط به تهیه سیلاژ در نمونه‌های تازه تعیین شد. نتایج نشان داد که درصد ماده خشک، پروتئین خام، چربی، NFD، ADF و لیگنین در تفاله دانه بیشتر ($p < +/0.05$) از پوست انار بود. اما، درصد کربوهیدرات محلول در آب و خاکستر تفاله دانه از پوست انار کمتر ($p < +/0.05$) بود. پوست انار حدود ۲ برابر علوفه ذرت کربوهیدرات محلول در آب داشت. علاوه بر این، پوست انار حاوی مقدار زیادی ترکیبات فنولیک (۶/۱۷ درصد) تانن کل (۵ درصد) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۹۹/۱ درصد) بود. تفاله دانه و پوست انار به ترتیب ۸۸/۳ و ۷۷/۹ درصد اسیدچرب غیر اشباع داشتند و سهم پونیسیک اسید در تفاله دانه و پوست انار به ترتیب ۶۴/۹ و ۴۶/۹ درصد از کل اسیدهای چرب بود. فراسنجه‌های تولید گاز نشان داد که انرژی قابل متابولیسم، انرژی خالص برای شیردهی، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و قابلیت هضم ماده آلی در تفاله دانه و پوست انار کمتر ($p < +/0.05$) از علوفه ذرت بود. ظرفیت بافاری مخلوط دانه و پوست انار (۱:۴) در محدوده مناسب برای تهیه سیلاژ بود. ظرفیت نگهداری آب در مخلوط دانه و پوست کمتر ($p < +/0.05$) از علوفه ذرت تعیین شد. نتیجه گرفته شد که مخلوط دانه و پوست انار (۱:۴) دارای ترکیبات شیمیایی مناسب برای تهیه سیلاژ است و با توجه به فعالیت آنتی‌اکسیدانی و الگوی اسیدهای چرب، به عنوان یک ماده خوراکی ارزشمند می‌تواند جایگزین بخشی از سیلاژ مورد نیاز نشخوارکنندگان شود.

واژه‌های کلیدی: محصولات فرعی کشاورزی، تفاله دانه و پوست انار، ترکیبات فنولیک، تانن، اسیدهای چرب ضروری، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، سیلاژ بقایای انار

مقدمه

تغییر اقلیم و کمبود منابع آب کشاورزی، تهیه خوراک دام را در کشورهای مختلف با مشکلاتی روبرو ساخته است. بنابراین در دو دهه گذشته استفاده از محصولات فرعی کشاورزی و بقایای صنایع غذایی به عنوان یکی از منابع تامین خوراک دام بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. مصرف این خوراکی‌ها در تغذیه دام از جنبه‌های مختلف اهمیت دارد که عبارتند از: ۱- کاهش مصرف آب برای تولید علوفه، ۲- کاهش هزینه‌های خوراک در واحدهای دامداری، ۳- وجود برخی ترکیبات مفید در بقایای انار با خاصیت فراسودمند و ۴- کاهش آلودگی‌های زیست محیطی ناشی از انباشته شدن بقایای تر و جلوگیری از تولید سموم قارچی (۶،۲۴،۳۸).

درخت انار با نام علمی *Punica granatum L.* در مناطق مختلف دنیا با اقلیم‌های خشک، نیمه خشک و مدیترانه‌ای به خوبی می‌روید. گزارش شده است که ایران یکی از اولین مناطق تولید انار در دنیا است و در بخش‌های وسیعی از کشور، درخت انار رشد می‌کند (۱،۴،۲۷،۳۶). بر اساس گزارش مرکز آمار در سال ۱۳۹۴ سطح زیرکشت انار در ایران بیش از ۷۰ هزار هکتار و تولید سالانه آن به حدود ۱/۰۹ میلیون تن می‌رسد. تخمین زده می‌شود که سالانه بیش از ۱۲۰ هزار تن بقایای انار (تفاله دانه و پوست) در ایران تولید می‌شود (۱۰،۱۱).

حدود ۴۸ درصد از وزن کل میوه انار مربوط به پوست و حدود ۵۲ درصد مربوط به دانه آب‌گیری نشده است. حدود ۷۸ درصد وزن دانه انار، آب و ۲۲ درصد تفاله دانه است. بدین ترتیب در تولید صنعتی فرآورده‌های انار (آب انار، کنسانتره انار، رب انار و شربت انار) سهم بقایای حاصل شده حدود ۵۹/۵ درصد از کل وزن میوه است. بقایای انار شامل پوسته بیرونی، پریکارپ و تفاله دانه است (۱،۴۲). طاهر مداح و همکاران (۳۶،۳۷) گزارش کردند که پوست انار دارای NFC بالاتری از دانه انار بوده (۷۳/۷۳ درصد در مقایسه با ۰/۱۳ درصد) ولی دانه انار پروتئین و چربی بیشتری نسبت به پوست انار دارد (۸) به ترتیب و ۱۲ درصد در مقایسه با ۳/۳۷ و ۰/۷ درصد). اگرچه نتایج مطالعه میرزایی و همکاران (۲۵) در توافق با طاهر مداح و همکاران بود ولی آنالیز شیمیایی دانه و پوست انار از نظر عددی کمی متفاوت بود به طوری‌که درصد NFC، پروتئین و چربی گزارش شده برای پوست و دانه انار به ترتیب ۶۹/۵۹ و ۳/۶ و ۰/۶۱ درصد در مقایسه با ۱۳/۵، ۱۵/۴ و ۶ درصد بود که احتمالاً مربوط به واریته انار مورد آزمایش می‌باشد. همچنین بررسی‌ها نشان می‌دهد که بقایای انار منبع غنی از فیبر، پکتین، قندها و تانن است (۱) و به دلیل داشتن ویژگی‌هایی مانند تقویت سیستم ایمنی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مورد توجه پژوهشگران است (۱،۳۳). گزارش

میلی‌لیتر آب مقطر، ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک خالص و ۰/۱۵ میلی‌لیتر فنل ۸۰ درصد وزنی اضافه گردید و پس از سرد شدن محتویات لوله‌ها، میزان جذب نور در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت شد. در نمونه‌های مورد آزمایش خاکستری خشک و خاکستری تر انجام شد و در نمونه‌های خاکستر تهیه شده غلظت عناصر معدنی شامل کلسیم، فسفر، پتاسیم، منیزیم و سدیم با استفاده از دستگاه اسپکتروسکوپی نشری پلاسمایی جفت شده القایی (ICP, Perkin Elmer, Optima 7300 DV, USA) اندازه‌گیری شد.

الگوی اسیدهای چرب با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی (Varian CP-3380 gas chromatograph) تعیین شد و اسیدهای چرب با استفاده از ستون مویری (BPX70 capillary column (30 m × 250 μm i.d., 0.32-μm phase thickness; Agilent Technologies Ireland Ltd.) اندازه‌گیری شدند (۵).

برای تعیین غلظت کل ترکیبات فنولیک و تانن‌ها، ابتدا ۰/۲ گرم از نمونه‌ها در داخل لوله آزمایش ریخته شد. سپس ۵ میلی‌لیتر استون آب‌دار ۷۰ درصد جهت عصاره‌گیری و استخراج ترکیبات فنولیک به محتویات لوله اضافه و به خوبی مخلوط شد. آنگاه عصاره شفاف رویی به مدت ۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور سانتریفوژ شد. غلظت کل ترکیبات فنولیک و تانن کل (به صورت معادل اسید تانیک) با استفاده از محلول فولین شیکالتو به روش نورسنجی تعیین شد (۲۱، ۲۰). از روش پیشنهاد شده توسط هاگرم و باتلر (۱۵) برای اندازه‌گیری غلظت تانن متراکم استفاده شد. مقدار تانن قابل هیدرولیز از تفاضل تانن کل و تانن متراکم محاسبه گردید.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر اساس توانایی مهار رادیکال‌های آزاد با روش DPPH (1,1' diphenyl-2-picrylhydrazyl radical, Sigma-Aldrich, USA) تعیین شد (۸). در این روش پنج میلی‌لیتر از محلول متانولی DPPH به غلظت ۰/۱ میلی‌مولار به ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره استخراج شده از نمونه‌ها اضافه شد و پس از مخلوط نمودن، لوله‌های حاوی مخلوط در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شد و جذب نوری در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد.

تعیین ارزش تغذیه‌ای با استفاده از تکنیک تولید گاز

تعیین فراسنجه‌های تخمیر با استفاده از سامانه ثبت اتوماتیک تولید گاز ساخت شرکت دانش بنیان گلپونه صفهان انجام شد. براساس پروتکل این دستگاه، ابتدا حدود ۲ لیتر مایع شکمبه به فاصله ۲ ساعت بعد از خوراک صبح از گاو دارای فیستولای شکمبه‌ای گرفته شد (۱۶). این گاوها با جیره کاملاً مخلوط شامل ۴/۵ کیلوگرم یونجه خشک، ۲۵ کیلوگرم سیلاژ ذرت، ۰/۳ کیلوگرم کاه گندم و ۱۶ کیلوگرم کنسانتره (۱۵ درصد جو، ۴۵ درصد ذرت، ۱۸/۵ درصد کنجاله سویا، ۴/۵ درصد سویای اکستروژن، ۶ درصد پودر گوشت، ۳ درصد پودر چربی و ۱/۵ درصد مکمل معدنی-ویتامینی) تغذیه شده بودند. مایع شکمبه در شرایط بی‌هوازی در فلاسک درب‌دار به سرعت به آزمایشگاه منتقل شد و با ۴ لایه پارچه متقال صاف شد. یک جریان گرم دی‌اکسید کربن دست‌کم به مدت ۶ ساعت در محیط کشت تهیه شده براساس پیشنهاد منک و

شده است که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بقایای انار بیشتر از آب انار است (۴۰) و این ویژگی را ناشی از وجود پلی‌فنول‌های محلول در بقایای انار می‌دانند که بخش عمده آنها را الازیک اسید و مشتقات آن، پونیکالازین و پونیکالین شامل می‌شود (۳۲، ۴۰). شبتای و همکاران (۳۲) ارزش تغذیه‌ای پوست انار سیلوشده را مورد بررسی قرار دادند و نتیجه گرفتند که پتانسیل آنتی‌اکسیدانی پوست انار می‌تواند موجب بهبود سلامت و کاهش خطر بروز بیماری‌ها در گاو شود. علیرغم شناختی که در مورد اثرات زیستی بقایای انار بر سلامت انسان و برخی از حیوانات حاصل شده است، جنبه‌های مختلف تغذیه‌ای آن برای تغذیه حیوانات نشخوارکننده به طور کامل مورد بررسی قرار نگرفته است. بنابراین هدف از این مطالعه بررسی ترکیبات شیمیایی، الگوی اسیدهای چرب، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ارزش تغذیه‌ای و پتانسیل بقایای انار برای تهیه سیلاژ در مقایسه با علوفه ذرت بود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و آماده‌سازی نمونه‌ها

برای انجام این آزمایش، در فصل پاییز به مقدار کافی بقایای تازه انار شامل تفاله دانه و پوست از کارخانه‌ی اروم سان کک در استان اصفهان تهیه شد. علوفه ذرت چاچر شده به عنوان علوفه سیلویی رایج در تغذیه نشخوارکنندگان نیز از مزرعه لورک دانشگاه صنعتی اصفهان فراهم شد. از آنجا که در مراحل تهیه آب میوه، تفاله انار دانه و پوست آن بطور جداگانه از دستگاه خارج می‌شود، برای انجام این آزمایش تفاله دانه و پوست و مخلوط ۱ به ۴ این دو محصول (با توجه به نسبت آنها در میوه انار) نیز آماده شد.

بررسی ترکیب شیمیایی، الگوی اسیدهای چرب، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ظرفیت نگهداری آب و ظرفیت بافری برای تعیین ترکیب شیمیایی ابتدا نمونه‌ها در آون با دمای ۶۰ درجه و به مدت ۷۲ ساعت خشک و سپس با آسیاب مجهز به توری ۱ میلی‌متر پودر شدند. در نمونه‌های خشک پروتئین خام با دستگاه میکروکلدال (Kjeltec Auto 1030 Analyzer, Sweden)، چربی خام با دستگاه سوکسله و استخراج مداوم با N-هگزان (نوع B-810، مدل Buchi) و خاکستر خام در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت با کوره الکتریکی (Shimfan F-47, Iran) اندازه‌گیری شد (۵). درصد لیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF)، شوینده اسیدی (ADF) و لیگنین (ADL) با استفاده از کیسه‌های استاندارد (F-57, ANKOM Technology Corp) و با دستگاه آنالیز فیبر (ANKOM Model 200) تعیین شد (۴۱). برای اندازه‌گیری کربوهیدرات محلول در آب از روش رنگ سنجی فنول-سولفوریک استفاده شد (۹). برای انجام این آزمایش مقدار ۱۰ گرم از نمونه با ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط گردید و به مدت ۳۰ ثانیه با مخلوط‌کن به هم زده شد. مخلوط با دو لایه پارچه صافی پنیتر فیلتر شد. مایع فیلتر شده به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۰۰۰ دور سانتریفوژ شد و مایع شفاف رویی با نسبت ۱ به ۱۰ با آب مقطر رقیق گردید. در یک لوله آزمایش به یک میلی‌لیتر از مایع رقیق شده، ۱

خشک)
 OMD: درصد قابلیت هضم ماده آلی
 CP: درصد پرتئین خام
 EE: درصد چربی خام
 Ash: درصد خاکستر خام
 GP: حجم گاز تجمعی پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون (میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)

بررسی پتانسیل تهیه سیلاژ
 برای تعیین pH، مقدار ۲۰ گرم نمونه (مخلوط تفاله دانه و پوست انار یا ذرت علوفه‌ای) به همراه ۱۸۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۳۰ ثانیه در مخلوط‌کن کاملاً هم زده شد. مخلوط‌های تهیه شده با دو لایه پارچه پنبه‌ری صاف شدند و pH (CRISON Basic20⁺, EU) آنها تعیین شد (۳).

ظرفیت بافری نمونه‌ها با روش پیشنهادی پلاین و مک‌دونالد (۲۸) تعیین شد. در این روش ۱۵ گرم از هر نمونه با ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر خیسانده شد و pH (CRISON Basic20⁺, EU) آن تعیین شد. محتویات خیسانده شده با اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال تیترا گردید و میزان اسید کلریدریک مصرفی برای رسیدن pH به ۳ اندازه‌گیری شد. با افزودن محلول هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال به محتویات یاد شده pH آن تا ۴ افزایش یافت و در ادامه با افزودن محلول هیدروکسید سدیم تیتراسیون تا رسیدن به pH ۶ ادامه یافت. با تعیین میزان محلول هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال مصرف شده برای تغییر pH از ۴ به ۶ مقدار میلی‌اکی والان هیدروکسید سدیم مصرفی به ازای هر ۱۰۰ گرم ماده خشک نمونه محاسبه و به صورت ظرفیت بافری هر یک از نمونه‌ها بیان گردید.

به منظور تعیین ظرفیت نگهداری آب از روش پیشنهادی رابرتسون-ایست وود (۲۹) استفاده شد. به طور خلاصه، مقدار ۲/۵ گرم از نمونه خشک به مدت ۲۰ ساعت در ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر خیسانده شد و سپس با استفاده از کاغذ صافی فیلتر شد. حدود ۱۰ دقیقه پس از فیلتراسیون کامل نمونه‌های خیسانده شده، وزن نمونه روی کاغذ صافی تعیین شد و پس از انجام محاسبات مربوطه ظرفیت نگهداری آب در نمونه‌ها بر حسب لیتر در هر کیلوگرم تعیین شد.

آنالیز آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌های این آزمایش (۵ تکرار برای هر نمونه) در قالب یک طرح کاملاً تصادفی (SAS, 2009) و با رویه GLM انجام شد. برای تعیین سطح معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد.

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

در این مدل Y_{ij} : مقدار هر مشاهده برای صفت مورد نظر، μ : میانگین کلی جامعه، T_i : اثر تیمار و e_{ij} : خطای آزمایش است.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی

ترکیب شیمیایی بقایای انار (شامل تفاله دانه، پوست و مخلوط ۱ به ۴ دانه و پوست انار) و علوفه ذرت در جدول ۱ گزارش شده است. نتایج نشان داد که تفاله دانه انار بیشترین

استینگایس برقرار شد (۲۳)، سپس مایع شکمبه فیلتر شده به این محیط کشت افزوده شد. مخلوط حاصل در دمای ۳۹/۵±۰/۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه زیر جریان پیوسته‌ای از دی‌اکسیدکربن گرم قرار داده شد. آنگاه ۳۰ میلی‌لیتر از این مخلوط به ویال‌های با حجم ۶۰ میلی‌لیتر حاوی ۳۰۰ میلی‌گرم نمونه (که به مدت ۱ شبانه روز در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته بود) منتقل شد و به مدت ۲۰ ثانیه فضای خالی ویال‌ها در معرض جریان دی‌اکسیدکربن گرم قرار گرفت. برای هر نمونه ۵ ویال (تکرار) آماده شد و ویال‌ها با درپوشی از جنس بوتیل بسته شدند. سپس یک درپوش آلومینیومی روی آن پرس شد. ویال‌ها در بن‌ماری با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس با فرو کردن سر سوزن (شماره ۲۲ با طول ۲/۵۴ سانتی‌متر) در درپوش بوتیلی و مجهز به سنسور فشاری دیجیتال، حجم گاز در زمان‌های صفر، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از انکوباسیون اندازه‌گیری شد. سپس حجم گاز تولیدی هر نمونه، بر پایه میانگین حجم گاز تولیدی در ویال‌های شاهد (فقط دارای محیط کشت و مایع شکمبه) تصحیح شد. برای تخمین فراسنجه‌های کنتیکی تولید گاز از معادله آرسکوف و مک‌دونالد استفاده شد (۲۶).

$$GP = A (1 - e^{-c(T-L)})$$

که در این معادله:

GP: حجم گاز تولیدی (میلی‌لیتر در گرم ماده خشک) در زمان T
 A: حجم گاز تولیدی از بخش قابل تخمیر (میلی‌لیتر به ازای هر گرم نمونه)
 c: ثابت نرخ تولید گاز (h^{-1})
 T: زمان انکوباسیون (ساعت)
 L: تاخیر در زمان (ساعت)
 غلظت اسیدهای چرب کوتاه زنجیر با استفاده از معادله زیر محاسبه شد (۱۲):

$$SCFA = 0.0239 \times GP_{24} - 0.0601$$

که در این معادله:

SCFA: غلظت اسیدهای چرب فرار (میلی‌مول به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)
 GP₂₄: حجم گاز تجمعی پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون (میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)
 انرژی قابل سوخت و ساز، انرژی خالص شیردهی و قابلیت هضم ماده آلی با معادلات زیر تعیین شد (۲۳):

$$ME = 0.136 \times GP_{24} + 0.057 \times CP + 0.0286 \times EE^2 + 2/20$$

$$NE_1 = 0.115 \times GP_{24} + 0.057 \times CP + 0.014 \times EE - 0.054 \times Ash - 0.36$$

$$OMD = 0.889 \times GP_{24} + 0.448 \times CP + 0.0651 \times Ash + 14/88$$

که در این معادله،

ME: انرژی قابل سوخت و ساز (مگاژول به ازای کیلوگرم ماده خشک)
 NE₁: انرژی خالص شیردهی (مگاژول به ازای کیلوگرم ماده

مخلوط تفاله دانه و پوست انار درصد فسفر کمی داشت. اغلب ترکیبات تعیین شده برای تفاله دانه و پوست انار با نتایج قبلی مطابقت داشت (۳۶). اما، میرزایی و همکاران (۲۵) مقدار پروتئین خام، چربی، NDF و ADF را در تفاله دانه انار به ترتیب ۱۵/۴، ۶۸/۶ و ۴۹ درصد و در پوست انار بترتیب ۳/۶، ۶/۱ و ۲۰/۸ درصد گزارش کردند که با نتایج آزمایش حاضر متفاوت بود. گزارش‌ها نشان می‌دهد که پوست انار در مقایسه با تفاله دانه آن درصد کمتری چربی خام و پروتئین خام دارد (۳۶، ۳۷). اختلاف در نتایج می‌تواند ناشی از شرایط آب و هوایی منطقه جغرافیایی رویش انار و زمان برداشت این محصول باشد (۳۷).

درصد پروتئین خام ($p < 0.001$)، چربی خام ($p < 0.001$)، NDF ($p < 0.003$)، ADF ($p < 0.001$) و لیگنین ($p < 0.001$) را در مقایسه با دیگر مواد خوراکی مورد بررسی داشت. پوست انار بیشترین (۴۶/۳۲٪) و تفاله دانه انار کمترین (۸/۹٪) ($p < 0.001$) درصد کربوهیدرات محلول در آب را داشتند. علاوه بر این، کربوهیدرات محلول در آب پوست انار حدود ۲ برابر ($p < 0.001$) علوفه ذرت بود. علوفه ذرت درصد خاکستر، پتاسیم و منیزیم بیشتری ($p < 0.001$) در مقایسه با بقایای انار داشت. پوست انار بیشترین درصد کلسیم را داشت و سهم کلسیم در مخلوط تفاله دانه و پوست انار نیز از علوفه ذرت بیشتر ($p < 0.001$) بود. مقدار فسفر در تفاله دانه انار و علوفه ذرت مشابه بود. اما، پوست انار و

جدول ۱- میانگین ترکیب شیمیایی بقایای انار (تفاله دانه، پوست، مخلوط تفاله دانه و پوست) در مقایسه با علوفه ذرت
Table 1. Mean chemical composition of pomegranate by-product (seed, peel, mixture of pomegranate seed and peel) compare to corn forage

P value	SEM	علوفه ذرت	مخلوط تفاله دانه و پوست انار ^۱	پوست انار	تفاله دانه انار	ترکیب شیمیایی (درصد از ماده خشک)
0.001	0.980	20.87 ^c	43.26 ^b	42.13 ^b	53.07 ^a	ماده خشک
0.001	0.068	6.36 ^b	4.06 ^c	2.90 ^d	9.97 ^a	پروتئین خام
0.001	0.280	2.62 ^c	3.79 ^b	1.94 ^c	12.01 ^a	چربی خام
0.001	0.054	8.10 ^a	3.36 ^b	3.89 ^b	2.03 ^c	خاکستر
0.001	0.449	21.20 ^c	37.48 ^b	46.32 ^a	8.90 ^d	کربوهیدرات محلول در آب
0.003	0.706	51.35 ^b	30.07 ^c	21.44 ^d	59.29 ^a	NDF
0.001	0.767	22.79 ^b	19.53 ^c	13.10 ^d	38.98 ^a	ADF
0.001	0.226	5.07 ^c	9.03 ^b	5.68 ^c	22.37 ^a	لیگنین
0.001	0.021	0.30 ^c	0.39 ^b	0.46 ^a	0.15 ^d	کلسیم
0.001	0.004	0.28 ^a	0.13 ^b	0.10 ^c	0.27 ^a	فسفر
0.001	0.004	1.32 ^a	1.11 ^c	1.25 ^b	0.55 ^d	پتاسیم
0.001	0.020	0.20 ^a	0.06 ^b	0.05 ^b	0.10 ^b	منیزیم
0.02	0.022	0.01 ^c	0.18 ^a	0.20 ^a	0.10 ^b	سدیم

a-d: حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار ($p < 0.05$) بین میانگین‌ها می‌باشد.
^۱ مخلوط تفاله دانه و پوست انار به نسبت ۱ به ۴

الگوی اسیدهای چرب

الگوی اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع تفاله دانه و پوست انار در جدول ۲ نشان داده شده است. در بین اسیدهای چرب اشباع تفاله دانه و پوست انار بیشترین سهم مربوط به پالمیتیک و استتاریک اسید بود. در مورد اسیدهای چرب غیراشباع، بیشترین سهم را پونیسیک اسید (۶۴/۹ درصد)، اولئیک اسید (۱۰/۸ درصد) و لینولئیک اسید (۹/۸ درصد) در تفاله دانه انار داشت. غلظت این اسیدهای چرب در پوست انار بترتیب ۴۶/۹، ۱۳/۸ و ۱۰/۹ درصد از محتوی کل اسیدهای چرب بود. نسبت مجموع اسیدهای چرب غیراشباع به اشباع در تفاله دانه انار حدود ۷/۶ به ۱ و پوست انار حدود ۳/۵ به ۱ بود. در مخلوط تفاله دانه و پوست انار بیشترین سهم اسیدهای چرب اشباع مربوط به پالمیتیک و استتاریک اسید و بیشترین سهم اسیدهای چرب غیراشباع مربوط به پونیسیک اسید،

لینولئیک اسید و اولئیک اسید بود. نسبت مجموع اسیدهای چرب غیراشباع به اشباع در مخلوط تفاله دانه و پوست انار حدود ۴/۳ به ۱ بود. موافق با نتایج آزمایش حاضر، اغلب مطالعات قبلی نیز نشان داده است که پونیسیک اسید بیشترین سهم را در بین اسیدهای چرب بقایای انار دارد (۱۷، ۱۸). بررسی‌ها به‌خوبی نشان می‌دهد که پونیسیک اسید در مراحل بیوهیدروژناسیون شکمبه‌ای به اسید لینولئیک کونژوگه (۹) سیس، ۱۱ ترانس) تبدیل می‌شود (۳۹) و این یکی از ایزومرهای اصلی اسیدهای چرب یافت شده در شیر است که دارای ویژگی‌های ضد سرطانی، ضد آتروژنیک و ضد دیابت نوع ۲ می‌باشد (۱۹). به همین دلیل مصرف بقایای انار احتمالاً می‌تواند اثرات مفیدی بر سلامت نشخوارکنندگان داشته باشد و محصولات تولیدی آنها بویژه شیر گاوها را فراسومند نماید (۱۹).

جدول ۲- مقایسه الگوی اسیدهای چرب موجود در بقایای انار (تفاله دانه، پوست، مخلوط دانه و پوست)
Table 2. Comparison of the fatty acid profile of pomegranate by-product (seed, peel, mixture of pomegranate seed and peel)

مخلوط تفاله دانه و پوست انار ^۱	پوست انار	تفاله دانه انار	الگوی اسیدهای چرب (درصد)
۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	لوریک اسید (C12:0)
۰/۵	۰/۶۰	۰/۸۰	مریستیک اسید (C14:0)
۱۱/۵۸	۱۲/۹۰	۶/۳۰	پالمیتیک اسید (C16:0)
۰/۲۶	۰/۳۰	۰/۱۰	پالمیتولنیک اسید (C16:1, 9c)
۷/۷۴	۸/۴۰	۵/۸۰	استئاریک اسید (C18:0)
۰/۹۶	۱/۲۰	۰/۰۰	واکسینیک اسید (C18:1, 11t)
۱۳/۲۰	۱۳/۸۰	۱۰/۸۰	اولنیک اسید (C18:1, 9c)
۰/۴۶	۰/۵۰	۰/۳۰	کانجوئیک اسید (C18:2, 11t, 15c)
۱۰/۶۸	۱۰/۹۰	۹/۸۰	لینولنیک اسید (C18:2, 9c, 12c)
۰/۷۲	۰/۷۰	۰/۸۰	گاما لینولنیک اسید (C18:3, 6c, 9c, 12c)
۱/۵۸	۱/۷۰	۱/۸۰	آلفا لینولنیک اسید (C18:3, 9c, 12c, 15c)
۵۰/۵۰	۴۶/۹۰	۶۴/۹۰	پونیسیک اسید (C18:3, 9c, 11t, 13c)
۰/۰۲	۰/۰۰	۰/۱۰	آراشیدیک اسید (C20:0)
۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	گاندوئیک اسید (C20:1, 11c)
۱/۳۴	۱/۶۰	۰/۲۰	ایکوزادی انوئیک اسید (C20:2, 11c, 14c)
۰/۱۸	۰/۲۰	۰/۱۰	بهنیک اسید (C22:0)
۰/۲۸	۰/۳۰	۰/۲۰	اروسیک اسید (C22:1, 13c)
۲۰/۰۲	۲۲/۱۰	۱۱/۷۰	کل اسیدهای چرب اشباع
۷۹/۹۸	۷۷/۹۰	۸۸/۳۰	کل اسیدهای چرب غیر اشباع
۴/۳۳	۳/۵۳	۷/۵۵	نسبت کل اسیدهای چرب غیر اشباع به اشباع

۱- مخلوط تفاله دانه و پوست انار به نسبت ۱ به ۴

آزمایش حاضر (۶/۱۷ درصد) است. بررسی‌ها نشان داده است که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مواد خوراکی با محتوی پلی‌فنول‌های آنها مرتبط است (۱۴،۴۰). در آزمایش حاضر تفاله دانه انار، پوست انار و مخلوط تفاله دانه و پوست انار بیشتر از ۹۰ درصد توانایی مهار رادیکال‌های آزاد را داشتند، در حالی که فعالیت آنتی‌اکسیدانی علفه ذرت حدود ۳/۳ درصد بود. بنابراین بنظر می‌رسد جایگزینی سیلاژ مخلوط تفاله دانه و پوست انار اثرات مثبتی بر سلامت دام‌ها در شرایط تنش داشته باشد. گزارش شده است که خشک کردن پوست انار موجب کاهش شدید سطح پلی‌فنول‌های آن شده است و برای حفظ فعالیت آنتی‌اکسیدانی مواد خوراکی در تغذیه نشخوارکنندگان، بهترین راه مصرف آنها به صورت تازه یا سیلاژ پیشنهاد شده است (۳۲).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

میانگین غلظت تانن‌ها و کل ترکیبات فنولیک و همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بقایای انار و علفه ذرت در جدول ۳ نشان داده شده است. پوست انار بیشترین غلظت تانن متراکم (۰/۰۰۳ < p)، تانن قابل هیدرولیز (۰/۰۰۲ < p)، تانن کل (۰/۰۰۵ < p)، کل ترکیبات فنولیک (۰/۰۰۱ < p) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۰/۰۵ < p) را داشت. مخلوط تفاله دانه و پوست انار حدود ۵ درصد تانن کل داشت که ۹۳٪ آن بفرم تانن قابل هیدرولیز بود. سهم تانن‌ها، ترکیبات فنولیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مخلوط تفاله دانه و پوست انار چندین برابر (۰/۰۰۱ < p) علفه ذرت تعیین شد. شبتای و همکاران (۳۱) مقدار کل ترکیبات فنولیک پوست انار را ۱۴ درصد گزارش کردند که حدود ۲/۳ برابر مقدار تعیین شده در

جدول ۳- میانگین تانن‌ها، کل ترکیبات فنولیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بقایای انار (تفاله دانه، پوست، مخلوط تفاله دانه و پوست) در مقایسه با علفه ذرت

Table 3. Mean tannins, total phenolic compounds and antioxidant activity of pomegranate by-product (seed, peel, mixture of pomegranate seed and peel) compare to corn forage.

P value	SEM	علفه ذرت	مخلوط تفاله دانه و پوست انار ^۱	پوست انار	تفاله دانه انار
۰/۰۰۳	۰/۰۰۶	۰/۰۳ ^d	۰/۳۵ ^b	۰/۴۴ ^d	۰/۱۱ ^c
۰/۰۲	۰/۰۳۱	۰/۰۹ ^d	۴/۶۶ ^b	۴/۹۶ ^d	۱/۲۸ ^c
۰/۰۰۵	۰/۰۲۷	۰/۱۱ ^d	۵/۰۱ ^b	۵/۴۰ ^a	۱/۳۹ ^c
۰/۰۰۱	۰/۱۸۰	۰/۴۰ ^d	۵/۶۰ ^b	۶/۱۷ ^d	۱/۶۱ ^c
۰/۰۵	۰/۳۶۰	۳/۳۳ ^d	۹۷/۵۷ ^b	۹۹/۱۰ ^a	۹۱/۴۶ ^c

a-d: حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار (p < ۰/۰۵) بین میانگین‌ها می‌باشد.

۱- مخلوط تفاله دانه و پوست انار به نسبت ۱ به ۴

۲- فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش احیاء رادیکال‌های آزاد

است. حجم گاز تولید شده پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون (ضریب a) علفه ذرت (۰/۰۰۱ < p)، بیشتر از بقایای انار بود.

ارزش تغذیه‌ای با تکنیک تولید گاز

نتایج مربوط به ارزش تغذیه‌ای بقایای انار و علفه ذرت براساس فراسنجه‌های تولید گاز در جدول ۴ نشان داده شده

دلیل این موضوع می‌تواند ناشی از غلظت زیاد تانن‌ها، بویژه تانن‌های قابل هیدرولیز در بقایای انار باشد. گزارش شده است که افزایش غلظت تانن‌ها در مواد خوراکی به دلیل پیوند با پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌های ساختمانی و نشاسته، موجب عدم دسترسی میکروب‌های شکمبه به این ترکیبات قابل تخمیر می‌شود (۳۴) و بنابراین می‌تواند تولید گاز ۲۴ ساعته و ضریب A را کاهش دهد. نرخ تولید گاز (ضریب c) برای علوفه ذرت کمتر ($p < 0.02$) از مخلوط تفاله دانه و پوست انار بود. مقدار انرژی قابل متابولیسم، انرژی خالص برای شیردهی، تولید اسیدهای چرب فرار و ماده آلی قابل هضم در پوست انار و مخلوط دانه و پوست انار بیشتر ($p < 0.001$) از تفاله دانه انار و کمتر ($p < 0.02$) از ذرت علوفه‌ای بود. موافق با نتایج آزمایش حاضر، طاهر مداح و همکاران (۳۷،۳۶) گزارش کردند که پتانسیل تولید گاز در پوست انار بیشتر از دانه بود. این محققان حجم تولید گاز از تفاله دانه و پوست انار را پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون به ترتیب برابر ۱۰۹ و ۱۹۵ میلی‌لیتر به ازای گرم ماده خشک تخمین زدند.

در بین بقایای انار، حجم گاز تولیدی از تفاله دانه (۹۵/۱۱ میلی‌لیتر) کمتر ($p < 0.001$) از حجم گاز تولیدی از پوست (۱۷۵/۳ میلی‌لیتر) و مخلوط تفاله دانه و پوست انار (۱۵۹/۲۶ میلی‌لیتر) بود. سومارت و همکاران (۳۵) گزارش کردند که حجم گاز تولید شده در مدت ۲۴ ساعت شاخص خوبی برای پیش‌بینی قابلیت هضم، سنتز پروتئین میکروبی و محصولات نهایی تخمیر است. همچنین بررسی‌ها نشان می‌دهد که یک همبستگی منفی بین مقدار NDF گیاهان و حجم گاز تولید شده در شرایط تخمیر آزمایشگاهی نمونه‌ها وجود دارد (۱۲). در مطالعه حاضر تفاله دانه در مقایسه با پوست انار درصد بیشتری NDF و ADF و درصد کمتری کربوهیدرات محلول در آب داشت (جدول ۱) و این می‌تواند دلیلی بر بیشتر بودن حجم گاز تولیدی از پوست انار در مقایسه با تفاله دانه انار باشد (۷،۳۰). اما، علیرغم آنکه مخلوط تفاله دانه و پوست انار NDF و ADF کمتری در مقایسه با علوفه ذرت داشت (جدول ۱)، تولید گاز حاصل از تخمیر علوفه ذرت بیشتر از مخلوط بقایای انار (۲۱۰/۳۵) در مقابل ۱۵۹/۲۶ میلی‌لیتر) بود.

جدول ۴- میانگین فراسنجه‌های تولید گاز بقایای انار (تفاله دانه، پوست، مخلوط تفاله دانه و پوست) در مقایسه با علوفه ذرت
Table 4. Mean gas production parameters of pomegranate by-product (seed, peel, mixture of pomegranate seed and peel) compare to corn forage

P value	SEM	علوفه ذرت	مخلوط تفاله دانه و پوست انار ^۱	پوست انار	تفاله دانه انار	فراسنجه‌های تولید گاز
0.002	۶/۵۹۵	۲۱۰/۳۵ ^a	۱۵۹/۲۶ ^b	۱۷۵/۳۰ ^b	۹۵/۱۱ ^c	حجم گاز تولید شده در ۲۴ ساعت ^۲
0.001	۹/۳۶۴	۲۵۶/۵۲ ^a	۱۸۵/۲۵ ^b	۲۰۴/۴۵ ^b	۱۰۸/۴۴ ^c	ضریب A ^۳
0.04	0.04	0.66 ^b	0.8 ^a	0.78 ^{ab}	0.83 ^a	ضریب C ^۴
0.001	0.178	۸/۴ ^a	۶/۸۱ ^b	۷/۱۶ ^b	۵/۶۴ ^c	انرژی قابل متابولیسم ^۵
0.001	0.1۵۲	۴/۵ ^a	۳/۳۶ ^b	۳/۶۹ ^b	۲/۰۴ ^c	انرژی خالص برای شیردهی ^۶
0.001	0.۰۲۹	0.۹۳ ^a	0.۷۰ ^b	0.۷۷ ^b	0.۴۲ ^c	تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر ^۷
0.001	۱/۱۶۷	۵۵/۶۷ ^a	۴۵/۲۴ ^b	۴۷/۶ ^b	۳۶/۴۱ ^c	قابلیت هضم ماده آلی ^۸

a-d: حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار ($p < 0.05$) بین میانگین‌ها می‌باشد.

^۱ مخلوط تفاله دانه و پوست انار به نسبت ۱ به ۴

^۲ میلی‌لیتر به ازای هر گرم ماده خشک

^۳ مقدار گاز تولید شده از بخش قابل تخمیر (میلی‌لیتر بازاری هر گرم ماده خشک)

^۴ ثابت نرخ تولید گاز در هر ساعت

$$ME = 0.136 \times GP_{24} + 0.057 \times CP + 0.029 \times EE^2 + 2/70$$

$$NEI = 0.115 \times GP_{24} + 0.057 \times CP + 0.014 \times EE - 0.054 \times Ash - 0.36$$

$$SCFA = 0.239 \times GP_{24} - 0.0601$$

$$OMD = 0.889 \times GP_{24} + 0.45 \times CP + 0.0651 \times Ash + 14/88$$

(حدود ۹۰ میلی‌اکی‌الان) خیلی کمتر است. ظرفیت بافری کم علوفه از صفات مناسب آن برای سیلو شدن است، زیرا عاملی در کاهش سریع pH در سیلاژ است. بنابراین ظرفیت بافری کم به همراه بیشتر بودن کربوهیدرات محلول در آب، دو عامل مثبت در تهیه سیلاژ مناسب از بقایای انار خواهد بود (۲،۲۲). ظرفیت نگه‌داری آب در مخلوط دانه و پوست انار در حدود ۱/۵۱ لیتر بر کیلوگرم و به طور قابل ملاحظه‌ای کمتر ($p < 0.001$) از ذرت علوفه‌ای (۳/۷۱ لیتر بر کیلوگرم) بود. گزارش شده است که عامل اصلی ظرفیت نگهداری آب در علوفه‌ها، وجود حفره‌های بزرگ در ماتریکس NDF می‌باشد و عواملی مانند میزان NDF، پکتین، نشاسته و لیگنین نیز در ظرفیت نگهداری آب موثرند (۱۳). بنابراین با توجه به کمتر بودن NDF و بیشتر بودن لیگنین در مخلوط دانه و پوست انار نسبت به علوفه ذرت، کمتر بودن ظرفیت نگهداری آب قابل توجه است.

قابلیت تهیه سیلاژ

با توجه به نتایج مربوط به کربوهیدرات محلول در آب، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و حضور ترکیبات فنولیک در بقایای انار، در این بخش تنها مخلوط تفاله دانه و پوست انار با علوفه ذرت از نظر برخی فراسنجه‌های مرتبط با قابلیت تهیه سیلاژ مقایسه شد و نتایج مربوطه در جدول ۵ نشان داده شده است. pH مخلوط تفاله دانه و پوست انار کمتر ($p < 0.001$) از علوفه ذرت (۳/۷۷) در برابر ۵/۷۶ بود. کمتر بودن pH در بقایای انار را می‌توان با مقادیر نسبتاً زیاد تانن قابل هیدرولیز که حاوی اسید گالیک و اسید آلاژیک است، مرتبط دانست (۱۵). در آزمایش حاضر ظرفیت بافری علوفه ذرت (۴/۶۷) میلی‌اکی‌والان) کمتر ($P < 0.001$) از ظرفیت بافری مخلوط تفاله دانه و پوست انار (۱۴/۶۷ میلی‌اکی‌والان) بود. اما، هر دو محصول دارای ظرفیت بافری مناسب برای تهیه سیلاژ بودند که در مقایسه با ظرفیت بافری برخی علوفه‌ها از جمله یونجه

جدول ۵- میانگین pH، ظرفیت بافری و ظرفیت نگه‌داری آب در بقایای انار (تفاله دانه، پوست، مخلوط تفاله دانه و پوست) در مقایسه با علوفه ذرت
Table 5. Mean pH, buffering capacity and water storage capacity of pomegranate by product (seed, peel, mixture of pomegranate seed and peel) compare to corn forage

ظرفیت نگه‌داری آب (لیتر بر کیلوگرم)	ظرفیت بافری ^۲ (meq)	HCL ^۱ (meq)	pH	فراسنجه‌ها
۱/۵۰ ^b	۱۴/۶۷ ^d	۱۱/۳۳ ^b	۳/۷۷ ^b	مخلوط تفاله دانه و پوست انار ^۱
۳/۷۳ ^a	۴/۶۷ ^b	۱۷/۳۳ ^a	۵/۷۶ ^a	علوفه ذرت
۰/۰۲۰	۰/۰۰۴	۰/۰۰۴	۰/۰۴۲	SEM
۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	P value

a-b حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) بین میانگین‌ها می‌باشد.

۱- میلی‌اکی‌والان اسیدکلریدریک ۰/۱ نرمال مصرفی به ازای ۱۰۰ گرم ماده خشک برای رساندن pH به ۳

۲- ظرفیت بافری بر حسب میلی‌اکی‌والان هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال مصرفی برای تغییر pH از ۴ به ۶ به ازای هر ۱۰۰ گرم ماده خشک

۳- مخلوط تفاله دانه و پوست انار به نسبت ۱ به ۴

بخشی از خوراک نشخوارکنندگان را دارد. با توجه به فراسنجه‌های اندازه‌گیری شده مشخص شد که مخلوط تفاله دانه و پوست انار می‌تواند ترکیب مناسبی برای تهیه سیلاژ در تغذیه نشخوارکنندگان باشد. در مطالعات بعدی با تهیه سیلاژ مخلوط تفاله دانه و پوست انار و افزودنی‌های مختلف اطلاعات دقیق‌تری به دست خواهد آمد.

نتایج این مطالعه نشان داد که مخلوط تفاله دانه و پوست انار منبع غنی از ترکیبات فنولیک و تانن‌ها هستند و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مناسبی دارند که می‌توان مصرف آنها را در شرایط تنش‌های متابولیکی و تنش‌های گرمایی مورد بررسی قرار داد. نتایج آزمایش تولید گاز نشان داد که محصول فرعی انار ارزش تغذیه‌ای خوبی دارد و پتانسیل جایگزینی به عنوان

منابع

- Abbasi, H., K. Rezaei and L. Rashidi. 2008. Extraction of essential oils from the seeds of pomegranate using organic solvents and supercritical CO₂. Journal of the American Oil Chemists' Society, 85: 83-89.
- Addah, W., J. Baah, P. Groenewegen, E.K. Okine and T.A. McAllister. 2011. Comparison of the fermentation characteristics, aerobic stability and nutritive value of barley and corn silages ensiled with or without a mixed bacterial inoculant. Journal of Animal Science, 91: 133-146.
- Adesogan, A.T., N.M. Krueger, B. Salawu, D.B. Dean and C.R. Staples. 2004. The Influence of treatment with dual purpose bacterial inoculants or soluble carbohydrates on the fermentation and aerobic stability of Bermudagrass. Journal of Dairy Science, 87: 3407-3416.
- Aviram, M., M. Rosenblat, D. Gaitini, S. Nitecki, A. Hoffman, L. Dornfeld, N. Volkova, D. Presser, J. Attias and H. Liker. 2004. Pomegranate juice consumption for 3 years by patients with carotid artery stenosis reduces common carotid intima media thickness, blood pressure and LDL oxidation. Clinical Nutrition, 23: 423-433.
- AOAC. 2000. Official methods of analysis. 7th ed., Official Methods of Analysis of AOAC International, Gaithersburg, M.D, USA.
- Bampidis, V. A. and P. H. Robinson. 2006. Citrus by products as ruminant feeds: A review. Animal Feed Science and Technology, 128: 175-217.
- Blummel, M. and K. Becker. 1997. The degradability characteristics of fifty-four roughages and roughage neutral detergent fibres as described by in vitro gas production and their relationship to voluntary feed intake. British Journal of Nutrition, 77: 757-768.
- Brand Williams, W., M. Cuvelier and C. Berset. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food Science and Technology, 28: 25-30.
- Dubois, M., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P. Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry, 28: 350-356.
- Feizi, R., A. Ghodrathnama, M. Zahedifar, M.D. Mesgaran and M. Raisianzadeh. 2010. Apparent digestibility of pomegranate seed fed to sheep. ADSA®-PSA-AMPA-CSAS-ASAS Joint Annual Meeting, P:194, Denver, Colorado.
- Feizi, M., M. Zahedifar, M. Danesh Mesgaran, M. Raisianzadeh and V. Kashki. 2010. Effects of urea treatment on total contents and in vitro gas production of ensiled pomegranate peel. The 4th Congress on Animal Science, P: 2296, Karaj, Iran.
- Gatachew, G., H. Makkar and K. Becker. 2002. Tropical browse: contents of phenolic compounds, in vitro gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acid and in vitro gas production. The Journal of Agricultural Science, 139: 341-352.
- Giger Reverdin, S. 2000. Characterisation of feedstuffs for ruminants using some physical parameters. Animal Feed Science and Technology, 86: 53-69.
- Gil, M.I., F.A. Tomas Barberan, B. Hess-Pierce, D.M. Holcroft and A.A. Kader. 2000. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48: 4581-4589.
- Hagerman, A.E. and L.G. Butler. 1980. Condensed tannin purification and characterization of tannin-associated proteins. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 28(5): 947-52.
- Hashemzadeh Cigari, F., M. Khorvash, G. Ghorbani, E. Ghasemi, A. Taghizadeh, S. Kargar, and W. Yang. 2014. Interactive effects of molasses by homofermentative and heterofermentative inoculants on fermentation quality, nitrogen fractionation, nutritive value and aerobic stability of wilted alfalfa (Medicago sativa L) silage. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 98: 290-299.
- Hernandez, F., P. Melgarejo, F.A. Tomas Barberan and A. Artes. 1999. Evolution of juice anthocyanins during ripening of new selected pomegranate (Punica granatum) clones. European Food Research and Technology, 210: 39-42.

18. Kyralan, M., M. Golukcu and H. Tokgoz. 2009. Oil and conjugated linolenic acid contents of seeds from important pomegranate cultivars (*Punica granatum* L.) grown in Turkey. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 86: 985-990.
19. Lansky, E., S. Shubert and I. Neeman. 1998. Pharmacological and therapeutical properties of pomegranate. *Proceedings of 1st International Symposium on Pomegranate*, 231-235 pp., Orihuela, Spain.
20. Makkar, H.P.S. 2000. 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 of Nuclear Techniques in Food and Agriculture. Animal Production and Health Sub-Programme, FAO/IAEA Working Document. IAEA, Vienna, Austria.
21. 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.
22. McDonald, P. 1981. *The biochemistry of silage*. John Wiley and Sons Ltd., Toronto, 226 pp.
23. Menke, K.H., L. Raab, A. Salewski, H. Steingass, D. Fritz and W. Schneider. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. *Journal of Agricultural Science*, 93: 217-222.
24. Mirzaei Aghsaghali, A. and N. Maheri Sis. 2008a. Nutritive value of some agro-industrial by-products for ruminants. A review. *World Journal of Zoology*, 3(2): 40-46.
25. Mirzaei Aghsaghali, A., N. Maheri Sis, H. Mansouri, M.E. Razeghi, A. Mirza Aghazadeh, H. Cheraghi and A. Aghajanzadeh Golshani. 2011. Evaluating potential nutritive value of pomegranate processing by products using in vitro gas production technique. *ARNP Journal of Agricultural and Biological Science*, 6(6): 45-51.
26. Ørskov, E. and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *The Journal of Agricultural Science*, 92: 499-503.
27. Parseh, H., S. Hassanpour, Z. Emam Djome, A.S. Lavasani, H.Z. Mahmoodabady, M. CHabok, F. Morady, G.R. Cheshmali, J. Sarhadi and M. Hematian. 2011. Antimicrobial properties of Pomegranate (*Punica granatum* L.) as a Tannin rich Fruit: a review. *Proceedings of the 1th international and the 4th national congress on recycling of organic waste in agriculture*, Isfahan, Iran. (In Persian).
28. Playne, M. and P. McDonald. 1966. The buffering constituents of herbage and of silage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 17: 264-268.
29. Robertson, J. and M. Eastwood, 1981. A method to measure the water-holding properties of dietary fibre using suction pressure. *British Journal of Nutrition*, 46: 247-255.
30. Safaei, A.R., N.M. Torbatinejad, H. Mansouri and S. Zarehdaran. 2014. Effects of adding Poly-Ethylene-Glycol on methane production in rumen, digestion and metabolic energy of grape and gime pomaces. *Research on Animal Production*, 5: 83-95.
31. SAS. 2009. Version 9.1. Guide, STAT User's, SAS Institute Inc., Cary, NC.
32. Shabtay, A., H. Eitam, Y. Tadmor, A. Orlov, A. Meir, P. Weinberg, Z.G. Weinberg, Y. Chen, A.I. Brosh, I. Zhaki and Z. Kerem. 2008. Nutritive and antioxidative potential of fresh and stored pomegranate industrial byproduct as novel beef cattle feed. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 10063-10070.
33. Shahidi, F. and M. Naczk. 2004. *Phenolics in food and nutraceuticals*. CRC Press Book, US, 576 pp.
34. Silanikove, N., A. Perevolotsky and F.D. Provenza. 2001. Use of tannin binding chemicals to assay for tannins and their negative post-ingestive effects in ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 91: 69-81.
35. Sommart, K., D.S. Parker, P. Rowlinson and M. Wanapat. 2000. Fermentation characteristics and microbial protein synthesis in an in vitro system using cassava, rice straw and dried ruzi grass as substrates. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 13: 1084-1093.
36. Taher Maddah, M., N. Maheri Sis, R. Salamatdoustnobar and A. Ahmadzadeh. 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.
37. Taher Maddah, M., N. Maheri Sis, R. Salamatdoustnobar and A. Ahmadzadeh. 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.
38. Teimoury Chamebon, A., A. Teimori Yanesari, Y. Chashnidel and A. Gafary Sayadi. 2017. Study of chemical composition, quality and ruminal degradability parameters of silaged orange pulp with wheat straw and urea. *Research on Animal Production*, 8: 84-95.
39. Tsuzuki, T., Y. Kawakami, R. Abe, K. Nakagawa, K. Koba, J. Imamura, T. Iwata, I. Ikeda and T. Miyazawa. 2006. Conjugated linolenic acid is slowly absorbed in rat intestine, but quickly converted to conjugated linoleic acid. *Journal of Nutrition*, 136: 2153-2159.
40. Tzulker, R., I. Glazer, I. Bar-Ilan, D. Holland, M. Aviram and R. Amir. 2007. Antioxidant activity, polyphenol content and related compounds in different fruit juices and homogenates prepared from 29 different pomegranate accessions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 9559-9570.
41. Van Soest, P.J., J. Robertson and B. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74: 3583-3597.
42. Viuda-Martos, M., J. Fernández-López and J. Pérez-Álvarez. 2010. Pomegranate and its many functional components as related to human health: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9: 635-665.

Evaluating Chemical Composition, Fatty Acid Profiles, Antioxidant Activity and Nutritive Value of Pomegranate By-Product using in Vitro Gas Production Technique

Simin Khorsandi¹, Ahmad Riasi² and Mohammad Khorvash³

1- PhD Student of Ruminant Nutrition, Isfahan University of Technology

2- Associate Professor, Isfahan University of Technology (Corresponding Author: ariasi@cc.iut.ac.ir)

3- Associate Professor, Isfahan University of Technology

Received: January 6, 2018

Accepted: August 28, 2018

Abstract

This study was conducted to determine the important nutritional properties of pomegranate by-product (seed and peel) for evaluating its potential in silage preparation compared to corn forage. At first, enough fresh pomegranate by-products were prepared from a fruit juice factory in the fall season. Then, the chemical composition, fatty acid profiles, phenolic compounds and gas production parameters were measured in dried pomegranate and corn forage samples. Also, the parameters of silage preparation were determined in fresh samples. The results showed that dry matter, crude protein, ether extract, neutral detergent fiber, acid detergent fiber and lignin content of pomegranate seed was higher ($P < 0.05$) than peel. But, the water soluble carbohydrates and ash content of pomegranate seed was lower ($P < 0.05$) than pomegranate peel. The water soluble carbohydrates in pomegranate peel was about two times more than corn forage. Moreover, pomegranate peel had high content of phenolic compounds (6.17%), total tannin (4.5%) and antioxidant activity (99.1%). Pomegranate seed and peel had 88.3% and 77.9% unsaturated fatty acids, respectively and the punicic acid content of pomegranate seed and peel was 64.9% and 46.9% of total fatty acids, respectively. The gas production parameters showed that metabolizable energy, net energy for lactation, short chain fatty acid, and organic matter digestibility in pomegranate seed and peel were lower ($P < 0.05$) than corn forage. The buffering capacity of the mixture of pomegranate seed and peel (1:4) was in the proper range for the preparation of silage. Water storage capacity in the mixture of pomegranate seed and peel was lower ($P < 0.05$) than corn forage. It was concluded that the mixture of pomegranate seed and peel (1:4) has suitable chemical composition for preparation of silage, and due to the antioxidant activity and fatty acids profile, could be considered as a valuable feed ingredient in replacement with the part of ruminant's required silage.

Keywords: Agriculture by-product, Seed and peel of pomegranate, Phenolic compounds, Tannin, Essential Fatty acid, Antioxidant activity, Silage of pomegranate by-product