



"مقاله پژوهشی"

بررسی و مقایسه ارزش تغذیه‌ای، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فراسنجه‌های هضم برون تنی دانه و کنجاله پسته کوهی

فاطمه گنجی^۱، مسلم باشتنی^۲، سید همایون فرهنگ‌فر^۲، سید احسان غیائی^۳ و حسین نعیمی پور یونسی^۳

۱- پژوهشگر پسادکتری، گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند، (نویسنده مسوول: f.ganji@birjand.ac.ir)

۲- استاد، گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند

۳- استادیار، گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند

تاریخ ارسال: ۹۹/۰۸/۰۶ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۹/۱۷

صفحه: ۶۱ تا ۷۱

چکیده

به منظور بررسی کینتیک تولید گاز در دانه و کنجاله پسته کوهی (بنه)، تولید گاز متان و تجزیه پذیری ظاهری ماده خشک از آزمایش‌های تولید گاز و Batch culture استفاده شد. تولید گاز نمونه‌ها در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت پس از انکوباسیون اندازه‌گیری و فراسنجه‌های تولید گاز، دی‌اکسید کربن، متان، زمان متناظر با نصف پیشینه تولید گاز ($t_{0.5}$) و فراسنجه‌های محاسباتی نظیر پروتئین میکروبی، تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و انرژی متابولیسمی آن‌ها برآورد شد. بر اساس نتایج به دست آمده بین دانه و کنجاله بنه به لحاظ ترکیب شیمیایی اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت ($p < 0.05$). هرچند در رابطه با ترکیبات فنولی کل اختلاف معناداری مشاهده نشد، ولی میزان تانن متراکم دانه بالاتر از کنجاله به دست آمد ($p < 0.0001$). کنجاله بنه بالاترین نرخ تولید گاز را داشت ($p < 0.008$). تعداد مول متان تولیدی در ۲۴ ساعت انکوباسیون دارای تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی بود. در مقایسه با کنجاله بنه، دانه بنه کمترین میزان متان تولیدی را به خود اختصاص داد ($p < 0.001$). غلظت کل اسیدهای چرب فرار در دانه بنه نسبت به کنجاله بنه کاهش یافت ($p < 0.008$). بالاترین میزان توده میکروبی در دانه بنه مشاهده شد ($p < 0.0003$). ضریب تفکیک در دانه و کنجاله بنه به ترتیب برابر با ۶/۴۸ و ۲/۹۲ بود. نتایج تحقیق بیانگر آن است که دانه و کنجاله بنه از پتانسیل هضمی نسبتاً خوبی برخوردار هستند و در صورت داشتن یک برنامه‌ریزی مناسب می‌توان از آن در جیره حیوانات نشخوارکننده استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: تخمیر شکمبه، تولید گاز، دانه بنه، کنجاله بنه

مقدمه

کردستان به صورت انبوه و در بقیه نقاط کشور به صورت پراکنده دیده می‌شود. در مناطق کوهستانی ایران، به ویژه دامنه‌های زاگرس درخت بنه به وفور یافت می‌شود. به طوری که حدود ۲/۵ میلیون هکتار از جنگل‌های ایران، جنگل‌های بنه هستند. این درخت به طور معمول مقاومت بالایی در شرایط نامناسب و سخت اقلیمی را داراست که ویژگی خاصی برای آن محسوب می‌گردد. سه وارسته برای بنه شناسایی شده است که عبارتند از موتیکا، کردیکا و کابولیکا. رایج‌ترین وارسته بنه در ایران موتیکا است که بیش از ۹۵ درصد درختان بنه را بخود اختصاص داده است (۱۴).

مغز بنه بیش از ۶۵ درصد میوه بنه را شامل می‌شود و عمده روغن موجود در بنه از نوع اسیدهای چرب غیراشباع است که نزدیک به ۵۰ درصد از نوع دارای یک پیوند دوگانه، ۳۰ درصد دارای دو پیوند دوگانه و نزدیک به ۲ درصد دارای بیش از دو پیوند دوگانه هستند. مقدار کمی اسید چرب اشباع نیز در روغن بنه موجود است. مهمترین اسید چرب اشباع موجود در روغن بنه اسید پالمیتیک است که حدود ۱۰ درصد کل روغن بنه را شامل می‌شود. همچنین مقادیر ناچیزی اسید استئاریک (حدود ۲/۵ درصد) نیز در این روغن وجود دارد. نسبت اسیدهای چرب غیراشباع به اشباع نزدیک به ۶ است (۱۴).

تأثیر روغن‌ها بر متانوژناسیون در مطالعات مختلف به طور چشمگیری متفاوت بوده است که به غلظت، نوع و ترکیب اسیدهای چرب در چربی مورد استفاده و همچنین به ترکیب

در دو دهه گذشته استفاده از محصولات فرعی کشاورزی و بقایای صنایع غذایی به عنوان یکی از منابع تأمین خوراک دام مورد توجه قرار گرفته است (۲۸). با توجه به شرایط آب و هوایی و کمبود منابع آب در ایران، کشت ذرت و سویا که از مهمترین اقلام خوراکی مورد نیاز در تغذیه دام و طیور است، دارای محدودیت بوده و در آینده نزدیک با مشکلات بیشتری روبرو خواهد شد. لذا استفاده از سایر منابع پروتئینی موجود کمک قابل توجهی در رفع بخشی از مشکلات صنعت دامپروری خواهد کرد. کیفیت منابع پروتئینی تابعی از ترکیب اسیدهای آمینه، قابلیت هضم آنها و وجود مواد ضد تغذیه‌ای در آنها می‌باشد. مهمترین تأمین‌کننده پروتئین جیره‌ها، کنجاله دانه‌های روغنی است که تحت تأثیر فرآیند روغن‌کشی، ترکیبات آن‌ها تحت تأثیر قرار می‌گیرد (۳۷). نتایج حاصل از تحقیقات پیشین بیانگر این موضوع است که که میوه درخت بنه دارای ۲۵ درصد روغن و ۷۵ درصد کنجاله می‌باشد (۱۳). در این راستا استفاده از کنجاله پسته کوهی (بنه) به عنوان یک منبع پروتئینی می‌تواند کارایی لازم را داشته باشد.

بنه درختی مرتفع با ارتفاع ۲ تا ۷ متر و عمری طولانی از جمله گونه‌های وحشی پسته می‌باشد که انتشار آن از جزایر قناری و کشورهای ساحل دریای مدیترانه شروع می‌شود و تا آسیای صغیر، سوریه، قفقاز، ایران، افغانستان و پاکستان امتداد می‌یابد. بنه در ایران در حد فاصل استان‌های فارس و

۹۶ و ۱۲۰ ساعت از آغاز انکوباسیون بر اساس کیلوپاسکال اندازه‌گیری شده و معادل حجمی در فشار و دمای استاندارد (۲۴ درجه سانتی‌گراد و ۱ اتمسفر) تبدیل شد. برای اندازه‌گیری ماده خشک هضم‌شده حقیقی و میزان متان تولیدی از محیط کشت و شرایط روش تولید گاز به شیوه Batch culture با سه تکرار برای هر فراسنجه استفاده شد. بدین منظور در زمان‌های ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت نمونه‌گیری از محیط کشت به‌عمل آمد.

گاز تولیدی در زمان‌های ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت برای اندازه‌گیری گاز متان توسط سرنگ‌های ایزوله نمونه‌برداری شده و توسط سیستم الکترونیکی مجهز به حسگر استاندارد گاز متان به‌منظور تعیین غلظت گاز مذکور مورد آزمایش قرار گرفت و گاز تولیدی مجتمع به‌صورت متوالی تخلیه شد (۱۹).

معادلات و روش‌های آماری

از مدل نمایی شفولد $P=v(1-\exp(-k(t-lag)))$ (۴۲) برای برازش داده‌های تولید گاز با به‌کارگیری روش مقایسات گوسن-نیوتن در رویه Nlin نرم‌افزار آماری SAS به روش رگرسیون غیرخطی (۴۵) استفاده گردید. در این مدل P گاز تولیدی، V گاز مرتبط با سوبسترای دارای پتانسیل تخمیر، K نرخ تولید گاز در زمان و Lag با مفهوم زمان مربوط به فاز تأخیر به‌کار رفت. همچنین میزان اسیدهای چرب فرار بر اساس گاز تولیدی در ۲۴ ساعت انکوباسیون از معادله Getachew و همکاران (۱۸) با ضریب تبیین $R^2=0.935$ نیز سنتز پروتئین میکروبی بر اساس گاز تولیدی در زمان متناظر با تولید نصف بیشینه گاز تولیدی ($t_{0.5}$) یعنی زمانی که نرخ تجزیه میکروارگانیزم‌ها کمینه می‌باشد (۴) از روابط زیر محاسبه شد.

(رابطه ۱)

$$VFA = (GP_{24/0.5} \times 0.0239) - 0.0601$$

=GP_{24/0.5} = گاز تولیدی (میلی‌لیتر در ۲۴ ساعت به ازاء نیم گرم ماده خشک)

$$VFA = \text{کل اسیدهای چرب فرار (میلی‌مول)}$$

(رابطه ۲)

$$(2/34) - \text{فاکتور تسهیم ظاهری} \times t_{0.5} = \text{پروتئین میکروبی}$$

فاکتور تسهیم ظاهری به‌صورت نسبت سوبسترای تجزیه‌شده ظاهری (میلی گرم) به حجم گاز تولیدی (میلی لیتر) در زمان بیان می‌شود (۴).

مقدار اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، قابلیت هضم ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم با استفاده از رابطه‌های ذیل برآورد شدند (۳۸).

(رابطه ۳)

$$= \text{اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی مول)}$$

$$0.0425 \text{ Gas} - 0.222$$

(رابطه ۴)

$$ME = 1/0.6 + 1/157 GP + 1/0.8 CP + 1/0.22 EE + 1/0.81 Ash$$

(رابطه ۵)

$$OMD = 9 + 1/991 GP + 1/595 CP + 1/181 Ash$$

مواد مغذی جیره بستگی داشته است. مطالعات مختلف نشان دادند که وقتی اسیدهای چرب متوسط زنجیر مثل اسید کاپریک (C10:0)، اسید لوریک (C12:0) و اسید میریستیک (C14:0) به شکل خالص یا توسط ترکیباتی که غنی از این اسیدهای چرب هستند به محیط کشت (۱۱) افزوده شده و یا در شرایط درون‌تنی استفاده شده‌اند احتمالاً به‌دلیل اتصال این اسیدهای چرب به دیواره سلولی باکتری‌های شکمبه باعث کاهش متان‌نژها و فعالیت سلولولایتیک‌ها شده‌اند. علاوه‌بر این افزودن اسیدهای چرب بلند زنجیر غیراشباع مانند روغن ماهی و اسید دکوزاهگزانوئیک به جیره نیز باعث کاهش تولید متان و کاهش بیهیدروژناسیون شکمبه‌ای شده‌اند (۱۶).

میوه بنه بسته به شرایط محیطی و ژنتیکی غنی از ترکیبات فنلی می‌باشد. ترکیبات فیتوکمیکال موجود در بعضی از انواع پسته گالتانین، فنل، فلاونوئید، تربینوئید، روغن‌های ضروری و رزین‌ها می‌باشند که خواص آنتی‌اکسیدانی آن‌ها به‌خاطر وجود این ترکیبات فیتوکمیکال گزارش شده است (۴۸). مقدار ترکیبات پلی فنلی در روغن پسته موتیکا ۸۱/۱۲ میلی گرم در کیلوگرم است که نسبت به مقادیر گزارش شده برای روغن‌های کردیکا، زیتون و کانولا با مقادیر به‌ترتیب ۵۶/۵۱، ۴۵/۲۳ و ۱۵/۶۵ بیشتر است. مقدار این ترکیبات در روغن بنه موتیکا بیشتر از بنه کردیکا، روغن زیتون و کانولا است. بررسی خواص فیزیکوشیمیایی روغن مغز بنه نشان داده است مقادیر توکوفرول و فنل روغن مغز بنه فراتر از سایر روغن‌های گیاهی است (۱۴). هدف از این مطالعه بررسی و مقایسه ترکیبات شیمیایی، فراسنجه‌های تولید گاز و تولید توده میکروبی دانه و کنجاله پسته کوهی (بنه) در شرایط آزمایشگاهی است.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش دانه بنه از کوهپایه‌های اطراف شهرستان بیرجند جمع‌آوری و خشک گردید. کنجاله بنه مورد استفاده شامل پوسته نرم رویی، مقدار جزئی مغز و پوسته استخوانی بود که از کارخانه روغن‌کشی فرابکر بیرجند تهیه شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده در درجه حرارت محیط و بدون تابش مستقیم نور خورشید خشک شد. سپس نمونه‌های هواخشک، آسیاب و با غربال ۱ میلی‌متری الک شد و برای انجام مراحل بعدی از این نمونه‌ها استفاده شد. تجزیه تقریبی مواد خوراکی برای ماده خشک، پروتئین خام، دیواره سلولی، دیواره سلولی بدون همی سلولز، چربی خام و انرژی خام بر طبق روش‌های پیشنهادی AOAC (۲۰۰۵) و کل ترکیبات فنلی و کل تانن‌های قابل استخراج (TT) با استفاده از روش ماکار (۳۴) مورد ارزیابی قرار گرفتند. به‌منظور بررسی کنتیک تولید گاز در دانه و کنجاله بنه، تولید گاز متان و تجزیه‌پذیری ظاهری ماده خشک (۴) از آزمایش تولید گاز به روش نیمه‌اتوماتیک (۳۶) با ۱۲ تکرار استفاده شد. سپس بر اساس روش اصلاح‌شده Blummel و همکاران (۴) معادل ۵۰۰ میلی گرم از هر ماده خوراکی و ۵۰ میلی لیتر مخلوط مایع شکمبه و بزاق مصنوعی در شیشه‌های ۱۲۰ میلی لیتری بی‌هوازی قرار داده شد. فشار ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲،

۶/۳۲ درصد گزارش گردید (۳). میزان خاکستر دانه و کنجاله بنه به ترتیب ۲/۳۹ و ۹/۲۸ درصد به دست آمد. طی آزمایش هایی میزان خاکستر دانه بنه ۲/۰۷ درصد (۴۷) و ۳/۵ درصد (۳۵) و میزان خاکستر پوشش مغز پسته ۶/۲۲ درصد (۱۲) گزارش شده است. وجود مغایرت بین نتایج به دست آمده از آزمایشات مختلف می تواند به دلیل تفاوت در شرایط محیطی، واریته و ویژگی های خاک و رسیدگی محصول باشد (۳۲).

میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی دانه بنه به ترتیب ۵۴/۳۸ و ۳۲/۴۲ درصد و کنجاله ۴۱/۰۴ و ۳۱/۰۸ درصد به دست آمد. میزان NDF و ADF پوشش مغز پسته را به ترتیب ۴۵/۱۴ و ۴۰/۷۲ درصد گزارش شد (۱۲). در بررسی دیگری، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی پسته پسته به ترتیب 25 ± 0.1 و 20.37 ± 0.3 درصد گزارش شده است (۳). محتوی انرژی خام دانه بنه بیشتر از کنجاله بنه به دست آمد (۵۶۶۶/۰۵ در مقابل ۴۳۵۹/۰۲ کالری بر گرم) که ارتباط مستقیمی با درصد بالای چربی خام در دانه بنه دارد.

ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی

نتایج مربوط به ترکیبات فنولی کل، تانن کل، ترکیبات فنولی غیرتاننی و فعالیت آنتی اکسیدانی دانه و کنجاله بنه در جدول ۲ آمده است. بین دانه و کنجاله بنه به لحاظ ترکیبات فنولی کل اختلاف معنادار آماری مشاهده نشد. کنجاله بنه بیشترین غلظت تانن قابل هیدرولیز ($p < 0.001$)، تانن کل ($p < 0.001$) و فعالیت آنتی اکسیدانی ($p < 0.036$) را داشت. با وجود پایین تر بودن میزان تانن کل در دانه بنه ($p < 0.001$) ولی میزان تانن متراکم دانه بنه بالاتر از کنجاله بنه به دست آمد ($p < 0.001$). دانه بنه نزدیک به ۱/۶۲ درصد تانن کل داشت که نزدیک به ۸۱/۵ درصد آن به فرم تانن متراکم بود. در مطالعه ای که توسط میرحیدری و همکاران (۴۰) انجام شد، بخش عمده (حدود ۶۳ درصد) از تانن موجود در پسماند پسته پاک کنی از نوع تانن قابل هیدرولیز بود. بررسی ها نشان داده است که ظرفیت آنتی اکسیدانی مواد خوراکی با محتوی پلی فنول های آن ها مرتبط است (۲۱ و ۵۱). دانه بنه بسته به شرایط محیطی و ژنتیکی غنی از ترکیبات فنلی است (۸). ترکیبات فنلی با وزن مولکولی زیاد (تانن ها) توانایی زیادی برای پاک سازی رادیکال های آزاد دارند و این توانایی بیشتر بستگی به تعداد حلقه های آروماتیک و ماهیت گروه های جابجا شونده هیدروکسیل دارد (۳۱). افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی می تواند اثرات مثبتی بر سلامت دام ها به ویژه در شرایط تنش (تنش های متابولیکی و گرمایی) داشته باشد (۲۸).

ME: انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم)، OMD: قابلیت هضم ماده آلی (درصد)، CP: پروتئین خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک)، OM: ماده آلی (گرم در کیلوگرم ماده خشک)، EE: Ash: خاکستر (گرم در کیلوگرم ماده خشک)، EE: چربی خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک)، Gas: تولید گاز در ۲۴ ساعت تخمیر پایه.

مقایسه تیمارها بر اساس ارزیابی میانگین اندازه گیری های مکرر در طول زمان در قالب طرح های کاملاً تصادفی فراسنجه های مدل های غیرخطی و مقادیر محاسبه شده در زمان ثابت با مدل آماری زیر و با رویه GLM و نرم افزار SAS و آزمون توکی استفاده شد (۴۵).

(رابطه ۶)

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + t_k + \delta_{ij} + (T \cdot t)_{ik} + e_{ijk}$$

در مدل فوق Y_{ijk} مشاهده ijk ام، μ میانگین و T_i ، t_k ، δ_{ij} ، $(T \cdot t)_{ik}$ و e_{ijk} به ترتیب شامل اثر تیمار، اثر زمان، کوواریانس بین اندازه گیری ها در هر تیمار، اثرات متقابل زمان k و تیمار i و خطای تصادفی یا واریانس بین اندازه گیری های j در هر تیمار i در زمان k بود.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی

میانگین ترکیب شیمیایی دانه و کنجاله بنه مورد آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده است. بر اساس نتایج به دست آمده کنجاله بنه مورد استفاده در این آزمایش حاوی ۱۱/۸۹ درصد پروتئین خام و ۷/۷۳ درصد چربی خام بود. میزان پروتئین خام دانه بنه ۸/۹۳ به دست آمد. همسو با این نتایج، در مطالعه ای دیگر میزان پروتئین خام دانه بنه ۸/۲۰ درصد گزارش شد (۴۷)؛ با این حال مشایخی و همکاران (۳۵) میزان پروتئین خام دانه بنه را ۱۴/۶۲ درصد گزارش کردند که با نتایج این آزمایش مغایرت دارد. در آزمایشی دیگر میزان پروتئین خام پسته پسته را 16.21 ± 0.55 درصد گزارش شد (۳). همچنین سلیمان بیگی و ارزه گر (۴۷) در بررسی خواص شیمیایی و شاخص های غذایی بنه در مقایسه با زیتون، آفتابگردان و کانولا، میزان چربی خام بنه را در محدوده ۲۳/۳ تا ۳۰/۳ درصد گزارش کردند. نتایج مشایخی و همکاران (۳۵) میزان چربی خام دانه بنه را ۲۳/۵۴ درصد نشان داد. میزان چربی خام دانه بنه در این آزمایش ۲۵/۴۰ درصد بود که با نتایج به دست آمده از تحقیقات پیشین همخوانی دارد. در مطالعه ای دیگر، میانگین چربی خام پسته پسته $20.88 \pm$

جدول ۱- ترکیب شیمیایی دانه و کنجاله بنه (درصد ماده خشک)

Table 1. Chemical compositions of Pistacia atlantica seed and meal (% DM)

تیماز	ماده خشک	پروتئین خام	چربی خام	خاکستر	الیاف نامحلول در شونده خنثی	الیاف نامحلول در شونده اسیدی	انرژی خام
کنجاله بنه	۹۹/۰۳ ^d	۱۱/۸۹ ^d	۷/۷۳ ^d	۹/۲۸ ^d	۴۱/۰۴ ^d	۳۱/۰۸	۴۳۵۹/۰۳ ^b
دانه بنه	۹۷/۲۹ ^d	۸/۹۳ ^d	۲۵/۴۰ ^a	۲/۳۹ ^d	۵۴/۳۸ ^a	۳۲/۴۲	۵۶۶۶/۰۵ ^a
SEM*	۰/۱۰۲	۰/۱۹۹	۰/۴۶۸	۰/۱۹۲	۰/۹۴۷	۰/۷۲۸	۱/۵۳۱
P-value**	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۰۱

حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار ($p < ۰/۰۵$) است.
* اشتباه معیار میانگین ** احتمال معنی‌داری

جدول ۲- ترکیبات فنولی کل و تانن کل و ترکیبات فنولی غیرتاننی دانه و کنجاله بنه (درصد)

Table 2. Total phenols (TP), total tannins (TT) and non-tannin phenols (NTP) of Pistacia atlantica seed and meal (%)

تیماز	کل فنول	کل تانن	تانن متراکم	تانن قابل هیدرولیز	فنول‌های غیرتاننی	فعالیت آنتی‌اکسیدانی
کنجاله بنه	۲/۱۷	۱/۷۳ ^d	۱/۱۵ ^d	۰/۵۷ ^d	۰/۴۴ ^d	۷۰/۸۷ ^d
دانه بنه	۲/۰۸	۱/۶۳ ^d	۱/۳۳ ^a	۰/۳۰ ^d	۰/۴۶ ^a	۶۱/۳۸ ^d
SEM*	۰/۰۳۱	۰/۰۰۴	۰/۰۰۶	۰/۰۰۴	۰/۰۰۴	۲/۱۷۳
P-value**	۰/۱۲۸	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۱۷	۰/۰۳۶

حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار ($p < ۰/۰۵$) است.
* اشتباه معیار میانگین ** احتمال معنی‌داری

تولید گاز

روند تولید گاز تیمارهای آزمایش طی ساعات‌های مختلف انکوباسیون در شکل ۱ نشان داده شده است. نمودار الگوی گاز تولیدشده نشان‌دهنده تولید گاز بیشتر کنجاله بنه در زمان‌های مختلف انکوباسیون در مقایسه با دانه بنه است. منحنی تولید گاز شامل سه بخش است؛ بخش اول مرحله بطئی خیس‌خوردن و چسبیدن میکروکوب‌ها. بخش دوم مرحله نمایی که بیانگر هضم آنزیمی است و بخش سوم که مرحله کاهش تولید گاز است که همزمان با کاهش سوبسترا صورت می‌گیرد. تولید مقدار اندکی گاز در مراحل پایانی می‌تواند مربوط به مورد استفاده قرار گرفتن لاشه میکروارگانیسم‌های مرده باشد (۳۹). در این آزمایش نیز منحنی تولید گاز از الگوی فوق تبعیت می‌کند. روند تولید گاز نشان داد که این روند تا زمان ۲۴ ساعت پس از انکوباسیون با شیب تندی صورت گرفت، اما از زمان ۲۴ به بعد افزایش تولید گاز با شیب کمتری صورت گرفت.

فراسنجه‌های تولید گاز

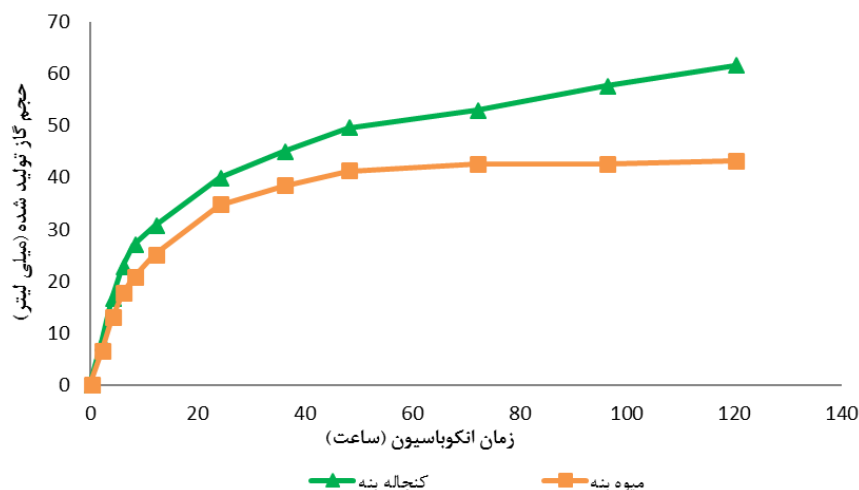
فراسنجه‌های تخمینی مدل نمایی شفولد (۴۶) بر اساس داده‌های به‌دست‌آمده از آزمایش تولید گاز و فراسنجه‌های محاسباتی مرتبط با زمان $t_{0.5}$ (نیمه عمر تولید گاز که کشت میکروبی در شرایط بسیار بهینه قرار دارد)، در جدول ۳ گزارش شده است. براساس این نتایج تفاوت الگوی تخمیر از دیدگاه نرخ و پتانسیل تولید گاز بین تیمارهای آزمایشی به‌لحاظ آماری معنی‌دار بود ($p < ۰/۰۵$). کنجاله بنه نرخ تولید گاز بالاتری نسبت به دانه بنه داشت ($p < ۰/۰۰۰۱$).

تفاوت در میزان فراسنجه‌های تخمیر به‌دست‌آمده برای مواد خوراکی مورد آزمایش ناشی از تفاوت در ترکیب شیمیایی آن‌ها و تأثیری است که بر جمعیت میکروبی و شرایط کشت می‌گذارند. نتایج حاصل از آنالیز ترکیب شیمیایی دانه و کنجاله بنه حاکی از بالا بودن مقدار چربی خام در دانه بنه در مقایسه با کنجاله بنه می‌باشد (۲۵/۴) درصد در مقایسه با ۷/۵۸

درصد). بر این اساس دانه بنه با دارا بودن ۲۵/۴ درصد چربی خام تولید گاز کمتری در مقایسه با کنجاله بنه داشت. تحقیقات مختلفی در رابطه با تأثیر منفی روغن‌های غیراشباع بر تخمیر شکمبه‌ای به‌خصوص بخش فیبری جیره غذایی و جمعیت باکتریایی انجام شده است (۲۷). نتایج صفری و همکاران (۴۴) نشان داد کل گاز تولیدی و تولید گاز در ۲۴ ساعت اول انکوباسیون در شرایط آزمایشگاهی در اثر افزودن روغن ماهی محافظت‌نشده به جیره کاهش معنی‌داری یافت. تأثیر نامطلوب روغن ماهی محافظت‌نشده بر تخمیر شکمبه‌ای ماده آلی به‌صورت معنی‌داری نمایان شد. استفاده از ۶ درصد روغن انار میزان تولید متان را به‌طور معنی‌داری کاهش داد در حالی که مقادیر کمتر آن تأثیر معنی‌داری بر تولید گاز متان نداشت (۲۹). تفاوت‌ها در نتایج آزمایشات مختلف ناشی از تفاوت در منبع چربی مورد استفاده، درصد چربی استفاده‌شده، گونه نشخوارکننده، شرایط آزمایشی، جیره مورد استفاده برای دام فیستولاگذاری‌شده و سوبسترای پایه می‌باشد.

نرخ تولید گاز (C) مربوط به نرخ تجزیه ماده خشک است. افزایش نرخ به‌وجودآمده در گاز تولیدی در واحد زمان برآیندی از سلسله وقایع بیوشیمیایی رخ داده در محیط کشت ثابت تولید گاز می‌باشد.

با توجه به نتایج ارائه شده در جدول ۳ زمان $t_{0.5}$ تولید گاز در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان داد ($p < ۰/۰۰۰۱$). در محیط حاوی کنجاله بنه $t_{0.5}$ یا نقطه عطف کاهش منحنی تولید گاز افزایش یافت. این افزایش می‌تواند به‌معنای حفظ شرایط بهینه محیط کشت به‌لحاظ بافری به‌مدت طولانی‌تری باشد که احتمالاً به‌دلیل پایین‌بودن میزان روغن و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کنجاله نسبت به دانه بنه بوده است. گزارش شده است که اسیدهای چرب غیراشباع دارای اثر ضد میکروبی بر عملکرد شکمبه در شرایط *in vivo* و *in vitro* می‌باشند (۲۵).



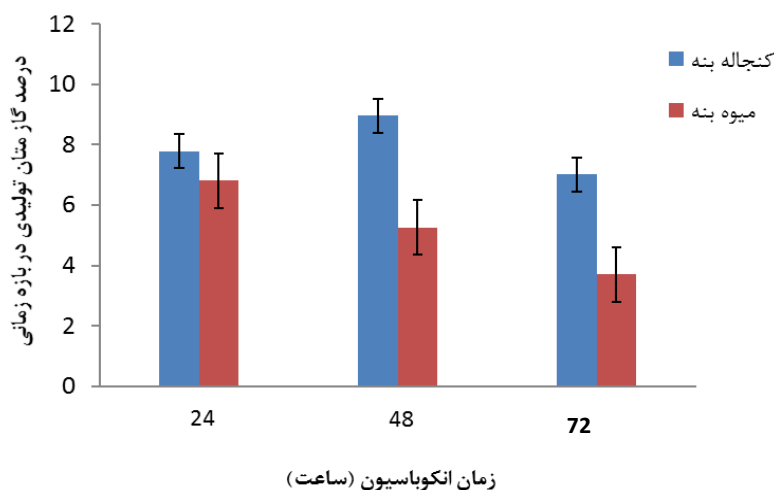
شکل ۱- نمودار الگوی تولید گاز تیمارها در زمان‌های مختلف انکوباسیون (به ازای ۵۰۰ میلی گرم نمونه)
Figure 1. Gas production profile for treatments during different incubation times (500 mg sample)

جدول ۳- فراسنجه‌های برآورد شده در تولید گاز و مجموع گاز تولیدی (میلی لیتر در ۵۰۰ میلی گرم ماده خشک)

تیمار	b	c	T _{0.5}	G _{0.5}	Gas120 (ml/g incubated DM)
کنجاله بنه	۵۲/۹۳ ^a	۰/۰۷ ^b	۹/۶۸ ^a	۳۷/۴۰ ^a	۶۱/۳۸ ^a
دانه بنه	۴۲/۱۶ ^b	۰/۰۸ ^a	۸/۵۸ ^b	۳۱/۰۸ ^b	۴۳/۱۳ ^b
SEM*	۰/۴۸۲	۰/۰۰۰۹	۰/۱۱۷	۰/۲۴۱	۲/۰۲۵
P-value**	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۲

b= پتانسیل تولید گاز c= نرخ تولید گاز در ساعت T_{0.5}: زمان ۰.۵ (ساعت) G_{0.5}: کل گاز تولیدی در زمان ۰.۵ t_{0.5}
حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی دار (p<۰/۰۵) است. * اشتباه معیار میانگین ** احتمال معنی داری

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر درصد گاز متان تولیدی در بازه‌های زمانی مختلف
تأثیر تیمارهای آزمایشی بر درصد گاز متان تولیدی در بازه‌های زمانی در شکل ۲ نشان داده شده است.



شکل ۲- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر درصد گاز متان تولیدی در بازه‌های زمانی
Figure 2. Effect of treatments on percentage of methane production in time periods

در ساعات ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت دانه بنه کمترین میزان تولید متان را به‌خود اختصاص داد و بیشترین متان تولیدی در کنجاله بنه مشاهده شد ($p < 0.05$).

تولید گاز متان در نشخوارکنندگان محصول نهایی تخمیر شکمبه‌ای بوده که علاوه بر هدرروی انرژی خوراک هضم-شده، باعث افزایش این گاز در جو می‌شود. نشخوارکنندگان در هر روز می‌توانند ۲۵۰ تا ۵۰۰ لیتر گاز متان تولید کنند که به‌تبع آن نزدیک به ۲ تا ۱۲ درصد از انرژی خام مصرفی را به‌صورت متان از دست می‌دهند در نتیجه راندمان تولید در این دام‌ها به‌طور نزدیکی با تولید متان در ارتباط است (۲۶).

در نشخوارکنندگان دو مکانیسم اصلی برای تولید گاز متان وجود دارد، مقدار کربوهیدرات تخمیرشده در حفره‌نگاری-شکمبه‌ای که بر تعادل بین نرخ کربوهیدرات تخمیری و نرخ عبور آن تاثیر می‌گذارد و مقدار ذخیره هیدروژن قابل دسترس که نسبت اسیدهای چرب فرار تولیدی را برای تولید متان تنظیم می‌کند (۲۶).

پنج احتمال برای کاهش تولید متان در اثر افزودن چربی به جیره بیان شده است: ۱) کاهش هضم الیاف (خصوصاً اسیدهای چرب بلند زنجیر)، ۲) کاهش مصرف خوراک (در صورتی که چربی کل جیره از ۷-۶ درصد تجاوز کند)، ۳) کاهش متانوزنها، ۴) کاهش جمعیت پروتوزوآهای شکمبه و ۵) افزایش فرآیند بیوهیدروژناسیون (۳۳).

دانه بنه مورد استفاده در این آزمایش حاوی ۱۶/۵۹ درصد اسید چرب اشباع، ۷۱/۰۸ درصد اسید چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه، ۱۱/۲۲ درصد اسید چرب غیراشباع با دو پیوند دوگانه و ۰/۸۸ درصد اسید چرب غیراشباع با سه پیوند دوگانه بود (۱۷). تحقیقات پیشین نشان داده است که مکمل‌سازی جیره با روغن‌های گیاهی و روغن ماهی که غنی از اسیدهای چرب غیراشباع هستند منجر به کاهش DMI^۱ در نشخوارکنندگان می‌شوند (۵۰). اسیدهای چرب غیراشباع دارای چند پیوند دوگانه، بیشتر از اسیدهای چرب غیراشباع حاوی یک پیوند دوگانه برای میکروب‌های شکمبه سمی هستند و تاثیر کاهشی چربی بر میزان تولید متان با افزایش درجه غیراشباعیت اسیدهای چرب افزایش می‌یابد (۲۰) چربیهای غیراشباع نسبت به چربی‌های اشباع در کاهش تولید متان بسیار قویتر هستند. Dohme و همکاران (۱۱) تاثیر اسیدهای چرب مختلف را بر میزان تولید متان مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که افزودن اسیدهای چرب 16:0 C و 18:0 C تاثیر معنی‌داری بر تولید گاز متان در شکمبه نداشت. مقدار متان آزادشده در تیمارهای حاوی اسیدهای چرب 16:0 C و 18:0 C حدود ۲۵ درصد بیشتر از تیمار حاوی اسید چرب 18:2 C بود و در تیمارهای حاوی اسیدهای چرب 14:0 C و 12:0 C تولید متان ۱۸ درصد بیشتر از تیمارهای حاوی اسیدهای چرب 16:0 C و 18:0 C بود. سزرکاووسکی (۷) نیز نشان داد که استفاده از اسیدهای چرب در جیره موجب مهار تولید متان می‌گردد. Glasser و همکاران (۲۲) نشان دادند کاهش در متان تولیدی با افزودن اسیدهای چرب غیراشباع می‌تواند به‌دلیل پذیرش الکترون این اسیدهای چرب در حین عمل بیوهیدروژناسیون باشد.

علاوه بر تاثیر چربی‌ها در کاهش تولید گاز متان، تحقیقات زیادی تاثیر ترکیبات فنلی و تانن را بر کاهش میزان تولید گاز متان (۲ تا ۵۸ درصد) را گزارش کرده‌اند. این اختلاف بیشتر مربوط به نوع تانن و منبع گیاهی مورد استفاده ذکر شده است (۶). صفائی و همکاران (۴۳) افزایش حدود ۵ برابری مقدار تولید گاز متان در تفاله لیموترش در مقایسه با تفاله انگور را به بالا بودن میزان کربوهیدرات‌های غیرالیافی و کمتر شدن ترکیبات فنلی به‌ویژه تانن‌های متراکم در تفاله لیموترش مرتبط می‌دانند. Tavendale و همکاران (۴۹) مهار رشد باکتری‌های متانوزن را به خاصیت باکتریواستاتیکی و باکتریوسیدی تانن‌های متراکم مربوط می‌دانند (۴۹). درحالیکه Goel و همکاران (۲۳) بیان کردند که تانن‌های قابل هیدرولیز نسبت به تانن متراکم منجر به کاهش بیشتر جمعیت باکتری‌های متانوزن و یا میکروارگانیسم‌هایی که تولید بیشتر یون هیدروژن می‌کنند، می‌شوند (۲۳). Jayanegara و همکاران (۲۴) نیز بیان کردند که تانن‌های متراکم تولید گاز و قابلیت هضم ماده آلی را بیشتر از تانن‌های قابل هیدرولیز کاهش می‌دهند. درحالیکه در همان زمان تانن‌های قابل هیدرولیز گاز متان را بیشتر از طریق کاهش هضم الیاف کاهش می‌دهد (اثر غیرمستقیم)، تانن‌های متراکم بیشتر از طریق مهار رشد و یا فعالیت متانوزنها و یا میکروب‌های تولیدکننده هیدروژن عمل می‌کنند (اثر مستقیم) (۱۰). Patra and Saxena (۴۱) کاهش گاز متان تولیدی را علاوه بر اثر مستقیم تانن‌های متراکم بر باکتری‌های متانوزن، بر تاثیر مستقیم آنها بر پروتوزوآها بیان کردند. این مطلب توسط Cieslak و همکاران (۶) نیز تایید شده است؛ آنها از تانن متراکم گیاه *vaccinium vitis idaea* به‌میزان ۲ گرم در کیلوگرم ماده خشک در جیره گاوهای شیری استفاده کرده و بیان کردند که کاهش تولید گاز متان در نتیجه کاهش تولید پروتوزوآ بوده اینکه تاثیر منفی بر قابلیت هضم ماده آلی و تولید VFA داشته باشد. بین پروتوزوآهای شکمبه با متانوزنها رابطه همزیستی مفیدی وجود دارد، لذا مهار پروتوزوآ منجر به مهار متانوزنها و کاهش تولید گاز متان می‌شود (۶). بنابراین با توجه به مطالب فوق، بالا بودن مقدار تانن متراکم در دانه بنه (با توجه به جدول ترکیبات فنولی) در مقایسه با کنجاله بنه نیز دلیل دیگری برای کاهش تولید گاز متان در این تیمار است.

فراسنجه‌های تخمیری تولید گاز

با توجه به اینکه ارزش تغذیه‌ای مواد خوراکی همبستگی بسیار بالایی با میزان تولید گاز در ۲۴ ساعت ابتدایی انکوباسیون دارد (۳۸) لذا سعی شد تا اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های تخمیری تولید گاز پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون مورد بررسی قرار گیرد. نتایج حاصله در جدول ۴ نشان داده شده است.

بر اساس این نتایج کنجاله بنه بالاترین نرخ تولید گاز را داشت ($p < 0.008$). تعداد مول متان تولیدی در ۲۴ ساعت انکوباسیون دارای تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی بود. در مقایسه با کنجاله بنه، دانه بنه کمترین میزان متان تولیدی را به‌خود اختصاص داد ($p < 0.001$). تعداد مول‌های

خوراک با ضریب تفکیک بالاتر نشان دهنده این است که بیشتر سوسترای تجزیه شده در تولید پروتئین میکروبی شرکت کرده است و بازده سنتز پروتئین میکروبی بالاتری داشته است. خوراک با ضریب تفکیک بالاتر مصرف بالاتری نیز دارد. همچنین بالاتر بودن ضریب تفکیک در شرایط برون تنی بازگوکننده سنتز پروتئین میکروبی اندازه گیری شده به وسیله مشتقات پورینی در شرایط درون تنی باشد (۵). بنابراین نتایج نشان می دهند که ضریب تفکیک محاسبه شده در شرایط برون تنی اطلاعات ارزشمندی برای پیش بینی خوراک مصرفی دام و تولید توده میکروبی در شکمبه ارائه می دهد. ضریب تفکیک در دانه و کنجاله بنه به ترتیب برابر با ۶/۴۸ و ۲/۹۲ بود. ضریب تفکیک برای کنجاله نارگیل و کنجاله تخم پنبه به ترتیب ۳/۹۲ و ۳/۱۶ و برای سبوس گندم و دانه ذرت ۳/۷۸ و ۳/۳۸ و برای کاه یولاف و کاه برنج به ترتیب ۳/۲۰ و ۲/۹۳ گزارش شده است (۳۰). همچنین در پژوهشی دیگر ضریب تفکیک برای اسانس گونه های مختلف گیاه دارویی آویشن در دامنه ۳/۸ تا ۴/۰۴ گزارش شد (۱۵). بنابراین ضریب تفکیک برای دانه بنه بالاتر از موارد ذکر شده بود. یک همبستگی منفی بالایی بین اسیدهای چرب کوتاه زنجیر تولید شده در شکمبه و سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه گزارش شده است (۴) که پژوهش حاضر نیز چنین روندی را نشان می دهد.

دی اکسید کربن در نتیجه تخمیر شکمبه ای تولید و میزان تولید دی اکسید کربن در شکمبه بیشتر بسته به فعالیت های متابولیکی (مانند میزان تولید دام) است و تغییرات در میزان تولید گازهای شکمبه ای (نسبت دی اکسید کربن به متان) به حالت های متفاوت تخمیر در شکمبه مرتبط است. بنابراین انتظار می رود تولید گاز دی اکسید کربن تابعی از تخمیر و تولید کل گازها باشد که با نتایج تحقیق حاضر موافق است (۲۹).

اسیدهای چرب فرار کل محاسباتی بر اساس گاز تولیدی در ۲۴ ساعت انکوباسیون در محیط حاوی دانه بنه نسبت به کنجاله بنه به طور معنی داری کاهش یافت ($p < 0.008$). از آنجایی که تغییر در تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر انعکاسی از تغییر در تولید گاز است کاهش کل اسیدهای چرب فرار نیز با کاهش گاز تولیدی همراه بود. تولید گاز در شرایط برون تنی می تواند نشان دهنده تخمیر کربوهیدرات های موجود در نمونه باشد که این کاهش گاز دلیلی بر کاهش فرآیند تخمیر و کاهش در تجزیه ماده آلی است. کاهش تولید گاز سبب کاهش تولید اسیدهای چرب فرار و کاهش انرژی قابل متابولیسم می شود (جدول ۴). کاهش انرژی قابل متابولیسم می تواند به کاهش در گاز تولیدی، کاهش غلظت کل اسیدهای چرب فرار و کاهش ماده آلی تجزیه شده در محیط تخمیر مربوط باشد. همچنین همبستگی منفی بین تولید گاز و انرژی قابل متابولیسم با دیواره سلولی گزارش شده است. کاهش انرژی قابل متابولیسم و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر ممکن است به علت تفاوت در ترکیب شیمیایی از جمله پایین بودن کربوهیدرات های غیرالیافی و بالاتر بودن دیواره سلولی و دیواره سلولی فاقد همی سلولز در دانه بنه باشد. تولید گاز با دیواره سلولی همبستگی منفی بالایی دارد (۹).

بالاترین میزان توده میکروبی در دانه بنه مشاهده شد ($p < 0.0003$). بر اساس مطالعات قبلی انجام شده می توان اینطور نتیجه گرفت که احتمالاً دلیل بالا بودن توده میکروبی در دانه بنه علی رغم کاهش تولید گاز، می تواند کاهش تولید متان و در نتیجه کاهش هدررفت انرژی و به دنبال آن افزایش راندمان تولید توده میکروبی باشد. در مطالعه ای (۴) افزایش شاخص ضریب تفکیک پذیری به عنوان بهبود در راندمان تخمیر معرفی شد. رابطه عکس بین شاخص ضریب تفکیک پذیری و متان در این آزمایش مشاهده شد. یک

جدول ۴- اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه های تخمیری تولید گاز در ۲۴ ساعت انکوباسیون

Table 4. The effect of experimental treatments on Fermentation parameters of gas production after 24 hours of incubation

P-value**	SEM*	تیمار		فراسنجه
		دانه بنه	کنجاله بنه	
0.008	1/128	32/86 ^b	40/52 ^a	گاز تولیدی (میلی لیتر به ازای هر گرم ماده خشک انکوبه شده)
0.001	0.003	0.09 ^b	0.13 ^a	متان تولیدی (میلی مول)
0.014	0.051	1/36 ^b	1/66 ^a	دی اکسید کربن کل (میلی مول)
0.026	0.024	0.64 ^b	0.76 ^a	دی اکسید کربن ناشی از تخمیر (میلی مول)
0.008	0.026	0.72 ^b	0.90 ^a	کل اسیدهای چرب فرار (میلی مول)
0.008	0.025	0.72 ^b	0.89 ^a	اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی مول)
0.0003	4/192	87/39 ^a	15/99 ^b	توده میکروبی (میلی گرم به ازای هر گرم ماده خشک انکوبه شده)
0.0001	0.173	6/48 ^a	2/92 ^b	ضریب تفکیک (partitioning factor (mg/ml))
0.006	0.153	7/17 ^b	8/33 ^a	انرژی قابل متابولیسم (مگاژول به ازای هر کیلوگرم ماده خشک)
0.007	1/118	42/13 ^b	50/04 ^a	ماده آلی قابل هضم (درصد)

حروف غیرمشابه در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی دار ($p < 0.05$) است.

* اشتباه معیار میانگین

** احتمال معنی داری

متابولیسم و گرمایی داشته باشد که البته مستلزم تحقیقات بیشتری در این زمینه است. با توجه به نتایج آنالیز تقریبی کنجاله بنه نیز از پتانسیل هضمی نسبتاً خوبی برخوردار است و در صورت وجود اطلاعات بیشتر می‌تواند به‌عنوان یک محصول فرعی در جیره نشخوارکنندگان مورد استفاده قرار گیرد.

نتایج این تحقیق نشان داد دانه بنه به‌عنوان یک دانه روغنی با مهار تولید گاز متان در شکمبه و افزایش ضریب تفکیک‌پذیری، این پتانسیل را دارد که در تخمیر شکمبه تغییرات مثبتی ایجاد کند. همچنین به‌نظر می‌رسد مصرف دانه و کنجاله بنه به‌دلیل دارابودن ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مناسب می‌تواند اثرات مثبتی بر سلامت دام در شرایط تنش‌های

منابع

1. AOAC. 2005. Association of Official Analytical Chemists. 15th edition. Washington, DC.
2. Behgar, M., R. Valizadeh, M. Mirzaee, A.A. Naserian and M.R. Nasiri. 2009. Correlation between the physical and chemical properties of some forages and non-forage fiber source. Journal of Animal and Veterinary Advances, 8 (11): 2280-2285.
3. Blümmel, M., H. Makkar and K. Becker. 1997. In vitro gas production: a technique revisited. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 77(1- 5): 24-34.
4. Blümmel, M. 2000. Predicting the partitioning of fermentation products by combined in vitro gas volume-substrate degradability measurements: opportunities and limitations. In: Gas Production: Fermentation Kinetics for Feed Evaluation and to Assess Microbial activity. British Society of Animal Science, Penicuik, Midlothian, pp: 48-58.
5. Cieslak, A., P. Zmora, E. Pers-Kamczyc and M. Szumacher-Strabel. 2012. Effects of tannins source (*Vaccinium vitis idaea* L.) on rumen microbial fermentation in vivo. Animal feed science and technology, 176(1): 102-106.
6. Czerkawski, J.W. 1986. An Introduction to Rumen Studies. Pergamon Press, Oxford (UK)/New York (NY, USA).
7. Daneshrad, A. and Y. Aynechi. 1980. Chemical studies of the oil from pistacia nuts growing wild in Iran. Journal of American Oil Chemistry Society, 57: 248-9.
8. De Boever, J.L., J.M. Aerts, J.M. Vanacker and D.L. De Brabander. 2005. Evaluation of the nutritive value of maize silages using a gas production technique. Animal Feed Science and Technology, 255: 123-124.
9. Delavar, M., A. Tahmasbi, M. Danesh-Mesgaran and R. Valizadeh. 2013. In vitro rumen fermentation and gas production: influence of different by-product 2 feedstuffs 3. Methodology.
10. Dohme, F., A. Machmuller, A. Wasserfallen and M. Kreuzer. 2001. Ruminant methanogenesis as influenced by individual fatty acids supplemented to complete ruminant diets. Letters in Applied Microbiology, 32(1): 47-51.
11. Esmaeili-Seirchi, N., O. Diani, R. Tahmasebi. 2015. Determination of chemical Compounds and nutritive value of seed coat Pistachios by using Gas production. 1th National Congress on Advanced Research in Animal Science with Focus Environmental Stress (NCARAC 2015). 27, 28 May. University of Birjand, Birjand, I.R. Iran
12. Esmaeilkhani, S.A. and M.H. Emadi. 1995. Use of Pistacia atlantica meal in feeding Iranian sheep. Proceedings of the National Pistacia atlantica Seminar. Animal Science and Natural Resources Research Center. Ilam. pp: 140-148.
13. Farhoosh, R., J. Tavakoli and M.H. Haddad Khodaparast. 2008. Chemical composition of kernel oils from two current subspecies of Pistacia atlantica in Iran. Journal of American Oil Chemistry Society, 85: 723-729.
14. Fereydoonpoor, M., J. Bayatkouhsar, E. Gholamali Pour and P. Ebrahimi. 2016. The Effects of Various Species of Thymus Essence on Gas Production Parameters, Dry Matter and Organic Matter Digestibility and Ruminant Fermentation Parameters in in vitro. Research on Animal Production, 7(14): 109-117.
15. Fievez, V., C. Boeckert, B. Vlaeminck, J. Mestdagh and D. Demeyer. 2007. In vitro examination of DHA-edible micro algae: 2. Effect on rumen methane production and apparent degradability of hay. Animal Feed Science and Technology, 136(1-2): 80-95.
16. Ganji, F., M. Bashtani, H. Farhangfar and S.E. Ghiasi. 2017. Effect of different growth stages on the chemical composition, antioxidant properties and rumen-intestinal digestion of Pistacia atlantica with nylon bags method. Journal of Animal Science Researches, 27(3): 185-200.
17. Getachew, G., H. Makkar and K. Becker. 1998. The in vitro gas coupled with ammonia measurement for evaluation of nitrogen degradability in low quality roughages using incubation medium of different buffering capacity. Journal of the Science of Food and Agriculture, 77(1): 87-95.
18. Ghiasi, S.E., R. Valizadeh and A.A. Naserian. 2015. Effect of Oxidized Soybean Oil against Pomegranate Seed as Antioxidant on the in vitro Rumen Fermentation Parameters. Iranian Journal of Animal Science Research, 7(3): 244-256.
19. Giger-Reverdin, S., P. Morand-Fehr and G. Tran. 2003. Literature survey of the influence of dietary fat composition on methane production in dairy cattle. Livestock Production Science, 82: 73-79.

20. Gil, M.I., F.A. Tomas Barbean, 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.
21. Glasser, F., A. Ferlay and Y. Chilliard. 2008. Oilseed supplements and fatty acid composition of cow milk: a meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 91: 4687-4703.
22. Goel, G., A. Puniya, C. Aguilar and K. Singh. 2005. Interaction of gut microflora with tannins in feeds. *Naturwissenschaften*, 92(11): 497-503 .
23. Jayanegara, A., G. Goel, H. Makkar and K. Becker. 2010. Reduction in methane emissions from ruminants by plant secondary metabolites: effects of polyphenols and saponins. *Sustainable Improvement of Animal Production and Health. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome, Italy*, 151-157.
24. Jenkins, T.C., R.J. Wallace, P.J. Moate, E.E. Mosley. 2008. Board-invited review: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. *Journal of Animal Science*, 86: 397-412.
25. Johnson, K.A. and D.E. Johnson. 1995. Methane emissions from cattle. *Journal of Animal Science*, 73: 2483-2492.
26. Jordan, E., D. Kenny, M. Hawkins, R. Malone, D.K. Lovett and F.P. Omara. 2006. Effect of refined soy oil or whole soybeans on intake, methane output, and performance of young bulls. *Journal of Animal Science*, 84: 2418-2425.
27. Khorsandi, S., A. Riasi and M. Khorvash. 2019. Evaluating chemical composition, fatty acid profiles, antioxidant activity and nutritive value of pomegranate by product using in vitro gas production technique. *Research on Animal Production*, 9(22): 92-100.
28. khosravi, F., M.H. Fathi, A.R. Vakili and H. Farhangfar. 2019. In vitro study of pomegranate by-products on methane production. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 29 (1): 89-105.
29. Kiran, D. and U. Krishnamoorthy. 2007. Rumen fermentation and microbial biomass synthesis indices of tropical feedstuffs determined by the in vitro gas production technique. *Animal feed science and technology*, 134(1): 170- 179.
30. Lagouri, V. and D. Boskou. 1996. Nutrien antioxidants in oregano. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 47: 493-497.
31. Lopez-Feria, S., S. Cardenas, J.A. Garc-Mesa and M.V. Alcarcel. 2008. Classification of extra virgin olive oils according to the protected designation of origin, olive Variety and geographical origin. *Talanta*, 75: 937-943.
32. Machmuller, A. 2006. Medium-chain fatty acids and their potential to reduce methanogenesis in domestic ruminants. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 112: 107-114.
33. Makkar, H.P.S. 2000. A Quantification of Tannin I Tree Foliage. A Laboratory Manual for the FAO/IAEA co-ordinated Research Project on use of Nuclear and Related techniques to Develop Simple Tannin Assay for Predicting and Improving the safety and Efficiency of Feedin Ruminants on Tanniniferous Tree Foliage. Joint FAO/IAEA, FAO/IAEA of Nuclear Techniques in Food and Agriculture. Animal Production and Health sub-programme, FAO/IAEA Working Document. IAEA, Vienna, Austria.
34. Mashayekhi Mazar, M.A., T.S. Vafa, S.M. Qureshi and H. Sepehri moghadam. 2016. Determination of chemical composition and digestibility of pistacia atlantica with gas production method. The Seventh Congress on Animal Sciences of Iran. 17-18 August. College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj. (In Persian)
35. Mauricio, R.M., F.L. Mould, M.S. Dhanoa, E. Owen, K.S. Channa and M.K. Theodorou. 1999. A semi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Animal Feed Science and Technology*, 79(4): 321-330.
36. Mcdonald, P., R.A. Edwards, J.F. Greenhalgh and C.A. Morgan. 2002. *Animal Nutrition*. 6th edn. UK: Prentice Hall, 838 p.
37. Menke, K.H. and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal research and development*, 28: 7-55.
38. Michalet-Doreau, B. and M.Y. Ould Bah. 1992. In vitro and in sacco methods for the estimation of dietary nitrogen degradability in the rumen: a review. *Animal feed Science and Technology*, 40: 57-86.
39. Mirheidari, A., Y. Rouzbahan and H. Fazaeli. 2020. Effects of Different Levels of Pistachio by-Product on in vitro Ruminal Fermentation and Performance of Rayini Goats. *Research on Animal Production*, 11(27): 18-26.
40. Patra, A.K. and J. Saxena. 2009. Dietary phytochemicals as rumen modifiers: a review of the effects on microbial populations. *Antonie van Leeuwenhoek*, 96(4): 363-375.
41. Rajesh, M., A. Nagarajan, S. Perumal and M. Sellamuthu. 2008. The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts of *Camellia sinensis*, *Ficus bengalensis* and *Ficus racemosa*. *Food Chemistry*, 107: 1000-1007.

42. Safaei, A.R., N.M. Torbatinejad, H. Mansouri and S. Zerehdaran. 2014. Effects of Adding Poly-Ethylene-Glycol on Methane Production in Rumen, Digestion and Metabolic Energy of Grape and Lime Pomaces. *Research on Animal Production*, 5(9): 83-95.
43. Safari, R., R. Valizadeh, R. Kadkhodayi, H. Alamolhoda, A. Tahmasbi and A. Naserian. 2012. Investigation of the resistance of fish oil microcapsules in ruminal conditions and their effect on gas production and digestibility in invitro. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 4(3): 265-273 (In Persian).
44. SAS. 2009. SAS User's Guide: Statistics. Ver 9.2. USA.: SAS Institute. Cary. N.C.
45. Schofield, P., R. Pitt and A. Pell. 1994. Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. *Journal of animal science*, 72(11): 2980-2991.
46. Soleiman-Beigi, M. and Z. Arzeigar. 2013. A review Study on Chemical Properties and Food Indexes of Mastic Oil Compared with Olive, Sunflower and Canola oils. *The Ilamian Traditional Uses of Mastic. Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences*, 21(5): 1-13.
47. Taran, M., M. Sharifi, E. Azizi and M. Khanahmadi. 2010. Antimicrobial activity of the leaves of Pistacia khinjuk. *Journal of Medicinal Plants*, 9: 81-5.
48. Tavendale, M.H., L.P. Meagher, D. Pacheco, N. Walker, G.T. Attwood and S. Sivakumaran. 2005. Methane production from in vitro rumen incubations with Lotus pedunculatus and Medicago sativa, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. *Animal feed science and technology*, 123: 403-419.
49. Toral, P.G., P. Frutos, G. Hervas, P. Gomez-Cortes, M. Juarez and M.A. de la Fuente. 2010. Changes in milk fatty acid profile and animal performance in response to fish oil supplementation, alone or in combination with sunflower oil, in dairy ewes. *Journal of Dairy Science*, 93: 1604-1615. doi: 10.3168/jds.2009-2530 PMID: 20338438
50. 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(23): 9559-9570.

Evaluation of Nutritional Value, Antioxidant Activity and Invitro Digestion Parameters of *Pistacia atlantica* Seed and Meal

Fatemeh Ganji¹, Moslem Bashtani², Seyed Homayun Farhangfar², Seyed Ehsan Ghiasi³ and Hossein Naeemipour³

1- Postdoc Researcher, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran, (Corresponding author: f.ganji@birjand.ac.ir)

2- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran

3- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran

Received: October 27, 2020

Accepted: December 7, 2020

Abstract

This study was intended to evaluate the nutritional value, antioxidant activity and digestibility coefficients of *Pistacia atlantica* seed and meal. The gas production experiment and batch culture degradability test were carried out to investigate the effects of *Pistacia atlantica* seed and meal on microbial fermentation characteristics, kinetics of gas production, methane and carbon dioxide production, $t_{0.5}$, and lag time. Also, the calculated parameters e.g. microbial protein, molar proportion of volatile fatty acids, metabolizable energy (ME), short chain fatty acid (SCFA) and organic matter digestibility (OMD %), were evaluated for different treatments. The parameters were analyzed through the completely randomized design with repeated measurements. In this experiment, there was a significant difference in chemical composition ($P < 0.05$). Although no significant difference was observed with respect to phenolic compounds, the amount of condensed tannin in seed was higher than that of meal ($P < 0.0001$). *Pistacia atlantica* meal had the highest gas production rate ($P < 0.008$). The number of moles of methane produced in 24 hours of incubation had a significant difference between the experimental treatments. Compared to meal, *Pistacia atlantica* seed had the lowest amount of methane produced ($P < 0.001$). The total concentration of volatile fatty acids in seed decreased. The highest microbial mass was observed in seed ($P < 0.0003$). The separation coefficient in the seed and meal were 6.48 and 2.92, respectively. Research shows that *Pistacia atlantica* seed and meal have a relatively good digestive potential and can be used in the diet of ruminants if properly planned.

Keywords: Gas production, *Pistacia atlantica* seed and meal, Rumen fermentation