دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان
جلد دوم، شماره دوم، ۱۳۹۳
http://ejrr.gau.ac.ir

تأثیر پوست انار عصاره‌گیری نشده و عصاره‌گیری شده بر فراسنجه‌های تولید گاز با استفاده از شیرابه شکمبه گوسفند نژاد قزل

محمدجواد ابرقوئی[۱]، *یوسف روزبهان[۲] و محمدجواد ضمیری[۳]

[۱]دانش‌آموخته دکتری تغذیه دام و [۲]دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس،
[۳]استاد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۱/۲۸؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۲/۱۷

چکیده

هدف از این پژوهش بررسی ارزش تغذیه‌ای پوست انار عصاره‌گیری شده با و بدون استفاده از پلی‌اتیلن‌گلیکول بر کنیتیک تولید گاز به روش آزمایشگاهی و برخی فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای همانند نیتروژن آمونیاکی، اسیدهای چرب فرار و جمعیّت پروتوزوآدر گوسفند بود. مقادیر کل ترکیبات فنولیک (P<۰/۰۱)، تانن کل (P<۰/۰۱)، اسید گالیک آزاد (P<۰/۰۱) و گالوتانن (P<۰/۰۱) در پوست انار عصاره‌گیری شده در مقایسه با عصاره‌گیری نشده کاهش یافت. با استفاده از پلی‌اتیلن‌گلیکول همراه با پوست انار عصاره‌گیری نشده، مقادیر تولید گاز در ۲٤ ساعت (P=۰/۰۱)، گوارش‌پذیری ماده آلی (P=۰/۰٤۷)، انرژی قابل متابولیسم (P=۰/۰۱۸)، سوبسترای هضم شده واقعی (P<۰/۰۱)، تولید گاز بالقوه (*b*) (P<۰/۰۱) افزایش یافت، ولی تولید پروتئین میکروبی، ضریب تفکیک و محصول گاز تحت تأثیر قرار نگرفتند. عصاره‌گیری سبب افزایش تولید پروتئین میکروبی و مقدار ضریب تفکیک گردید (P<۰/۰۱). افزودن پلی‌اتیلن‌گلیکول به پوست انار عصاره‌گیری نشده مقدار اسیدهای چرب فرار کل (P=۰/۰٤) و استات را افزایش داد. استفاده از پلی‌اتیلن‌گلیکول همراه با پوست انار عصاره‌گیری نشده و عصاره‌گیری شده نیتروژن آمونیاکی را افزایش داد (P<۰/۰۱). استفاده از پلی‌اتیلن‌گلیکول و عصاره‌گیری، مقدار کل پروتوزوآ (P<۰/۰۱) و زیر خانواده انتودینیوم (P<۰/۰۱) را

*نویسنده مسئول: rozbeh_y@modares.ac.ir

افزایش داد، ولی تعداد زیر خانواده دیپلودینینه (P<۰/۰۱) با افزودن پلی‌اتیلن‌گلیکول افزایش یافت. در کل، استفاده از پلی‌اتیلن‌گلیکول سبب بهبود ارزش غذایی پوست انار شد، در حالی‌که عصاره‌گیری تأثیر منفی بر ارزش غذایی پوست انار داشت. به هر حال انجام مطالعات درون‌تنی برای بررسی بیشتر تأثیر استفاده از این محصول بر بازده کاربرد انرژی و پروتئین در نشخوارکنندگان، پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: پوست انار، آزمون تولید گاز، گوارش‌پذیری ماده آلی و پلی‌اتیلن‌گلیکول

مقدمه

شرایط آب و هوایی خشک و نیمه‌خشک و کمبود منابع آبی در برخی کشورها منجربه کاهش کمی و کیفی خوراک‌های دامی شده است. بنابراین استفاده از منابع خوراکی که مورد استفاده انسان نباشد، می‌تواند با جایگزینی بخشی از مواد خوراکی معمول، سبب مرتفع شدن بخشی از مشکلات شود (علی‌پور و روزبهان، ۲۰۰۷). محصولات فرعی کشاورزی، از جمله ضایعات حاصل از صنایع تبدیلی محصولات کشاورزی مانند تفاله مرکبات، تفاله انگور و پوست انار، می‌تواند بخشی از جیره نشخوارکنندگان را تشکیل داده و علاوه‌بر بر کاهش هزینه جیره، سبب کاهش اثرات زیست‌محیطی مخرب فعالیّت‌های کشاورزی و صنعتی شود (هابر، ۱۹۸۰). محدودیت اصلی استفاده از ضایعات کشاورزی و صنایع تبدیلی، وجود مقادیر زیاد متابولیت‌های ثانویه مانند تانن‌ها، ساپونین‌ها و روغن‌های اسانسی در این محصولات است (مین و همکاران، ۲۰۰۲؛ مک سوئینی و همکاران، ۲۰۰۱). با این‌حال گزارش‌های علمی متعددی از اثر این متابولیت‌ها در تغییر فرایند تخمیر شکمبه و افزایش تولید پروتئین میکروبی[1] و بهبود عملکرد دام وجود دارد (مکار، ۲۰۰۳؛ جامینز پارالتا و همکاران، ۲۰۱۱). پژوهش‌گران نوع اثر این متابولیت‌ها را وابسته به مقدار، ساختار شیمیایی، منبع این ترکیبات و روش‌های استفاده آن‌ها دانسته‌اند (گوئل، و همکاران، ۲۰۰۵؛ ابرقوئی و همکاران، ۲۰۱۰). روش‌های مختلفی برای کاهش اثرات منفی متابولیت‌های ثانویه گیاهی وجود دارد که از آن‌جمله می‌توان به فرآوری‌های شیمیایی با استفاده از مواد قلیایی و اسیدی، فراوری‌های فیزیکی مانند خشک کردن و غیرفعال کردن تانن‌ها با استفاده از پلی‌اتیلن‌گلیکول اشاره کرد (مکار، ۲۰۰۰). با این حال، استفاده از هر کدام از روش‌های فرآوری مورد اشاره دارای معایبی بوده و ممکن است با افزایش هزینه استفاده از

1- Microbial Crude Protein (MCP)

ضایعات کشاورزی، در نهایت سبب عدم صرفه اقتصادی استفاده از آن‌ها شود (ابرقوئی و همکاران، ۲۰۱۰). استخراج متابولیت‌های ثانویه از محصولات فرعی و کاهش مقدار آن‌ها در ضایعات کشاورزی و صنعتی، به‌عنوان جایگزینی برای انواع روش‌های فرآوری، می‌تواند به‌عنوان یک روش بالقوه در کاهش اثرات منفی متابولیت‌های ثانویه بر دام مورد توجه قرار گیرد (مکار، ۲۰۰۳). در پژوهش‌های مختلفی از آب برای استخراج این متابولیت‌ها استفاده گردیده است و اشاره شده است که آب روشی آسان، اقتصادی و با آلودگی کمتر است (ابرقوئی و همکاران، ۲۰۱۳؛ ادریس و همکاران، ۲۰۱۲؛ رابابا و همکاران، ۲۰۱۰). پوست انار یکی از محصولات فرعی کارخانه‌های آب میوه‌گیری در ایران می‌باشد که میزان تولید سالانه آن در حدود ۱۲۰ هزار تن است (میرزائی آقساقعلی و همکاران، ۲۰۱۱). پوست انار حاوی مقادیر زیادی متابولیت‌های ثانویه مانند ساپونین و ترکیبات فنولیک (عمدتاً پونیکالاجین و الاجیتانن) با خواص متنوعی از قبیل اثر ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و تحریک‌کنندگی سیستم ایمنی است (آدامز و همکاران، ۲۰۰۵؛ الیویرا و همکاران، ۲۰۱۰). میرزائی آقساقعلی و همکاران (۲۰۱۱) از پوست انار در آزمون تولید گاز استفاده کرده و نشان دادند که این محصول فرعی می‌تواند منبع خوراکی مناسبی در تغذیه نشخوارکنندگان باشد. در تحقیقی دیگر توسط مدرسی و همکاران، (۲۰۱۰) از تفاله انار در جیره بز استفاده شد و این محققین اشاره کردند که می‌توان از تفاله انار به‌عنوان یک منبع خوراکی ارزان قیمت جایگزین بخشی از مواد خوراکی پرانرژی جیره بزها استفاده کرد. همچنین شابتای و همکاران (۲۰۰۸) نتیجه گرفتند که با استفاده از ۲۰ درصد از پوست انار در جیره گوساله‌های پرواری، خوراک مصرفی افزایش یافت و تأثیر منفی در این حیوانات مشاهده نگردید. این محققین، خوش‌خوراکی پوست انار را دلیل افزایش میزان خوراک مصرفی و افزایش وزن روزانه گوساله‌ها، عنوان نمودند. به هر حال در پژوهشی دیگر (ابراهیم‌پور و همکاران، ۲۰۱۲) پیشنهاد گردید که پوست انار دارای ارزش تغذیه‌ای پایینی برای دام است و با فراوری‌هایی مانند سیلو و استفاده از ملاس می‌توان ارزش غذایی این پسماند را افزایش داد.

آزمون تولید گاز از روش‌های ارزیابی مفید ارزش تغذیه‌ای خوراک‌های دامی است (مکار، ۲۰۱۰). با توجه به این‌که اطلاعات محدودی در مورد تأثیر روش‌های مناسب و اقتصادی کاهش اثرات متابولیت‌های ثانویه پوست انار وجود دارد، بنابراین، هدف از تحقیق حاضر بررسی استفاده از آب برای استخراج و کاهش مقدار متابولیت‌های ثانویه و تأثیر استفاده از باقی‌مانده پوست انار بر گوارش‌پذیری ماده آلی و تولید گاز به روش آزمایشگاهی در گوسفند بود.

مواد و روش‌ها

تهیه پوست انار: پوست انار به‌صورت تازه از شهرک صنعتی شهرستان ساوه (این شهر در ۵۰ درجه و ۲۱ دقیقه و ۳۰ ثانیه طول شرقی نصف النهار گرینویچ و ۳۵ درجه و ۱ دقیقه عرض شمالی و با ارتفاع ۹٦۰ متر از سطح دریا واقع شده است) تهیه و به آزمایشگاه انتقال یافت. لازم به ذکر است که تنها کارخانه آب انارگیری در این شهرک، بیشتر انار موردنیاز خود را در استان ساوه تهیه می‌کند. همچنین کل پوست انار به‌دست آمده در این شهرک صنعتی در یک منطقه دپو گردیده و سپس در زیر خاک مدفون می‌شود. بنابراین از ۵۰ مکان مختلف نگه‌داری پوست‌های انار نمونه‌گیری انجام شد. سپس نمونه‌ها مخلوط گردید و در نهایت ۱۰ نمونه به‌دست آمد. پوست انار به‌وسیله آون در دمای ٤۰ درجه سلسیوس خشک گردید و سپس استخراج متابولیت‌ها انجام گردید. برای استخراج متابولیت‌ها، مقدار ۱ گرم پوست انار با ۱ میلی‌لیتر آب مقطر با دمای ٤۰ درجه سلسیوس در یک ظرف آزمایشگاهی درب‌دار ریخته و به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده شد. سپس مخلوط نمونه و آب دوباره برای مدت ۱ ساعت در دمای ٤۰ درجه سلسیوس انکوبه گردید و بعد از آن سریعاً مخلوط به وسیله پارچه مثقال صاف گردید. نمونه پوست انار عصاره‌گیری شده نیز در دمای ٤۰ درجه سلسیوس و با استفاده از آون خشک گردید.

تجزیه آزمایشگاهی: ابتدا نمونه‌های تهیه شده (۱۰ نمونه) از پوست انار به‌وسیله آسیاب دارای غربال ۱ میلی‌متری آسیاب شده و سپس مقادیر ماده خشک، ماده آلی و خاکستر خام، پروتئین خام با استفاده از دستگاه کجلدال و چربی خام با استفاده از سوکسله و بر اساس روش‌های انجمن رسمی شیمی‌دانان کشاورزی[1] (۱۹۹۰) اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری دیواره سلولی طبق روش ون سوست و همکاران (۱۹۹۱)، دیواره سلولی بدون همی سلولز بر اساس (۱۹۹۰) و لیگنین نیز طبق روش ون سوست و روبرتسون (۱۹۸۱) انجام شد. کل ترکیبات فنولیک، تانن‌های قابل هیدرولیز با استفاده از رودانین و تانن کل و تانن متراکم طبق روش مکار (۲۰۰۰) برآورد گردیدند. مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم پودر پوست انار در محلول استن: آب (۱۰ میلی‌لیتر، ۷۰:۳۰) حل گردید و برای ۲۰ دقیقه در بن‌ماری التراسونیک قرار داده شد. سپس محتوا در دمای ٤ درجه سلسیوس به‌مدت ۱۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰ بر اساس شتاب زمین[2] سانتریفیوز گردید و محلول بالایی (عصاره) تا زمان اندازه‌گیری ترکیبات در دمای ٤ درجه

1 - AOAC
2 - Gravity (g)

سلسیوس نگه‌داری گردید. کل ترکیبات فنولیک با استفاده از فولین‌سیوکالتو اندازه‌گیری شد. ترکیبات فنولیک غیرتاننی با استفاده از پلی‌وینیل‌پیرولیدون غیرقابل حل تعیین شد. مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم پلی‌وینیل پیرولیدون غیرقابل حل درون لوله‌های آزمایش ریخته شد. مقدار ۱ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱ میلی‌لیتر عصاره حاوی تانن اضافه گردید. سپس محتوا مخلوط گردید و در دمای ٤ درجه سلسیوس برای ۱۵ دقیقه قرار داده شد. سپس محتوا در دمای ٤ درجه سلسیوس به‌مدت ۱۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰ بر اساس شتاب زمین سانتریفیوز گردید و محلول بالایی جمع‌آوری شد. مقدار ترکیبات فنولیک در این محلول تعیین شد و این مقدار تعیین شده به‌عنوان ترکیبات فنولیک غیرتاننی در نظر گرفته شد (مکار، ۲۰۰۰). مقدار تانن کل از تفاوت بین کل ترکیبات فنولیک و ترکیبات فنولیک غیرتاننی محاسبه گردید. اسید تانیک (ساخت شرکت سیگما) به‌عنوان استاندارد استفاده شد. تانن متراکم به‌وسیله روش بوتانول- اسیدکلریدریک تعیین شد. مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره آماده شده به‌علاوه ۳ میلی‌لیتر بوتانول- اسیدکلریدریک و ۰/۱ میل‌لیتر فریک آمونیوم سولفات مخلوط شده و برای ٦۰ دقیقه در آب در حال جوش قرار داده شد. سپس جذب نوری در طول موج ۵۵۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. مقدار اسید گالیک آزاد با استفاده از رودانین طبق روش مکار (۲۰۰۰) برآورد گردید. مقدار اسیدگالیک کل نیز طبق روش مکار (۲۰۰۰) برآورد گردید. سپس مقدار گالوتانن از تفاوت اسیدگالیک کل و اسیدگالیک آزاد محاسبه گردید (مکار، ۲۰۰۰).

آزمون تولید گاز: از سه رأس گوسفند فیستولادار به‌منظور تهیه شیرابه شکمبه استفاده شد. حیوانات با جیره‌ای حاوی علوفه یونجه (٦۳۸ گرم در کیلوگرم ماده خشک)، کنجاله سویا (۱۳۹ گرم در کیلوگرم ماده خشک)، دانه جو (۱۸٤ گرم در کیلوگرم ماده خشک) و مخلوط مواد معدنی ویتامینی (۳۹ گرم در کیلوگرم ماده خشک) دو بار در روز، ساعت ۸ و ۱۷ و دسترسی آزاد به آب و بلوک‌های معدنی تغذیه شدند. مخلوط مواد معدنی ویتامینی شامل (در کیلوگرم): ۱۸۵ گرم کلسیم، ۱۰٤ گرم منیزیم، ۲۲۵ گرم کبالت، ٤٤ گرم منگنز، ۳٦/٤ گرم روی، ۱/۳ گرم ید، ۱۰۰۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی رتینول، ۲۰۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین د۳، ٤۰۰۰۰ واحد بین‌المللی بتا توکوفرول بود. شیرابه شکمبه هر گوسفند قبل از غذای صبح به‌وسیله دستگاه پمپ خلاء جمع‌آوری و در دمای ۳۹ درجه سلسیوس به آزمایشگاه انتقال داده شد. شیرابه با استفاده از ٤ لایه پارچه مخصوص مثقال و تحت جریان گاز دی‌اکسید کربن و دمای ۳۹ درجه سلسیوس صاف گردید. تیمارهای آزمایشی مورد آزمون شامل: پوست انار عصاره‌گیری نشده، پوست انار عصاره‌گیری نشده به‌علاوه پلی‌اتیلن‌گلیکول، پوست انار عصاره‌گیری

شده، پوست انار عصاره‌گیری شده به‌علاوه پلی‌اتیلن‌گلیکول بود. مقدار ۵۰۰ میلی‌گرم پوست انار عصاره‌گیری نشده و عصاره‌گیری شده بدون و با یک گرم پلی‌اتیلن‌گلیکول (وزن مولکولی ٦٠٠٠، شرکت سیگما) درون سرنگ‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری وزن گردید (مکار، ۲۰۱۰). سرنگ‌ها قبل از اضافه کردن ٤٠ میلی‌لیتر مخلوط بافر در دمای ۳۹ درجه سلسیوس قرار داده شدند. مخلوط بافر شامل نسبت ۱ به ٤ شیرابه شکمبه و بزاق مصنوعی بود. بزاق مصنوعی شامل ٢٤١/٢ میلی‌لیتر بافر بیکربنات، ١٢٠/٦ میلی‌لیتر محلول معدنی ماکرو، ٠/٠٦ میلی‌لیتر محلول معدنی میکرو، ٠/٦١ میلی‌لیتر رزوزارین، ٣٦٢ میلی‌لیتر آب مقطر، ۲۳ میلی‌لیتر محلول احیاء کننده و ۲۵۳ میلی‌لیتر شیرابه شکمبه بود. به ازای هر نمونه ٤ تکرار (سرنگ) و ۳ سرنگ نیز برای بلانک در نظر گرفته شد. قرائت حجم گاز تولیدی در زمان‌های ۲، ٤، ٦، ٨، ١٢، ١٦، ٢٤، ٤٨، ٧٢، ٩٦ و ١٢٠ ساعت بعد از انکوباسیون صورت پذیرفت. در پایان ساعت ٢٤ انکوباسیون یک سری از سرنگ‌ها باز شدند و تخمیر به‌وسیله چرخاندن سرنگ‌ها بر روی یخ متوقف گردید. کل محتوای سرنگ‌ها در دور ۲۰۰۰ بر اساس شتاب زمین برای ۲۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سلسیوس درون فالکون سانتریفیوژ گردید و از محلول بالایی برای تعیین میزان نیتروژن آمونیاکی و اسیدهای چرب فرار استفاده شد. باقیمانده تخمیر با استفاده از آون و در دمای ٦٠ درجه سلسیوس به‌مدت زمان ٤٨ ساعت خشک گردید. اتلاف وزن سوبسترا بعد از آون به‌عنوان ماده خشک تجزیه شده در نظر گرفته شد. مقدار سوبسترای هضم‌شده واقعی[1] به‌صورت میلی‌گرم به گرم ماده خشک تعیین گردید (مکار، ۲۰۱۰).

اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی: در زمان ٢٤ ساعت بعد از انکوباسیون و پس از سانتریفیوژ محتوای سرنک، از محلول بالایی سانتریفیوژ نمونه‌برداری شد و نمونه گرفته شده با نسبت ۵ به ۱ با اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال رقیق گردید و تا روز اندازه‌گیری در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگه‌داری شد در روز اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی سانتریفیوژ (۱۰ دقیقه با ۱۵۰۰ دور در دقیقه) انجام شد و مقدار نیتروژن آمونیاکی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (هیتاچی، توکیو ژاپن)[2] در طول موج ۵۵۰ نانومتر تعیین گردید (برودریک و کانگ، ۱۹۸۰).

اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار: در پایان ساعت ٢٤ انکوباسیون، بعد از سانتریفیوژ محتوای سرنگ، ۱ میلی‌لیتر از محلول بالایی سانتریفیوژ شده درون میکروتیوب‌های سانتریفیوژ ریخته شد و ۰/۲۰ میلی‌لیتر

1- Truly degraded substrate (TDS)
2- Hitachi, Ltd., Tokyo, Japan

اسید متافسفریک ۲۵ درصد به آن اضافه گردید. محلول ۲ ساعت در دمای آزمایشگاه نگه‌داری شد و در دور g ۱٤۰۰۰ برای ۱۵ دقیقه در دمای ٤ درجه سلسیوس سانتریفیوژ گردید. محلول بالایی در دمای ۲۰- درجه سلسیوس ذخیره گردید. برای تخمین اسیدهای چرب فراراز دستگاه گاز کروماتوگراف (شیماتزو ژاپن) مجهز به ستون مویرگی ساخت آمریکا (TM 1000, 45/60, 2m×1/8 Supelco, St, Louid, MO, USA)، آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای و ستون شیشه‌ای کرومـوزورب (٤ فـوت طـول و ۱/۸ میلی‌متر قطر) استفاده گردید. مقدار ۰/۲ میکرولیتر از محلول تهیه شده به دستگاه تزریق شد. ۲- اتیـل بوتیریک اسید به‌عنوان استاندارد داخلی استفاده گردید. جریان گاز نیتروژن، هیدروژن و هوا به‌ترتیب ۳۰، ۳۰ و ۳۲۰ میلی‌لیتر بر دقیقه بودند. دمای آون تزریق، ستون و آشکارساز بـه‌ترتیـب ۲۷۰، ۱۷۲ و ۲۷۰ درجه سلسیوس بود (کوتین و بوکیو، ۱۹٦۸).

تعیین جمعیت پروتوزوآ[1]: در یک سری جداگانه از سرنگ‌ها، برای تعیین جمعیت پروتوزوآ نمونـه‌ای از محتوای سرنگ گرفته شد و با محلول فرمال‌سالین (۲۰ میلی‌لیتر فرمالدهید در ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول سالین شامل ۰/۸۵ گرم نمک طعام در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) به نسبت ٤ به ۱ مخلـوط گردیـد و در دمای ٤ درجه سلسیوس تا روز شمارش نگه‌داری گردید. دو میلی‌لیتر از محتوای شیرابه شکمبه درون لوله آزمایش ریخته شد. سپس دو قطره محلول رنگ‌آمیزی لوگول به لوله اضافه گردید و مخلوط شـد و به‌مدت یک شبانه‌روز در دمای آزمایشگاه قرار داده شد. به‌وسیله میکروسکوپ با بزرگ‌نمـایی ۱۰ x و لام هماسیتومتر تعداد پروتوزوآ (کل پروتوزوآ، جنس ایزوتریچا، جنس داسی‌تریچا، زیرخانواده‌هـای انتودینینه، دیپلودینینه و افریوسکالسینه) تعیین گردید (دهوریتی، ۲۰۰۳).

محاسبات: برای تخمین تولید گاز از معادله غیرخطی فرانس و همکاران (۲۰۰۰) استفاده گردید.

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

A: حجم گاز تولیدی در زمان t، b: تولید گاز بالقوه (میلی‌لیتر به گرم ماده خشـک)، c: سـرعت تولیـد گاز (به ازای ساعت) از بخش خوراکی آهسته تخمیر و b و L زمان تأخیر تولید گاز می‌باشند.

گوارش‌پذیری ماده آلی[2] و انرژی قابل متابولیسم[3] با استفاده از حجم گـاز حاصـل از تخمیـر ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک در طول ۲٤ ساعت و روابط زیر محاسبه شد (منک و همکاران، ۱۹۷۹).

1- Protozoa
2- *In vitro* organic matter digestability (IVOMD)
3- Metabolisable energy (ME)

IVOMD = ۲/۲۰ + ۰/۱۳٦ GP + ۰/۵۷ XP

ME (MJ/kg DM) = ١٤/٨٨ + ٨/٨٩ GP + ٤/٥ XP + ٠/٦٥١ XA

GP: حجم گاز تولیدی تصحیح‌شده برای ٢٤ ساعت (میلی‌لیتر به ازای ٢٠٠ میلی‌گرم ماده خشک)

XP: پروتئین خام (گرم به ازای ١٠٠ گرم ماده خشک)، XA: خاکستر خام (گرم به ازای ١٠٠ گرم ماده خشک)

محصول گاز[1] (GY_{24}) از رابطه زیر محاسبه گردید (مکار، ٢٠١٠):

GY_{24}= میلی‌لیتر گاز به ازای ماده خشک/گرم سوبسترای هضم شده

تولید پروتئین میکروبی با استفاده از فرمول زیر (مکار، ٢٠١٠) محاسبه گردید:

MCP (mg/g DM) = (٢/٢ × میلی‌لیتر گاز – میلی‌گرم سوبسترای هضم شده)

نسبت ماده آلی هضم شده (میلی‌گرم) به میلی‌لیتر گاز تولیدشده بعد از ٢٤ ساعت انکوباسیون برای تخمین ضریب تفکیک[2] در نظر گرفته شد (مکار، ٢٠١٠).

تجزیه و تحلیل آماری: برای داده‌های مربوط به ترکیبات شیمیایی و متابولیت‌های ثانویه با استفاده از نرم‌افزار SAS (٢٠٠٢) (Ver 9.0. SAS Institute, Cary, N.C. USA) بر اساس مدل آماری ذیل تجریه واریانس داده‌ها صورت گرفت و میانگین‌های به‌دست آمده با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن مورد مقایسه آماری قرار گرفت.

$Y_{ij}= \mu+ x_i+x_j+\varepsilon_{ij}$

Y_{ij}: میانگین کل؛ μ: میانگین نمونه؛ x_i: اثر نمونه؛ x_j: اثر تکرار؛ ε_{ij}: خطای آزمایشی

داده‌های حاصل از تخمیر شکمبه با استفاده از نرم‌افزار SAS (٢٠٠٢) در یک آزمایش فاکتوریل ٢×٢ بر اساس مدل آماری ذیل تجریه واریانس داده‌ها صورت گرفت.

$Y_{ij}= \mu+ T_i+P_j+ TP_{ij}+\varepsilon_{ij}$

Y_{ij}: میانگین کل؛ μ: میانگین نمونه؛ T_i: اثر نوع عصاره‌گیری؛ P_j: اثر پلی‌اتیلن‌گلیکول؛ TP_{ij}، اثر متقابل عصاره‌گیری و پلی‌اتیلن‌گلیکول، ε_{ij}: خطای آزمایشی

برای شمارش پروتوزوآ، نرمال بودن داده‌ها با استفاده از روش مقایسات تک متغیره و آزمون کلموگروف – اسمیرنوف انجام شد.

1- Gas yeild (GY24)
2- Partitioning factor (PF24)

نتایج و بحث

مقدار پروتئین پوست انار عصاره‌گیری نشده ۳٤/٦۲ گرم بر کیلوگرم ماده خشک بود که با نتایج ارائه‌شده در تحقیقات دیگر (شابتای و همکاران، ۲۰۰۸؛ میرزائی آقساقعلی و همکاران، ۲۰۱۱) مطابقت ندارد. مقدار دیواره سلولی مشابه با نتیجه برآورد شده توسط میرزائی آقساقعلی و همکاران (۲۰۱۱) بود. تفاوت در مقادیر این ترکیبات در بین منابع احتمالاً به‌دلیل گونه انار، روش آب‌گیری از انار، روش‌های اندازه‌گیری و شرایط خشک کردن است (کمالک و همکاران، ۲۰۰٤؛ مکار و سینگ، ۱۹۹۳). مقادیر دیواره سلولی در پوست انار عصاره‌گیری شده در مقایسه با عصاره‌گیری نشده افزایش یافت (P<۰/۰۱). این افزایش احتمالاً در نتیجه افزایش سهم این ترکیب در اثر استخراج برخی ترکیبات (مانند ترکیبات فنولیک، لکتین) به واسطه آب است که در مطالعه قبلی ما تعیین شده است (ابرقوئی و همکاران، ۲۰۱۳).

جدول ۱- ترکیب شیمیایی (گرم به کیلوگرم ماده خشک) پوست انار عصاره‌گیری نشده و عصاره‌گیری شده (تعداد تکرار= ۳۰)

	پوست انار عصاره‌گیری نشده	پوست انار عصاره‌گیری شده	خطای استاندارد	مقدار P
ماده خشک	۹٦۸/٦۰[a]	۹۳٤/۳۲[b]	۰/۷۳۰	<۰/۰۱
ماده آلی	۹۵۱/۲۰[a]	۹۳٤/۳۲[b]	۰/٦۲۰	<۰/۰۱
پروتئین خام	۳٤/٦۲[a]	۳۷/۲٤[a]	۰/۷۲۱	۰/۰٦۳
چربی خام	٦۰/۲۰	٦۰/۱۲	۰/۵۵۸	۰/۸۷
دیواره سلولی	۲۰۹/۳۰[b]	۲۸٦/٤۰[a]	۰/۰٤٤	<۰/۰۱
دیواره سلولی منهای همی‌سلولز	۸۸/٤۰[b]	۱٦۷/٦۱[a]	۰/۵۷۵	<۰/۰۱
لیگنین	۷۱/۰[b]	۹۷/۹۰[a]	۰/۵٦۳	<۰/۰۱

حروف لاتین غیرمشابه در هر سطر نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است.

مقادیر ترکیبات فنولیک کل، تانن کل و تانن متراکم، اسید گالیک آزاد و گالوتانن در پوست انار عصاره‌گیری شده و عصاره‌گیری نشده در جدول ۲ آورده شده است. مقادیر ترکیبات فنولیک کل در پوست انار عصاره‌گیری نشده در تحقیق حاضر کمتر از مقدار برآورد شده (۲۱٦/۹ گرم به کیلوگرم ماده خشک) توسط بن نصر و همکاران (۱۹۹٦) و نتیجه (۲۹۵/۵ گرم به کیلوگرم ماده خشک) ذکر

شده توسط فاویی و همکاران (۲۰۱۲) و بیشتر از نتایج ارائه شده (۵۳/۶۵ گرم به کیلوگرم ماده خشک) در تحقیق الفاله و همکاران (۲۰۱۲) بود. مقدار گالوتانن در مطالعه حاضر کمتر از نتیجه تحقیق ارائه شده (۱۳۹/۶۳ گرم به کیلوگرم ماده خشک) توسط الفاله و همکاران (۲۰۱۲) و بیشتر از نتیجه ذکر شده (۰/۷ گرم به کیلوگرم ماده خشک) در پژوهش دیگر (فاویی و همکاران، ۲۰۱۲) بود. تفاوت در مقادیر این متابولیت‌ها در بین منابع احتمالاً به‌دلیل گونه انار، روش آب‌گیری از انار، روش‌های اندازه‌گیری و شرایط خشک کردن هست (الفاله و همکاران، ۲۰۱۲؛ مکار و سینگ، ۱۹۹۳). در این تحقیق از آون برای خشک کردن پوست انار استفاده گردید و این احتمال وجود دارد که حرارت سبب تخریب یا اتصال بخشی از این متابولیت‌ها به دیواره سلولی می‌شود (مکار، ۲۰۰۳)، و شاید دلیلی برای مقدار کمتر این متابولیت‌ها نسبت به تحقیقات دیگر باشد. مقادیر ترکیبات فنولیک کل، تانن کل، تانن متراکم و گالوتانن در پوست انار عصاره‌گیری شده در مقایسه با عصاره‌گیری نشده کاهش یافت و این نشان‌دهنده استخراج این متابولیت‌ها هست.

جدول ۲- ترکیبات فنولیک (گرم به کیلوگرم ماده خشک) پوست انار (تعداد تکرار = ٦).

	پوست انار عصاره‌گیری نشده	پوست انار عصاره‌گیری شده	خطای استاندارد	مقدار P
ترکیبات فنولیک کل	۱۸۹/۲۰[a]	۱٤٤/۸۰[b]	۰/۳٦۹	< ۰/۰۱
تانن کل	۱٦۲/۲۱[a]	۱۱۰/٦۸[b]	۰/۵۲۷	< ۰/۰۱
ترکیبات فنولیک غیرتانئی	۲٦/۹۹[a]	۳٤/۱۲[b]	۰/٤۹٦	< ۰/۰۱
تانن متراکم	۵/۱۵	٤/۵۲	۰/۵۲٤	۰/۱۵
اسید گالیک آزاد	۳/٤۷[a]	۲/۳٦[b]	۰/۱۹۰	< ۰/۰۱
اسید گالیک کل	۸۱/۷۳[a]	۵۵/٦۰[b]	۰/٤۲۸	< ۰/۰۱
گالوتانن	۷۸/۲۰[a]	۵۳/۲۰[b]	۰/۳٦۵	< ۰/۰۱

تانن کل از تفاوت ترکیبات فنولیک کل و ترکیبات فنولیک غیرتانئی محاسبه گردید. مقدار گالوتاتن از تفاوت بین اسید گالیک کل و اسید گالیک آزاد محاسبه گردید، حروف لاتین غیرمشابه در هر سطر نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است.

فراسنجه‌های تولید گاز: میزان تولید گاز در ۲٤ ساعت انکوباسیون، درصد افزایش گاز، گوارش پذیری ماده آلی، انرژی قابل متابولیسم، تولید پروتئین میکروبی، سوبسترای هضم شده واقعی، ضریب

تفکیک، محصول گاز، تولید گاز بالقوه و سرعت تخمیر در جدول ۳ آورده شده است. با افزودن پلی‌اتیلن‌گلیکول به پوست انار عصاره‌گیری نشده مقدار تولید گاز در ۲٤ ساعت (P<۰/۰۱)، گوارش‌پذیری ماده آلی (P<۰/۰٤۷)، انرژی قابل متابولیسم (P<۰/۰۱۸)، سوبسترای هضم شده واقعی (P<۰/۰۱)، تولید گاز بالقوه (P=۰/۰۲) افزایش یافت. این افزایش احتمالاً در نتیجه خنثی شدن اثر متابولیت‌های ثانویه در حضور پلی‌اتیلن‌گلیکول هست (مکار، ۲۰۰۳). غیر فعال‌سازی متابولیت‌ها به‌خصوص تانن‌ها به‌وسیله پلی‌اتیلن‌گلیکول، قابلیت دسترسی مواد مغذی را زیاد کرده و در نتیجه باعث افزایش فعالیّت میکروبی و گوارش‌پذیری می‌گردد (مکار، ۲۰۰۵). مقدار تولید گاز در ۲٤ ساعت، گوارش‌پذیری ماده آلی، انرژی قابل متابولیسم، سوبسترای هضم شده واقعی و تولید گاز بالقوه در پوست انار عصاره‌گیری شده و عصاره‌گیری شده به‌علاوه پلی‌اتیلن‌گلیکول در مقایسه با عصاره‌گیری نشده کاهش یافت. به هر حال عصاره‌گیری سبب کاهش این فراسنجه‌ها گردید. این کاهش احتمالاً به‌دلیل افزایش مقدار دیواره سلولی و لیگنین انار عصاره‌گیری شده در مقایسه با پوست انار عصاره‌گیری نشده هست (بمگارتل و همکاران، ۲۰۰۵؛ ون سوست، ۱۹۸۲). افزایش در محتوای دیواره سلولی می‌تواند در نتیجه استخراج برخی ترکیبات مانند متابولیت‌های ثانویه، نشاسته، کربوهیدرات‌های محلول و لکتین در عصاره باشد. به‌طور مشابه در تحقیقی دیگر نیز نشان داده شد که رابطه منفی که بین تولید گاز و بخش دیواره سلولی وجود دارد در مقایسه با رابطه بین تولید گاز و کل ترکیبات فنولیک (٥٦-٥۱۲ گرم به کیلوگرم ماده خشک) و کل تانن (۰/۲-۲۸ گرم به کیلوگرم ماده خشک) قوی‌تر است و اثر دیواره سلولی بر تولید گاز در مقایسه با اثر متابولیت‌های ثانویه بیشتر است (عبدالرازک و همکاران، ۲۰۰۰). به‌علاوه مطالعات درون‌تنی نیز پیشنهاد داده‌اند که اثر منفی لیگنین در تفاله انگور بر گوارش‌پذیری ماده آلی، بیشتر از اثر تانن هست (بمگارتل و همکاران، ۲۰۰۵؛ ابرقوئی و همکاران، ۲۰۱۰). استفاده از پلی‌اتیلن‌گلیکول تأثیری بر تولید پروتئین میکروبی در هر دو نوع پوست انار نداشت. بر خلاف نتایج ما علی‌پور و روزبهان (۲۰۰۷) افزایش در تولید پروتیین میکروبی در اثر اضافه کردن پلی‌اتیلن‌گلیکول به تفاله انگور و بنتو و همکاران (۲۰۰۵) کاهش تولید پروتیین میکروبی را با افزودن پلی‌اتیلن‌گلیکول ذکر کردند. تفاوت در نتایج تحقیق حاضر و مطالعات ذکرشده احتمالاً به‌دلیل روش‌های مختلف محاسبه پروتیین میکروبی هست (علی‌پور و روزبهان، ۲۰۰۷). عصاره‌گیری سبب کاهش تولید پروتئین میکروبی گردید (P<۰/۰۱). اافزودن پلی‌اتیلن‌گلیکول تأثیری بر مقدار ضریب تفکیک نداشت ولی عصاره‌گیری سبب افزایش این فاکتور گردید. این افزایش احتمالاً به‌این

دلیل است که بخشی از سوبسترا در محیط تخمیر حل شده است ولی برای تولید بیوماس میکروبی و ساخت اسیدهای چرب فرار مصرف نشده است (طالب‌زاده و همکاران، ۲۰۱۲). با افزودن پلی‌اتیلن‌گلیکول به پوست انار عصاره‌گیری نشده مقدار تولید گاز بالقوه (P=۰/۰۲) و سرعت تخمیر (P<۰/۰۱) افزایش یافت. این افزایش احتمالاً به‌این دلیل است که پلی‌اتیلن‌گلیکول به متابولیت‌های ثانویه باند شده و اثر منفی این ترکیبات را بر میکروارگانیسم‌های شکمبه کاهش داده و در نتیجه سبب افزایش تولید گاز بالقوه و سرعت تخمیر می‌گردد (مکار، ۲۰۰۵). بر خلاف نتایج حاضر، در مطالعات دیگر نشان داده شد که استفاده از پلی‌اتیلن‌گلیکول همراه با تفاله انگور (ابرقوئی و همکاران، ۲۰۱۰) و برگ بلوط (یوسف الهی و همکاران، ۲۰۰۸) تأثیری بر مقدار سرعت تخمیر نداشته است. تفاوت در اثرات متابولیت‌های ثانویه بر تولید گاز و فراسنجه‌های گاز احتمالاً به‌دلیل سوبسترای استفاده شده، مقدار و ساختار متابولیت‌های ثانویه موجود هست (جامینز پارالتا و همکاران، ۲۰۰۱؛ گتاچیو و همکاران، ۲۰۰۸). تولید گاز در زمان‌های مختلف انکوباسیون در جدول ٤ آورده شده است. با افزودن پلی‌اتیلن‌گلیکول به پوست انار عصاره‌گیری نشده مقدار تولید گاز افزایش یافت.

فراسنجه‌های شکمبه: اسیدهای چرب فرار محصولات نهایی تخمیر میکروبی شکمبه بوده و نشان‌دهنده عرضه انرژی قابل متابولیسم برای حیوان هستند (ون سوست، ۱۹۸۲) و کاهش این اسیدها برای حیوان مضر است. افزودن پلی‌اتیلن‌گلیکول به پوست انار عصاره‌گیری نشده مقدار اسیدهای چرب فرار کل (P=۰/۰٤) و استات را افزایش داد. این افزایش می‌تواند به‌دلیل افزایش گوارش‌پذیری (جدول ۳) باشد (ون سوست، ۱۹۸۲). به‌طور مشابه در تحقیقی دیگر (پریولو و همکاران، ۲۰۰۰) نیز نشان داده شد که استفاده از پلی‌اتیلن‌گلیکول همراه با تفاله خرنوب در جیره بره‌های پرواری مقدار تولید اسیدهای چرب فرار کل و استات را افزایش داد. عصاره‌گیری، مقدار تولید اسیدهای چرب فرار کل، استات، پروپیونات و بوتیرات را کاهش داد، که این کاهش احتمالاً در نتیجه کاهش گوارش‌پذیری و تأثیر منفی افزایش دیواره سلولی و لیگنین پوست انار عصاره‌گیری شده است (ون سوست، ۱۹۸۲؛ ون سوست، ۱۹۹٤). به‌طور مشابه ویتی و همکاران (۲۰۰۵) و گتاچیو و همکاران (۲۰۰۱) نیز گزارش کردند که محتوای الیاف بیشتر می‌تواند سبب کاهش تولید اسیدهای چرب فرار گردد. استفاده از پلی‌اتیلن‌گلیکول همراه با پوست انار عصاره‌گیری نشده و عصاره‌گیری شده مقدار نیتروژن آمونیاکی را افزایش داد (P<۰/۰۱).

جدول ۳- تولید گاز آزمایشگاهی و فراسنجه‌های تخمینی پوست انار عصاره‌گیری نشده و عصاره‌گیری شده با و بدون پلی‌اتیلن گلیکول.

	پوست انار عصاره-گیری نشده	پوست انار عصاره‌گیری نشده به علاوه‌پلی‌اتیلن‌گلیکول	پوست انار عصاره گیری شده	پوست انار عصاره گیری شده به‌علاوه پلی‌اتیلن‌گلیکول	خطای استاندارد	مقدار P		
						پوست انار	پلی‌اتیلن گلیکول	پوست انار ×پلی‌اتیلن‌گلیکول
تولید گاز در ۲٤ ساعت (میلی‌لیتر)	۲۳۱/۱^{b}	۲٤۱/۳٥^{a}	۱۹٤/۳٥^{c}	۱۹۰/۸٥^{c}	۱/۰٦٤	<۰/۰۱	۰/۰۱	<۰/۰۱
درصد افزایش گاز		٤/٤۷		−۱/۸				
گوارش‌پذیری (درصد)	٥۷/۸۱^{b}	٥۹/٦٥^{a}	٥۱/٤۲^{c}	٥۰/۸۰^{c}	۰/٤۹۱	<۰/۰۱	۰/۰٤۷	<۰/۰۱
انرژی قابل متابولیسم	۸/۷۷^{b}	۹/٥^{a}	۷/۷۷^{c}	۷/٦۸^{c}	۰/۰۳	<۰/۰۱	۰/۰۱۸	<۰/۰۱
پروتئین میکروبی	٥٥/٥٤^{a}	٥٦/٦^{a}	۳۷/٥٦^{b}	۳۸/۹۸^{b}	۱/٦٤۲	<۰/۰۱	۰/٥۷	۰/۷۹
سوبسترای هضم شده واقعی	٥۹۳/٦۱^{b}	٦۱۳/۹۹^{a}	٥٤۳/۱۰^{c}	٥۳٤/٦۰^{c}	۱/٦۰٤	<۰/۰۱	<۰/۰۱	<۰/۰۱
ضریب تفکیک در ۲٤ ساعت	۲/۳۷^{b}	۲/۳٥^{b}	۲/٤۹^{a}	۲/٤۹^{a}	۰/۰۰۹	<۰/۰۱	۰/٥۹	۰/٤٤
محصول گاز	۳۸۹/۱۷^{b}	۳۹۳/۲^{b}	۳٥۷/۸۹^{b}	۳٥٦/۹۹^{b}	۱/٥۳۹	<۰/۰۱	۰/۳٦	۰/۱٦
تولید گاز بالقوه (میلی‌لیتر)	۲۳٥/۳^{b}	۲٤٤/٦۳^{a}	۱۹۹/۸۳^{c}	۱۹٤/٥۳^{c}	۲/۹۱٤	<۰/۰۱	۰/۰۲	<۰/۰۱
سرعت تخمیر (به ازای ساعت)	۰/۲٦^{b}	۰/۳۲^{a}	۰/۲۷^{b}	۰/۲۹^{ab}	۰/۱۰	<۰/۰۱	<۰/۰۱	۰/۱٦

تولید پروتئین میکروبی: میلی‌گرم به گرم ماده خشک، سوبسترای هضم شده واقعی (میلی‌گرم به گرم ماده خشک)، ضریب تفکیک: میلی‌گرم ماده آلی تجزیه‌شده به میلی‌لیتر گاز تولیدشده بعد از ۲٤ ساعت انکوباسیون)، محصول گاز در ۲٤ ساعت انکوباسیون (میلی‌لیتر گاز به گرم سوبسترای تجزیه‌شده واقعی)، حروف لاتین غیرمشابه در هر سطر نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است.

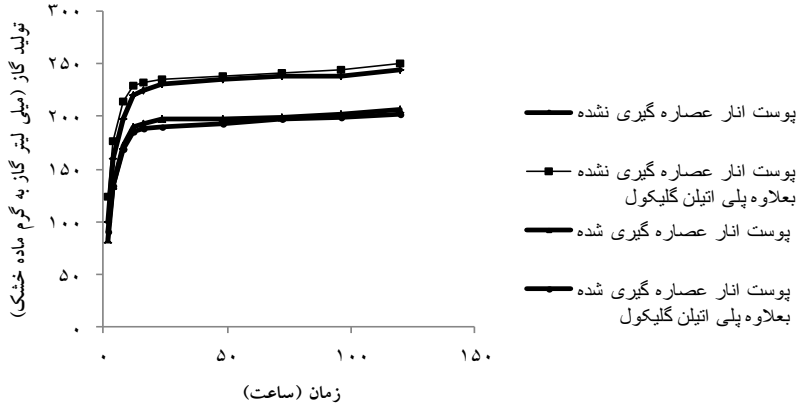
این افزایش شاید به‌این دلیل باشد که زمانی‌که جمعیّت پروتوزوآ در شکمبه زیاد می‌شود و به‌دنبال آن افزایش تجزیه باکتریایی اتفاق می‌افتد، مقدار نیتروژن آمونیاکی در شکمبه نیز بیشتر می‌شود (ویلیام و کلمن، ۱۹۹۱). مشابه با مطالعه حاضر، علی‌پور و روزبهان (۲۰۰۷) نشان دادند که استفاده از پلی‌اتیلن‌گلیکول همراه با تفاله انگور مقدار نیتروژن آمونیاکی تولیدی را افزایش داد. بر خلاف نتایج تحقیق حاضر، مک‌سوئینی و همکاران (۲۰۰۱) کاهش در نیتروژن آمونیاکی تولیدی در گوسفندان تغذیه شده با گیاه کالیاندرا همراه با پلی‌اتیلن‌گلیکول را در مقایسه با دام‌های تغذیه شده با گیاه کالیاندرا ذکر کردند. عصاره‌گیری مقدار نیتروژن آمونیاکی را افزایش داد که این افزایش احتمالاً در نتیجه کاهش اثر مهاری متابولیت‌های ثانویه در پوست انار عصاره‌گیری شده بر پروتئین خوراک است (مک سوئینی

و همکاران، ۲۰۰۱)؛ یا این‌که می‌تواند به‌دلیل افزایش پروتـوزوآ (جـدول ٦) باشـد (ویلیـام و کلمـن، ۱۹۹۱).

جدول ٤- حجم گاز تولیدی (میلی‌لیتر به گرم ماده خشک) در زمان‌های مختلف انکوباسیون پوست انار عصاره‌گیری نشده و عصاره‌گیری شده با و بدون پلی‌اتیلن‌گلیکول.

زمان انکوباسیون	پوست انار عصاره‌گیری نشده	پوست انار عصاره گیری نشده به‌علاوه پلی‌اتیلن گلیکول	پوست انار عصاره‌گیری شده	پوست انار عصاره‌گیری شده به علاوه پلی‌اتیلن‌گلیکول	خطای استاندارد	مقدار P		
						پوست انار	پلی‌اتیلن گلیکول	پوست انار ×پلی‌اتیلن‌گلیکول
۲	۹۹/۳۳^{b}	۱۲۳/۳٦^{a}	۸۳/۳٤^{c}	۹۰/٦۷^{bc}	۳/۵۲۸	<۰/۰۱	<۰/۰۱	۰/۰٤۵
٤	۱۵۹/۳۳^{b}	۱۷۷/۳۳^{a}	۱۳٤/٦۸^{c}	۱۳٤/۳۲^{c}	۳/۰۹	<۰/۰۱	۰/۰۲۱	۰/۰۱۸
۸	۱۹۸/۳٤^{b}	۲۱٤/۰^{a}	۱۷۲/۳^{c}	۱٦۹/۱۷^{c}	۳/۷٤۱	<۰/۰۱	۰/۱۲۵	۰/۰۳۸
۱۲	۲۲۱/۰^{a}	۲۳۰/۰^{a}	۱۹۰/۰^{b}	۱۸۵/۱۷^{b}	۳/۸۲۵	<۰/۰۱	۰/٦۰۱	۰/۱۰۸
۱٦	۲۲۵/۰^{a}	۲۳۲/۵۰^{a}	۱۹۳/۳٤^{b}	۱۸۸/۵۱^{b}	۳/۸۳٦	<۰/۰۱	۰/۷۸٤	۰/۱٦۲
۲٤	۲۳۱/۱^{b}	۲٤۱/۳۵^{a}	۱۹٤/۳۵^{c}	۱۹۰/۸۸^{c}	۲/۷٦۲	<۰/۰۱	۰/۲۵۱	۰/۰۳۷
٤۸	۲۳۵/۳^{b}	۲٤٦/۳^{a}	۱۹۷/۳^{c}	۱۹۲/۵۳^{c}	۳/۱۱۲	<۰/۰۱	۰/۳۲۷	۰/۰۳۷
۷۲	۲۳۷/۷۱^{b}	۲٤۹/۳۷^{a}	۲۰۰/۷۲^{c}	۱۹۷/۲۱^{c}	۳/۰۲	<۰/۰۱	۰/۲۱٤	۰/۰۳٦
۹٦	۲۳۹/۵^{b}	۲۵۲/۵^{a}	۲۰٤/۵^{c}	۱۹۹/۸۹^{c}	۲/۸٦۱	<۰/۰۱	۰/۱٦۱	۰/۰۱۷
۱۲۰	۲٤٤/۳۹^{b}	۲۵۸/۷۲^{a}	۲۰۸/۷۲^{c}	۲۰۱/۸۹^{c}	۳/۹۰٤	<۰/۰۱	۰/۳٦۵	۰/۰۲۷

حروف لاتین غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است.



شکل ۱- میزان **تولید گاز (میلی‌لیتر گاز به گرم ماده خشک) تخمیر آزمایشگاهی تیمارهای آزمایشی.**

جدول ۵- تولید اسیدهای چرب فرار (میلی‌مول به گرم ماده آلی هضم شده) و نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم به دسی‌لیتر) پوست انار عصاره‌گیری نشده و عصاره‌گیری شده با و بدون پلی‌اتیلن‌گلیکول.

	پوست انار عصاره‌گیری نشده	پوست انار عصاره‌گیری نشده به‌علاوه پلی‌اتیلن‌گلیکول	پوست انار عصاره‌گیری شده	پوست انار عصاره‌گیری شده به‌علاوه پلی‌اتیلن‌گلیکول	خطای استاندارد	مقدار P		
						پوست انار	پلی‌اتیلن‌گلیکول	پوست انار ×پلی‌اتیلن‌گلیکول
اسیدهای چرب فرار کل	۸۳/۴۳[b]	۹۴/۱۶[a]	۶۴/۸[c]	۶۲/۷۵[c]	۱/۹۰۲	<۰/۰۱	۰/۰۴	۰/۰۱
استات	۵۶/۱۰[b]	۶۲/۵۶[a]	۴۴/۹۵[c]	۴۴/۰[c]	۱/۶۵۶	<۰/۰۱	۰/۲۰	۰/۰۸
پروپیونات	۱۶/۳۶[a]	۱۸/۱۳[a]	۱۱/۶۷[b]	۱۱/۳۲[b]	۰/۷۰۸	۰/۰۳	۰/۳۵	۰/۱۷
بوتیرات	۶/۶۲[a]	۷/۱۴[a]	۴/۴۹[b]	۴/۵۲[b]	۰/۲۶۲	<۰/۰۱	۰/۳۳	۰/۳۸
ایزوبوتیرات	۲/۲۹[a]	۲/۳۱[a]	۱/۶۹[b]	۱/۶۳[b]	۰/۲۰	۰/۰۱	۰/۹۲	۰/۸۶
والرات	۰/۲۸	۰/۲۶	۰/۲۶	۰/۲۷	۰/۰۳۸	۰/۸۵	۰/۹۵	۰/۷۷
ایزووالرات	۰/۸۸	۰/۹۲	۱/۱۰	۱/۴۰	۰/۱۶۹	۰/۵۰	۰/۸۲	۰/۹۷
استات/ پروپیونات	۳/۳۷	۳/۴۵	۳/۵۳	۳/۹۱	۰/۲۳۷	۰/۲۳	۰/۳۵	۰/۶۰
نیتروژن آمونیاکی	۹۷/۴۹[d]	۱۰۹/۵۳[a]	۱۰۲/۷۳[c]	۱۰۵/۶۰[b]	۰/۴۸۱	۰/۹۸	<۰/۰۱	<۰/۰۱

حروف لاتین غیرمشابه در هر سطر نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است.

جمعیت پروتوزوآ: استفاده از پلی‌اتیلن‌گلیکول و عصاره‌گیری مقدار کل پروتوزوآ (P<۰/۰۱)، (P<۰/۰۱) و زیر خانواده انتودینیوم (P<۰/۰۱)، (P<۰/۰۱) را افزایش داد. افزایش در نتیجه کاهش تأثیر متابولیت‌های ثانویه بر پروتوزوآ در حضور پلی‌اتیلن‌گلیکول هست (مک‌سوئینی و همکاران، ۲۰۰۱). کاهش پروتوزوآ به‌وسیله متابولیت‌های ثانویه احتمالاً به‌دلیل ساختار فنولیکی این متابولیت‌ها است. این ساختار منجربه پاره شدن غشاء سلول، غیرفعال شدن آنزیم‌ها و کاهش سوبسترا و یون‌های فلزی موردنیاز برای متابولیسم سلولی می‌گردد (کالسامیگلیا و همکاران، ۲۰۰۷؛ گوئل و همکاران، ۲۰۰۵). مشابه با نتایج ما، ابرقوئی و همکاران (۲۰۱۰) نیز افزایش در تعداد پروتوزوآ را با استفاده از پلی‌اتیلن‌گلیکول به‌همراه تفاله انگور ذکر کردند. اضافه کردن پلی‌اتیلن‌گلیکول تعداد زیر خانواده دیپلودینینه (P<۰/۰۱) را افزایش داد ولی تأثیری بر جنس ایزوتریچا، داسی‌تریچا و زیر خانواده افریوسکالسینه نداشت. به هر حال نتیجه قانع‌کننده‌ای از مطالعات در مورد اثر متابولیت‌های ثانویه بر جمعیّت پروتوزوآ در شکمبه به‌دست نمی‌آید (اسلیوینیسکی و همکاران، ۲۰۰۲؛ چیکوته و همکاران، ۱۹۸۹)، که احتمالاً به‌دلیل تنوع در شکل جیره، مقدار متابولیت‌ها، گونه، ساختار شیمیایی متابولیت‌ها،

تفاوت‌های حیوانی و روش‌های نمونه‌گیری هست (یانزرویز و همکاران، ۲۰۰٤). همچنین در تحقیق حاضر، تأثیر اضافه کردن پلی‌اتیلن‌گلیکول بر جمعیت پروتوزوآ بین تیمارهای عصاره‌گیری شده و عصاره‌گیری نشده نیز متفاوت بود. این تفاوت شاید به‌دلیل تأثیر منفی ساپونین موجود در پوست انار بر پروتوزوآ باشد (والاس و همکاران، ۱۹۹٤).

کمترین ارتباط بین تولید گاز و پروتوزوآ مربوط به زیرخانواده انتودینینه و جنس ایزوترچا بود و بیشترین ارتباط را زیر خانواده افریوسکالسینه و دیپلودینینه داشت (جدول ۷). مشابه با پژوهش حاضر در تحقیقی دیگر نشان داده شد که پروتوزوآی زیرخانواده افریوسکالسینه و دیپلودینینه بیشترین ارتباط را با تولید گاز در آهو دارند (بویسی و دهوریتی، ۲۰۱۱). بیشترین تأثیر پروتوزوآ بر گوارش‌پذیری به‌ترتیب مربوط به زیخانواده افریوسکالسینه و دیپلودینینه و جنس ایزوترچا بود. به هرحال در تحقیقی دیگر جوانی و همکاران (۱۹۸۱) گزارش کردند که جنس پلی‌پلاسترون بیشترین تأثیر را بر هضم و جنس ایزوترچا تأثیر منفی داشت.

جدول ٦- اثر پوست انار عصاره‌گیری نشده و عصاره‌گیری شده با و بدون پلی‌اتیلن‌گلیکول بر جمعیت پروتوزوآی شکمبه (log_{10}/g digesta).

پروتوزوآ	پوست انار عصاره-گیری نشده	پوست انار عصاره‌گیری نشده به‌علاوه پلی‌اتیلن‌گلیکول	پوست انار عصاره‌گیری شده	پوست انار عصاره گیری شده به‌علاوه پلی‌اتیلن‌گلیکول	خطای استاندارد	مقدار P		
						پوست انار	پلی‌اتیلن گلیکول	پوست انار ×پلی‌اتیلن‌گلیکول
کل	۵/۷۵^{c}	۵/۹٤^{a}	۵/۸٤^{b}	۵/۹۰^{ab}	۰/۰۲	<۰/۰۱	<۰/۰۱	۰/۰۲
ایزوتریچا	۰/۰	۱/۵۷	۰/۰	۳/۱۳	۱/۱۰۷	۰/۵۰	۰/۰۷	۰/۵۰
داسی‌تریچا	۱/۵۷	٤/۹۰	۳/۱۳	۱/٦۷	۱/۳۸۷	۰/۵٦	۰/۵۲	۰/۱۲
انتودینیوم	۵/۷۳^{c}	۵/۸۱^{a}	۵/۸۲^{b}	۵/۸٤^{ab}	۰/۰۰۸	<۰/۰۱	<۰/۰۱	<۰/۰۱
دیپلودینینه	۰/۰^{b}	٤/۸٦^{a}	۰/۰^{b}	۳/۱۳^{a}	۰/۷۸۷	۰/۳۰۵	<۰/۰۱	۰/۳۰۵
افریوسکالسینه	۱/۵۷	۱/۵۷	۰/۰	۰/۰	۱/۱۰۷	۰/۱۹۵	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰

حروف لاتین غیرمشابه در هر سطر نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است.

جدول ۷- ارتباط بین پروتوزوآ (X) و فراسنجه‌های تولید گاز (Y).

	کل	ایزوتریچا	داسی‌تریچا	انتودینینه	دیپلودینینه	افریوسکالسینه
تولید گاز	Y=۳۳٤/۲۲-۲۰/٤٥X r=-۰/۰۷ ,R²=۰/۰۰٥	Y=۲۱٦/٦۸-۱/۹٥X r=-۰/۱۸ ,R²=۰/۰۳۲	Y=۲۰۷/۳۰+۲/٥۲X r=۰/۲۷ ,R²=۰/۰۷۳	Y=۱۸۲٤/۱٥-۲۷۷/٤٥X r=-۰/٥۸ ,R²=۰/۰٤٦	Y=۲۰۹/۰۹-۲/٦٥X r=۰/۲۸ ,R²=۰/۰۸۰	Y=۲۱۰/۲۰+٥/٥٥X r=۰/٤۲ ,R²=۰/۱۷۹
گوارش‌پذیری ماده آلی	Y=۷۱/۲۸-۲/۸۹X r=-۰/۰٥ ,R²=۰/۰۰۳	Y=٥٥/۲۹-۰/۳۲X r=-۰/۱٦ ,R²=۰/۰۲۸	Y=٥۳/٥۷+۰/٤۸ r=-۰/۰٥ ,R²=۰/۰۸٦	Y=۳۲۷/۸۲-٤۷/۰۳٥۲ r=-۰/٥۷ ,R²=۰/۳۲۰	Y=٥۳/۹۹-۰/٤٦X r=۰/۲۸ ,R²=۰/۰۸۰	Y=٥٤/۱۸+۰/۹٤X r=۰/٤۲ ,R²=۰/۱۷۹
انرژی قابل متابولیسم	Y=۱۱/۰۳-۰/٤٦X r=-۰/۰٦ ,R²=۰/۰۰۳	Y=۸/۳۸-۰/۰٥X r=-۰/۱۸ ,R²=۰/۰۳۳	Y=۸/۱۱+۰/۰۷X r=-۰/۰٥ ,R²=۰/۰۸٦	Y=٥۱/٤۳-۷/٤۳X r=-۰/٥۷ ,R²=۰/۳۳۱	Y=۸/۱۷+۰/۰۷X r=۰/۲۸ ,R²=۰/۰۸۰	Y=۸/۲۰+۰/۱٥X r=۰/٤۲ ,R²=۰/۱۷۹
تولید پروتئین میکروبی	Y=۳۱-/۲۸-۱۳/۳۷X r=۰/۱۲ ,R²=۰/۰۱۲	Y=٤٦/۲۹-۰/٦۳X r=۰/۱٤ ,R²=۰/۰۲۰	Y=٤۹/۷۲-۰/۹٥X r=۰/۱۱ ,R²=۰/۰٦۲	Y=-٦۲۳/٥٥+۱۱٥/٥۸X r=۰/٥۹ ,R²=۰/۳٥٤	Y=٤۸/۷٦-۰/۸٦X r=-۰/۲۲ ,R²=۰/۰٥۱	Y=٤۸/۸۰-۲/۲٦X r=-۰/٤۳ ,R²=۰/۱۹۰
سوبسترای هضم شده واقعی	Y=٦٥۷/۲۸-۱٤/٦۷X r=-۰/۰۳ ,R²=۰/۰۰۱	Y=٥۷٤/۸۷-۳/۰٤X r=-۰/۱۸ ,R²=۰/۰۳٤	Y=٥٥۹/٦۹+٤/۱۲X r=۰/۲۹ ,R²=۰/۰۸٦	Y=۲۸٦۲/٤۷-۳۹٤/۸۹X r=-۰/۰۷ ,R²=۰/۳۰٤	Y=٥٦۲/٥۸+٤/۳۷X r=۰/۳۱ ,R²=۰/۰۹٥	Y=٥٦٤/۹۷+۸/۰۸٥٥ r=۰/٤۲ ,R²=۰/۱۷۸
ضریب تفکیک	Y=۱/۸۰+۰/۱۱X r=۰/۱۲ ,R²=۰/۰۱٦	Y=۲/٤۲-۰/۰۰٥X r=۰/۱٦ ,R²=۰/۰۲٦	Y=۲/٤٥-۰/۰۰۷X r=-۰/۲٦ ,R²=۰/۰٦۸	Y=-۲/٥٤+۰/۸٥ r=۰/٦۱ ,R²=۰/۳۷٦	Y=۲/٤٤-۰/۰۰٦X r=-۰/۲۲ ,R²=۰/۰٥۱	Y=۲/٤٤-۰/۰۱X r=-۰/٤۱ ,R²=۰/۱٦۹
محصول گاز	Y=٥۳۲/۷۲-۲۷/۰٤X r=-۰/۱۲ ,R²=۰/۰۱٤	Y=۳۷٦/۰۷-۱/٥٤X r=-۰/۱۸ ,R²=۰/۰۳٤	Y=۳٦۹/۲٥+۱/۷۸X r=۰/۲٥ ,R²=۰/۰٦۳	Y=۱۷۰۰/٥٥-۲۲۸/٥۹X r=-۰/٦۳ ,R²=۰/۳۹۷	Y=۳۷۰/۹۱+۱/٦۸X r=۰/۲۳ ,R²=۰/۰٥٥	Y=۳۷۰/۹۷+٤/۲۲X r=۰/٤۳ ,R²=۰/۱۸۹
تولید گاز بالقوه	Y=۳٤٤/۰۰-۲۱/٤۲X r=-۰/۰۷ ,R²=۰/۰۰٦	Y=۲۲۱/۰٤-۲/۱٦X r=-۰/۲۰ ,R²=۰/۰٤۱	Y=۲۱۱/٦۳+۲/٤٤X r=۰/۲۷ ,R²=۰/۰۷۲	Y=۱۷۹۰/٥۸-۲۷۰/۹٥X r=-۰/٥۸ ,R²=۰/۳٤۱	Y=۲۱۳/٦٤+۲/٤۳X r=۰/۲٦ ,R²=۰/۰۷۱	Y=۲۱٤/۲۲+٥/٤۷X r=۰/٤٤ ,R²=۰/۱۹٥
سرعت تخمیر	Y=-۱/۱۰+۰/۲٤X r=۰/۷۱ ,R²=۰/٥۰۳	Y=۰/۲۸+۰/۰۰٦X r=۰/٥۱ ,R²=۰/۲٦۳	Y=۰/۲۷+۰/۰۰٥X r=۰/٤٤ ,R²=۰/۱۹۸	Y=-۰/۸۹+۰/۲۰X r=۰/۳۷ ,R²=۰/۱۳۸	Y=۰/۲۷+۰/۰۰۷X r=۰/٦۹ ,R²=۰/٤۸۰	Y=۰/۲۸+۰/۰۰٤X r=۰/۲٥ ,R²=۰/۰٦۳

R^2: ضریب تبیین، r: ضریب همبستگی

نتیجه‌گیری کلی

اگرچه اضافه کردن پلی‌اتیلن گلیکول تأثیر مثبتی بر گوارش‌پذیری داشت ولی به‌دلیل قیمت زیاد آن در شرایط ایران توصیه نمی‌گردد. عصاره‌گیری تا حدودی مقدار متابولیت‌های ثانویه پوست انار را کم کرد، ولی با توجه به کاهش مقدار گوارش‌پذیری به‌عنوان روشی مناسب جهت کاهش تأثیر منفی متابولیت‌های ثانویه موجود در پوست انار توصیه نمی‌گردد. با توجه به نتایج به‌دست آمده در این تحقیق می‌توان نتیجه‌گیری کرد که تانن پوست انار اثر بیولوژیکی چندانی نداشته است. بهتر است که سطوح کمتر پوست انار به‌عنوان جایگزین بخشی از علوفه نیز مورد بررسی قرار گیرد. با توجه به ترکیب شیمیایی، مقدار گوارش‌پذیری پوست انار عصاره‌گیری نشده و عصاره‌گیری شده، انجام مطالعات بر روی دام برای بررسی بیشتر تأثیر این محصول فرعی بر بازده کاربرد انرژی و پروتئین در نشخوارکنندگان پیشنهاد می‌شود.

منابع

Abarghuei, M.J., Rouzbehan, Y., Salem, A.Z.M., and Zamiri, M.J. 2013. Nutrient digestion, ruminal fermentation and performance of dairy cows fed pomegranate peel extract. Livest. Sci., 157: 452–461.

Abarghuei, M.J., Rouzbehan, Y., and Alipour, D. 2010. The influence of the grape pomace on the ruminal parameters of sheep. Livest. Sci., 132:73–79.

Abdulrazak, A., Fujihara, T., Ondiek, J.K., and Ørskov, E.R. 2000. Value evaluation of nutritive evaluation of some acacia tree leaves from Kenya. Anim. Feed Sci. Technol., 85: 89–98.

Adams, L.S., Seeram, N.P., Aggarwal, B.B., Takada, Y., Sand, D., and Heber, D. 2006. Pomegranate juice, total pomegranate ellagitannins, and punicalagin suppress inflammatory cell signaling in colon cancer cells. J. Agric. Food Chem., 54: 980–985.

Alam, M.R., Kabir, A., Amin, K.M.A., and McNeill, M.R. 2005. The effect of calcium hydroxide treatment on the nutritive and feeding value of *Albizia procera* for growing goats. Anim. Feed Sci. Technol., 122:135–148.

Alipour, D., and Rouzbehan, Y. 2007. Effects of ensiling grape pomace and addition of polyethylene glycol on *in vitro* gas production and microbial biomass yield. Anim. Feed Sci. Technol., 137: 138-149.

Anelea, U.Y., Arigbedea, O.M., Südekumb, K.H., Onic, A.O., Jolaoshoa, A.O., Olanitea, J.A., Adeosuna, A.I., Delea, P.A., Ikea, K.A., and Akinola, O.B. 2009. Seasonal chemical composition, *in vitro* fermentation and *in sacco* dry matter degradation of four indigenous multipurpose tree species in Nigeria. Anim. Feed Sci. Technol., 154: 47–57.

AOAC. 1990. Official Methods of Analysis, 15th edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.

AOAC. 1995. Official methods of analysis. 15th edition. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C.

Baumgärtel, T., Kluth, H., Epperlein, K., and Rodehutscord, M. 2007. A note on digestibility and energy value for sheep of different grape pomace. Small Rumin. Res., 67: 302–306.

Ben Nasr, C., Ayed, N., and Metche, M. 1996. Quantitative determination of the polyphenolic content of pomegranate peel. Zeitscrift fur lebensmittel Untershung und Forshung, 203: 374-378.

Booyse, D.G., and Dehority, B.A. 2011. Protozoa and digestve tract parameters of the impala. Onderstepoort J. Vet. Res., 78:1-5.

Broderick, G., and Kang, J.H. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. J. Dairy Sci., 63:64.

Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P.W., Castillejos, L., and Ferret, A. 2007. Invited review: essential oils asmodifiers of rumenmicrobial fermentation. J. Dairy Sci., 90:2580–2595.

Chiquette, J., Cheng, K.J., Rode, L.M., and Milligan, L.P. 1989. Effect of tannin content in two isosynthetic strains of birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.) on feed digestibility and rumen fluid composition in sheep. Can. J. Anim. Sci., 69: 1031-1039.

Dehority, B.A. 2003. Rumen Microbiology. Nottingham University Press, Nottingham, UK.

Edriss, A.E., Alabjar, Z.A., and Satti, A.A. 2012. Phytochemical screening of important secondary metabolites in some extracts of two Sudanese plants. Glo. Adv. Res. J. Environ. Sci. Toxicol., 1(8): 199-202.

Ebrahimpour, M., Haghparvar, R., Khazaei, S.R., Sasani, M.R., and Khosravani, F. 2012. Effect of urea and molasses on nutritive value and chemical composition pulp seeds and sheels pomegranate silage. Fifth Iranian Con Anim. Sci.

Elfalleh, W., Hannachi, H., Tlili, N., Yahia, Y., and Ferchichi, A. 2012. Total phenolic contents and antioxidant activities of pomegranate peel, seed, leaf and flower. J. Medicinal Plants Res., 6: 4724-4730.

Fawole, O.A., Makunga, N.P., and Linus Opara, U. 2012. Antibacterial, antioxidant and tyrosinase-inhibition activities of pomegranate fruit peel methanolic extract. BMC Com. Alternative Medicin., 12: 2-11.

France, J., Dijkstra, J., Dhanoa, M.S., Lopez, S., and Bannink, M. 2000. Estimating the extent of degradation of ruminant feeds from a description of their gas production profile observed *in vitro*: derivation of models and other mathematical considerations. Br. J. Nutr., 83: 143–150.

Getachew, G. Makkar, H.P.S., and Becker, K. 2001. Method of polyethylene glycol application to tannin-containing browses to improve microbial fermentation and efficiency of microbial protein synthesis from tannin-containing browses. Anim. Feed Sci. Technol., 92: 51–57.

Getachew, G., Makkar, H.P.S., and Becker, K. 2000. Effect of polyethylene glycol on *in vitro* degradability of nitrogen and microbial protein synthesis from tannin-rich browse and herbaceous legumes. Br. J. Nutr., 84: 73–83.

Getachew, G., Pittroff, W., Putnama, D.H., Dandekar, A., Goyal, S., and DePeters, E.J. 2008. The influence of addition of gallic acid, tannic acid, or quebracho tannins to alfalfa hay on *in vitro* rumen fermentation and microbial protein synthesis. Anim. Feed Sci. Technol., 140: 444–461.

Goel, G., Puniya, A.K., Aguliar, C.N., and Singh, K. 2005. Interaction of gut microflora with tannins in feeds. Naturwissenschaften, 92: 497–503.

Jiménez-Peralta, F.S., Salem, A.Z.M., Mejia-Hernández, P., González-Ronquillo, M., lbarrán-Portillo, B., Rojo-Rubio, R., and Tinoco-Jaramillo, J.L. 2011. Influence of individual and mixed extracts of two tree species on *in vitro* gas production kinetics of a high concentrate diet fed to growing lambs. Livest. Sci., 136: 192–200.

Jouany, J.P., Zainab, B., Senaud, J., Groliere, C.A., Grain, J., and Thivend, P. 1981. Rôle of the rumen ciliate protozoa Polyplastron multivesiculatum, Entodinium sp. and Isotricha prostoma in the digestion of a mixed diet in sheep. Rep. Nutr. Develop. 21: 871-884.

Huber, T.T. 1980. Upgrading Residues and By-products for Animals. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 14–15.

Kamalak, A., Canbolat, O., Ozay, O., and Aktas, S. 2004. Nutritive value of oak (*Quercus* spp.) leaves. Small Rumin. Res., 53:161–165.

Makkar, H.P.S. 2000. Quantification of Tannins in Tree Foliage. A Laboratory Manual for the FAO/IAEA Co-ordinated Research Project on Use of Nuclear and Related techniques to Develop Simple Tannin Assays for Predicting and Improving the safety and Efficiency of Feeding Ruminants on Tanniniferous Tree Foliage. Joint FAO/IAEA of Nuclear Techniques in Food and Agriculture.Animal Production and Health Sub-programme, FAO/IAEA Working Document. IAEA, Vienna, Austria.

Makkar, H.P.S. 2003. Effects and fate tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. Small Rum. Res., 49: 241–256.

Makkar, H.P.S. 2010. *In vitro* screening of feed resources for efficiency of microbial protein synthesis. In: Vercoe, P.E., Makkar, H.P.S., Schlink, A.C. (Eds.), *In vitro* Screening of Plant Resources for Extra-nutritional Attributes in Ruminants: Nuclear and Related Methodologies. IAEA, Dordrecht, the Netherlands, pp: 107–144.

Makkar, H.P.S. 2005. *In vitro* gas methods for evaluation of feeds containing phytochemicals. Anim. Feed Sci. Technol., 123/124: 291–302.

Makkar, H.P.S., and Singh, B. 1993. Effect of storage and urea addition on detannification and in sacco dry matter digestibility of mature oak (*Quercus incana*) leaves. Anim. Feed Sci. Technol., 41: 247-259.

McSweeney, C.S., Palmer, B., Bunch, R., and Krause, D.O. 2001. Microbial interaction with tannins: nutritional consequences for ruminants. Anim. Feed Sci. Technol., 91: 83-93.

Menke, K.H., and Steingass, H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Anim. Res. Develop., 28:7–55.

Menke, K.H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D., and Schneider, W. 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*. J. Agric. Sci., 92: 217–222.

Min, B.R., Attwood, G.T., Reilly, K., Sun, W., Peters, J.S., Barry, T.N., and McNabb, W.C. 2002. *Lotus corniculatus* condensed tannins decrease in vivo populations of proteolytic bacteria and affect nitrogen metabolism in the rumen of sheep. Can. J. Microb., 48: 911–921.

Mirzaei-Aghsaghali, A., Maheri-Sis, N., Mansouri, H., Razeghi, M.E., Mirza-Aghazadeh, A., Cheraghi, H., and Aghajanzadeh-Golshani. A. 2011. Evaluating potential nutritive value of pomegranate processing by-products for ruminants using *in vitro g*as production technique. ARPN J. Agric. Biologic. Sci., 6: 45-51.

Modarresi, J., Fathi Nasri, M.H., Dayani, O., and Rashidi, L. 2010. The Effect of Pomegranate Seed Pulp Feeding on DMI, Performance and Blood Metabolites of Southern Khorasan Crossbred Goats, Anim. Sci. Res., 4: 123-132.

NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad.Sci., Washington, DC.

Oliveira, R.A., Narciso, C.D., Bisinotto, R.S., Perdomo, M.C., Ballou, M.A., Dreher, M., and Santos, J.E.P. 2010. Effects of feeding polyphenols from pomegranate extract on health. Growth, nutrient digestion, and immunocompetence of calves. J. Dairy Sci. 93: 4280–4291.

Priolo, A., Waghorn, G.C., Lanza, M., Biondi, L., and Pennisi, P. 2000. Polyethylene glycol as a means for reducing the impact of condensed tannins in carob pulp: Effects on lamb growth performance and meat quality. J. Anim. Sci., 78: 810–816.

Rababah, T.M., Banat, F., Rababah, A., Ereifej, K., and Yang, W. 2010. Optimization of Extraction Conditions of Total Phenolics, Antioxidant Activities, and Anthocyanin of Oregano, Thyme, Terebinth, and Pomegranate. J. Food Sci., 75: 626-632.

Robertson, J.B., and Van Soest, P.J. 1981. The detergent system of analysis. In: James, W.P.T., Theander, O. (Eds.), the Analysis of Dietary Fibre in Food, vol. 158. Marcel Dekker, New York, NY, USA, Basel, Switzerland, Pp:123 (Chapter 9).

SAS Institute. 2002. SAS User's Guide: Statistics. Ver 9.0. SAS Institute, Cary, N.C. USA. 956 pp.

Shabtay, A., Eitam, H., Tadmor, Y., Orlov, A., Meir, A., Weinberg, P., Weinberg, Z.G., Chen, Y., Brosh, A., Izhaki, I., and Kerem, Z. 2008. Nutritive and antioxidative potential of fresh and stored pomegranate industrial byproduct as a novel beef cattle feed. J. Agric. Food Chem., 56: 10063–10070.

Sliwiniski, B.J., Soliva, C.R., Machmuller, A., and Kreuzer, M. 2002. Efficacy of plant rich in secondry constituents modify rumen fermentation. Anim. Feed Sci. Technol., 101: 101-114.

Talebzadeh, R., Alipour, D., Saharkhiz, M.J., Azarfar, A., and Malecky, M. 2012. Effect of essential oils of Zataria multiflora on in vitro rumen fermentation, protozoal population, growth and enzyme activity of anaerobic fungus isolated from Mehraban sheep. Anim. Feed Sci. Technol., 172: 115-124.

Van Soest, P.J. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. Cornell University Press, Ithaca, NY, USA.

Van Soest, P.J., Robertson, J.B., and Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre and non-starch carbohydrate in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci., 74: 3583-3597.

Van Soest, P.J. 1982. Nutritional ecology of the ruminant. Cornell University Press, O and Books, Corvallis, OR, USA, pp. 253–280.

Vitti, D., M.S.S., Abdalla, A.L., Bueno, I.C.S., Silva Filhob, J.C., Costa, C., Bueno, M.S., Nozella, E.F., Longo, C., Vieira, E.Q., Cabral Filho, S.L.S., Godoy, P.B., and Mueller-Harvey, I. 2005. Do all tannins have similar nutritional effects? A comparison of three Brazilian fodder legumes. Anim. Feed Sci. Technol., 119: 345–361.

Wallace, R.J., Arthaud, L., and Newbold, C.J. 1994. Influence of *Yucca schidigera* extract on ruminal ammonia concentrations and ruminal microorganisms. Applied Environ. Microbiol., 60: 1762–1767.

Williams, A., and Coleman, G. 1991. The Rumen Protozoa. Springer-Verlag, New York.

Yanez Ruiz, D.R., Moumen, A., Martin Garcia, A.I., and Molina Alcaide, E. 2004. Ruminal fermentation and degradation patterns, protozoa population and urinary purine derivatives excretion in goats and wethers fed diets based on two-stage olive cake: Effect of PEG supply. J. Anim. Sci., 85: 2023-2032.

Yousef Elahi, M., and Rouzbehan, Y. 2008. Characterization of *Quercuc persica*, *Quercus infectoria*, *Quercus libani* as ruminant feeds. Anim. Feed Sci. Technol., 140: 78-89.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. of Ruminant Research, Vol. 2(2), 2014
http://ejrr.gau.ac.ir

Effect of non-extracted and extracted pomegranate-peel on *in vitro* gas production parameters of inoculum of Ghezel sheep

M.J. Abarghuei[1], *Y. Rouzbehan[2] and M.J. Zamiri[3]
[1]Ph.D. Graduated of animal niutrition and [2]Associate Prof., Dept. of Animal Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran, [2]Professor, Dept. of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
Received: 02/18/2014; Accepted: 05/07/2014

Abstract

The objective of this study was to determine nutritive value of water extracted pomegranate peel with or without polyethylene glycol on *in vitro* gas production kinetic and ruminal parameters such as ammonia production, VFA and protozoa population. Water extraction of secondary metabolites decreased the total phenols (P<0.01), total tannins (P<0.01), free gallic acids (P<0.01) and galotannin (P<0.01). Addition of polyethylene glycol to non-extracted pomegranate-peel increased *in vitro* gas production at 24 h of incubation (P=0.01), *in vitro* organic matter degradability (P=0.047), metabolizable energy (P=0.018), truly degraded substrate (P=0.006) and asymptotic gas production (P=0.02), but microbial protein production, partitioning factor and gas yield were not affected. Extracting increased partitioning factor at 24 h of incubation. Adding polyethylene glycol to non-extracted pomegranate-peel increased total VFA (P<0.01) and acetate (P= 0.01) concentrations. N-NH_3 production was increased with addition polyethylene glycol in non-extracted and extracted pomegranate peel (P<0.01). Inclusion of polyethylene glycol and using extracting increased population of total protozoa (P= 0.01) and subfamily of *Entodiniinae* (P<0.01), but adding polyethylene glycol increased subfamily of *Diplodiniinae* (P= 0.05). In conclusion, polyethylene glycol improved nutritive value of pomegranate-peel and extracting had negative effect on nutritive value of pomegranate-peel, but extracting has negative effect on nutritive value. However, suggests that *in vivo* studies for effect this by-product on the efficiency of protein and energy in ruminant.

Keywords: Pomegranate-peel, Gas test, *In vitro* organic matter digestibility and Polyethylene glycol.

---

* Corresponding author; rozbeh_y@modares.ac.ir