نشریه پژوهش‌های زعفران۲(۱۳۹۳) ۱۴۰-۱۲۹.

ترکیب شیمیایی، تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای و فراسنجه‌های تخمیر علوفه خشک زعفران با استفاده از روش کیسه‌های نایلونی و تولید گاز

وحید کاردان مقدم[۱]، محمد حسن فتحی نسری[۲*]، رضا ولی‌زاده[۳] و همایون فرهنگ‌فر[۴]

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند

۲- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند

۳- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۴- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند

*- نویسنده مسئول: E-mail: hfathi@birjand.ac.ir

کاردان مقدم،و.، فتحی نسری، م.ح.، ولی‌زاده، ر.، و فرهنگ فر، ه.، ۱۳۹۳.ترکیب شیمیایی، تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای و فراسنجه‌های تخمیر علوفه خشک زعفران با استفاده از روش کیسه‌های نایلونی و تولید گاز. نشریه پژوهش‌های زعفران. ۲(۲): ۱۴۰-۱۲۹.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۰۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۰/۱۵

چکیده

ترکیب شیمیایی، تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای به روش کیسه‌های نایلونی و تولید گاز آزمایشگاهی علوفه خشک زعفران با استفاده از دو رأس تلیسه هلشتاین دارای فیستولای دائمی شکمبه‌ای تعیین شد. تولید گاز و فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک در زمان‌های صفر، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت اندازه گیری شد. بررسی ترکیب شیمیایی نشان داد که علوفه خشک زعفران به ترتیب محتوی ۹۴/۸، ۶/۷، ۴۵/۹، ۳۸/۰، ۵/۲، ۴/۷ و ۴۲/۵ درصد ماده آلی، پروتئین خام، فیبر نامحلول در شوینده خنثی، فیبر نامحلول در شوینده اسیدی، خاکستر، چربی خام و کربوهیدرات-های غیرفیبری بود. نتایج آزمایش نشان داد که علوفه خشک زعفران دارای کمبود جدی سدیم، منیزیم، روی و آهن براساس نیاز نشخوارکنندگان هستند. فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک شامل بخش سریع تجزیه (a)، بخش کند تجزیه (b) و ثابت نرخ تجزیه (c) به ترتیب ۳۲ درصد، ۳۹/۲ درصد و ۰/۰۴۳ بر ساعت بودند. همچنین فراسنجه‌های تولید و نرخ تولید گاز، ماده آلی قابل هضم، انرژی قابل متابولیسم و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر نمونه آزمایشی به ترتیب برابر با ۴۹/۸ میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک، ۰/۰۹۱ میلی‌لیتر در ساعت، ۵۳/۹ درصد، ۸/۰ مگاژول در کیلوگرم ماده خشک و ۰/۸۹ میلی مول تعیین شد. مقدار کل ترکیبات فنولی، تانن کل و تانن متراکم به ترتیب برابر با ۴/۴، ۳/۲ و ۰/۳۱ درصد بود. براساس نتایج بدست آمده در این تحقیق، علوفه خشک زعفران را می‌توان به عنوان یک منبع خوراکی ارزان‌قیمت جایگزین بخشی از مواد خوراکی در جیره دام‌ها نمود.

واژه‌های کلیدی: ترکیب شیمیایی، تجزیه‌پذیری، تولید گاز، علوفه زعفران

مقدمه

در دهه‌های اخیر تحولات وسیعی در بخش کشاورزی و به ویژه دامپروری کشور به وقوع پیوسته است. توجه بیشتر به ضایعات کشاورزی، کاهش نزولات جوی و افزایش جمعیت دام، دامپروران را با مشکلات جدی به خصوص کمبود خوراک دام و افزایش شدید قیمت نهاده‌های مربوط روبرو نموده است. زعفران با نام علمی *Crocus sativus* از تیره Iridaceae می‌باشد (Kafi et al., 2001). این گیاه دارای برگ‌های بلند، باریک و سوزنی و کشیده می‌باشد که طول آن تا ۴۰ سانتی‌متر هم می‌رسد. رنگ برگ‌ها سبز تیره می‌باشد و در اواخر فروردین تا اواسط اردیبهشت خزان کرده و به رنگ زرد در می‌آید. زمان برداشت و جمع‌آوری علوفه خشک زعفران همزمان با خزان آن است و کشاورزان و دامپروران اقدام به جمع‌آوری و انبار آن می‌نمایند (Bilandi&Vadei, 2007). در کشورهایی مانند ایران و در مناطقی مانند استان خراسان جنوبی که از مناطق کم باران و با اقلیم خشک به حساب می‌آید علوفه خشک زعفران می‌تواند به عنوان یک منبع تغذیه دام در فصل‌های پاییز و زمستان مورد استفاده قرار گیرد. در این خصوص بر اساس آخرین برآوردی که صورت گرفته است هر هکتار زعفران بین ۹۰۰ تا ۲۰۰۰ کیلوگرم علوفه خشک قابل تعلیف دام تولید می‌کند که با توجه به عرصه‌های گسترده کشت این گیاه در سطح استان (۶۰ هزار هکتار)، بخش قابل ملاحظه‌ای از خوراک خشبی جیره دام‌ها را می‌تواند تشکیل دهد (Vadei et al, 2008). براساس تحقیقات انجام شده ترکیب شیمیایی و ارزش غذایی علوفه خشک زعفران بسیار متغیر بوده به طوری که ولی زاده (Valizadeh, 1988)، کاظمی و همکاران (Kazemi et al., 2007) و ودیعی و همکاران (Vadei et al, 2008) میزان پروتئین خام آنها را در محدوده ۵/۱ تا ۱۳/۹ درصد، فیبر نامحلول در شوینده خنثی را در محدوده ۳۰/۶ تا ۴۴/۲ درصد و فیبر نامحلول در شوینده اسیدی را در محدوده ۳۰/۳ تا ۳۴/۵ درصد (بر اساس ماده خشک) گزارش کردند. همچنین در بررسی ودیعی و همکاران (Vadei et al., 2008) بهترین سطح جایگزینی یونجه خشک با علوفه خشک زعفران در جیره گوسفندان بلوچی ۳۴ درصد بود. با این حال، اطلاعات چندانی در رابطه با ویژگی‌های تغذیه‌ای، امکان استفاده و راه‌کارهای مناسب احتمالی در استفاده بهینه از این علوفه خشک در تغذیه دام‌های نشخوارکننده وجود ندارد. از این‌رو، هدف از اجرای این طرح تعیین ارزش غذایی علوفه خشک زعفران به صورت تعیین ترکیبات شیمیایی، تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای و برآورد مقدار گاز تولیدی بود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه و منطقه مورد مطالعه

منطقه مورد مطالعه در استان خراسان جنوبی، شهرستان بیرجند، روستای کوچ در مختصات جغرافیایی ′۳۳ ˚۵۴ طول شرقی تا ′۴۳ ˚۳۲ عرض شمالی با ارتفاع ۲۰۶۵ متر از سطح دریا با میانگین بارش سالیانه ۱۸۵ میلی‌متر و دمای متوسط ۱۸ درجه سانتی‌گراد براساس دوره آماری سال‌های ۱۳۶۳ تا ۱۳۹۳ انجام شد. بدین منظور، علوفه خشک زعفران در اوایل اردیبشت ماه برداشت و به آزمایشگاه تغذیه دام دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند منتقل شد.

تجزیه شیمیایی

در این پژوهش، علوفه خشک زعفران پس از خشک شدن در آون به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد با استفاده از آسیاب دارای الک یک میلی‌متری خرد و سپس محتوی ماده خشک، پروتئین خام (روش کجلدال[1])، چربی خام (روش سوکسله[2]) و خاکستر نمونه (سه تکرار) مطابق با توصیه‌های AOAC (2000) تعیین شد. محتوی فیبر نامحلول در شوینده‌های خنثی و اسیدی نمونه‌ها با استفاده از روش ون سوست و همکاران (Van Soest et al., 1991) و دستگاه آنکوم (ساخت ایران، به شماره ثبت اختراع ۴۱۲۲۰) تعیین و محتوی کربوهیدرات‌های غیرفیبری براساس رابطه NRC (2001) برآورد گردید. عناصر سدیم و پتاسیم با استفاده از دستگاه فلیم‌فتومتر (مدل CORNIG-400, Germany) و سایر مواد معدنی با دستگاه جذب اتمی (مدل AA-3600, Japan) اندازه‌گیری شدند. اندازه‌گیری کل ترکیبات فنولی به روش ماکار و سینگ (Makkar& Singh,

1- Kjeltic 2100 Distillation Unit, Foss tecator, Sweden
2- Soxtec System 2050, Extraction Unit, Tecator Sweden

1993) صورت پذیرفت.
برای تعیین کل ترکیبات فنولی از معرف فولین- شیکالتو[1]- استفاده شد (Makkar et al., 1993). با کسر ترکیبات فنولی غیرتاننی از کل ترکیبات فنولی، میزان کل تانن بدست آمد. تانن متراکم با استفاده از روش بوتانول- اسیدکلریدریک اندازه‌گیری گردید (Makkar, 2000) و نتایج به صورت معادل لکوسیانیدین‌ها[2] ارایه شد.

تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای

تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای با انکوباسیون نمونه‌های خشک شده چهار گرمی با اندازه ذرات دو میلی‌متر در کیسه‌های نایلونی (۳ کیسه به ازای هر نمونه در هر زمان انکوباسیون) از جنس ابریشم مصنوی به ابعاد ۱۶×۹ سانتی‌متر (Van Hatalo et al., 1995) و قطر منافذ ۵۰ میکرون در شکمبه دو رأس تلیسه هلشتاین دارای فیستولای دائمی شکمبه‌ای و در زمان‌های صفر، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از خوراک‌دهی وعده صبح (ساعت هشت صبح) تعیین شد. همچنین برای زمان‌های دو و چهار ساعت، کیسه‌ها به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه در آب ۳۷ درجه سانتی‌گراد غوطه ور شدند. برای هر تیمار در هر زمان انکوباسیون در هر دام سه کیسه در نظر گرفته شد. حیوانات در طول انجام آزمایش بصورت انفراد نگهداری و با جیره کاملاً مخلوط حاوی ۷۰ درصد علوفه (یونجه خشک) و ۳۰ درصد کنسانتره (محتوی دانه جو ۳۵ درصد، دانه ذرت ۱۸درصد، کنجاله سویا ۱۰ درصد، کنجاله کلزا ۱۵ درصد، سبوس گندم ۱۱/۵ درصد، ملاس هفت درصد، مکمل ویتامینی- معدنی یک درصد، پودر صدف دو درصد و نمک ۰/۵ درصد) در دو نوبت صبح و عصر تغذیه شدند. پس از انکوباسیون شکمبه‌ای جهت توقف فعالیت میکروبی (همچنین نمونه‌های زمان صفر) کیسه‌ها بلافاصله با آب سرد شستشو دستی گردیدند و این عمل تا خروج آب شفاف و زلال ادامه یافت. کیسه‌های شسته شده حاوی نمونه به مدت ۴۸ ساعت در آون در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد کاملاً خشک و سپس توزین شد. برای تعیین اتلاف ماده خشک در اثر شسته شدن از کیسه (زمان صفر)، کیسه‌ها در شکمبه قرار داده نشدند و تنها با آب سرد شستشو شدند. فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری (بخش سریع تجزیه، بخش کند تجزیه و ثابت نرخ تجزیه پذیری) با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 (2000) برآورد شدند. فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای با استفاده از معادله (۱) که توسط ارسکوف و مکدونالد (Orskov&Mcdonald, 1979) برازش گردید، محاسبه گردید.

معادله (۱) $p=a+b(1-e^{-ct})$

در این معادله، p، میزان تجزیه‌پذیری در زمان t، a، بخش سریع تجزیه، b، بخش کند تجزیه، c، ثابت نرخ تجزیه، t، زمان انکوباسیون و e عدد نپرین (۲/۷۱۸) است. تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای مؤثر ماده خشک با استفاده از معادله (۲) و با در نظر گرفتن سرعت عبور ۰/۰۲، ۰/۰۴ و ۰/۰۶ بر ساعت محاسبه گردید.

معادله (۲) $ED= a+\{(b\times c)/(c+k)\}$

که در این معادله، ED تجزیه‌پذیری مؤثر، a بخش سریع تجزیه، b بخش کند تجزیه، c ثابت نرخ تجزیه و k سرعت عبور مواد از شکمبه می‌باشد.

تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی

تعیین میزان گاز تولیدی از تخمیر نمونه‌ها مطابق روش منکه و استیگناس (Menke&Steingass, 1988) انجام شد. برای این منظور شیرابه شکمبه از د رأس تلیسه هلشتاین دارای فیستوله شکمبه‌ای گرفته شد. نمونه خوراکی با استفاده از الک یک میلی‌متری، آسیاب شد. مقدار ۳۰۰ میلی‌گرم ماده خشک نمونه (سه تکرار) در داخل هر سرنگ ریخته شد و به این سرنگ‌ها ۳۰ میلی‌متر محلول مایع شکمبه صاف شده حاوی بافر اضافه گردید و در دمای ۱±۳۹ درجه سانتی گراد انکوباسیون شدند. برای هر سه تکرار یک عدد سرنگ بلنک قرار داده شد و براساس آنها گاز تولیدی سرنگ‌های اصلی حاوی نمونه خوراکی تصحیح گردید. میزان گاز تولیدی در زمان‌های ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت اندازه گیری و شکل‌ها با استفاده از نرم افزار Excel رسم شد.
حجم گاز تولیدی براساس وزن نمونه خوراک در هر زمان با استفاده از معادله (۳) تصحیح گردید (Menke&Steingass, 1988).

1-Folin ciocalteu
2- Leucocyanidin

معادله (۳) $V=(200*(vt-vb))/W$

در این معادله، V، حجم گاز تصحیح شده میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک نمونه خوراک، vt، حجم گاز تولیدی در سرنگ‌های حاوی نمونه خوراک (میلی لیتر)، vb، حجم گاز تولیدی در سرنگ‌های بلنک فاقد نمونه خوراک (میلی لیتر)، W، وزن ماده خشک نمونه خوراک (میلی گرم) می‌باشد. داده‌های بدست آمده از تولید گاز با استفاده از معادله (۴) برازش داده شدند (Orskov&Mcdonald, 1979).

معادله (۴) $P=b\ (1-e^{-ct})$

در معادله مذکور، P حجم گاز تولیدی در زمان t، b مقدار تولید گاز (میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)، c ثابت نرخ تولید گاز و t زمان انکوباسیون با استفاده از نرم افزار آماری SAS 9.1 (2000) محاسبه شدند. قابلیت هضم ماده آلی (OMD)[1]، انرژی قابل متابولیسم (ME)[2] و میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (SCFA)[3] تیمارهای مختلف با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه شد (Menke&Steingass, 1988).

معادله (۵) $OMD\ (\%)=14.88 + 0.889 \times GP + 0.45 \times CP + 0.0651 \times XA$

معادله (۶) $ME\ (MJ.kg^{-1}\ DM) = 2.20 + 0.136 \times GP + 0.057 \times CP + 0.0029 \times CP^2$

معادله (۷) $SCFA(mmol)= -0.00425 + 0.0222\ GP$

در این معادلات، GP: تولید گاز (میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه خوراک) پس از ۲۴ ساعت، CP: مقدار پروتئین خام (درصد ماده خشک) و XA: مقدار خاکستر خام (درصد ماده خشک) می‌باشد.

نتایج و بحث

میانگین ترکیب شیمیایی و عناصر معدنی علوفه خشک زعفران در جدول ۱ نشان داده شده است. میزان پروتئین و چربی خام علوفه خشک زعفران مورد استفاده در تحقیق (۶/۷ و ۴/۷ درصد) با برخی گزارشات مطابقت دارد (Valizadeh, 1988; Vadei et al., 2008). فیبر نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی مورد آزمایش (۴۵/۹ و ۳۸/۰ درصد) بیشتر از نتایج گزارش دیگر به ترتیب ۳۰/۶۶ و ۳۰/۳۳ بود (Kazemi et al., 2007). این تفاوت می‌تواند متأثر از شرایط محیطی و مرحله برداشت باشد. میزان پروتئین خام یونجه خشک (NRC, 2001) و یولاف خشک به ترتیب ۱۹/۲ و ۹/۱ درصد گزارش شده است که نسبت به علوفه خشک زعفران بالاتر می‌باشد. همچنین میزان فیبر نامحلول در شوینده خنثی یونجه خشک و یولاف خشک (NRC, 1978) به ترتیب ۴۱/۶ و ۵۸/۰ درصد ماده خشک و فیبر نامحلول در شوینده اسیدی به ترتیب برای یونجه خشک و یولاف خشک ۳۲/۸ و ۳۶/۴ درصد ماده خشک گزارش شده است. درصد فیبر نامحلول در شوینده خنثی علوفه خشک زعفران نسبت به یونجه بالاتر، اما در مقایسه با با یولاف پایین تر است، اما درصد فیبر نامحلول در شوینده اسیدی علوفه خشک زعفران نسبت به یونجه و یولاف بالاتر می‌باشد. علوفه خشک زعفران به عنوان علوفه‌ای زمستانی محسوب می‌شود و بدلیل کیفیت تغذیه‌ای و محتوی پروتئین خام می‌تواند در بسیاری از نقاط استان بخش عمده-ای از جیره گوسفندان را به ویژه در فصل زمستان تشکیل دهد و به حفظ وزن حیوان در زمستان کمک کند. به هر حال، تفاوت موجود در ترکیب شیمیایی علوفه خشک زعفران تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله زمان برداشت، فصل، کود و آب و هوا می‌باشد. سطح بحرانی عناصر معدنی پرنیاز کلسیم، فسفر، سدیم، پتاسیم و منیزیم به ترتیب ۰/۳، ۰/۲۵، ۰/۰۶، ۰/۷- ۰/۵ و ۰/۱ درصد و عناصر کمیاب روی، مس و آهن به ترتیب ۳۰، ۸ و ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در جیره نشخوارکنندگان بیان شده است (EbnAbbasi & Ghasriani, 2001; Ranjbary, 1995; MacDonald et al., 1995). مقایسه مقدار عناصر علوفه خشک زعفران با سطح بحرانی نشان می-دهد که مقدار عناصر سدیم، منیزیم، روی و آهن پایین تر از سطح بحرانی بود. در مطالعه‌ای که ودیعی و همکاران (Vadei et al., 2008) انجام داد مقدار کلسیم و فسفر را به ترتیب ۱/۳۴ و ۰/۲۸ درصد بدست آورد که با تحقیق حاضر همخوانی دارد. همچنین ودیعی و همکاران (Vadei et al., 2008) میزان آهن موجود در علوفه خشک زعفران را ۶۰۰ قسمت در میلیون گزارش نمود که با نتایج این تحقیق همخوانی ندارد. دلیل این اختلاف را می‌توان به بافت خاک، میزان رطوبت و خطاهای آزمایشی نسبت داد. بایستی به این موضوع توجه

1- Organic matter digestibility
2- Metabolizable energy
3- Short-chain fatty acids

نمود با توجه به کمبود بسیاری از مواد معدنی در علوفه خشک زعفران، مکمل‌های مختلف معدنی، نیاز نشخوارکنندگان به این مواد را تأمین کند. البته با استفاده از کوددهی خاک نیز می‌توان کمبود برخی از عناصر را جبران کرد. محتوی کل ترکیبات فنولی، تانن کل و متراکم علوفه خشک زعفران به ترتیب ۴/۴، ۳/۲ و ۰/۳۱ درصد ماده خشک تعیین شد. اگر میزان تانن متراکم موجود در علوفه‌ها در محدوده ۶ تا ۱۰ درصد ماده خشک باشد مصرف خوراک و عملکرد رشد حیوان را کاهش می‌دهد (Barry & Duncan, 1984) اما سطوح پایین تانن متراکم (۴-۳ درصد ماده خشک) در جیره حیوانات نشخوارکننده ممکن است اثرات مفیدی بر تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمبه از طریق پیوند با پروتئین و یا حتی کربوهیدرات‌ها و مواد معدنی بگذارد (Reed, 1995). در آزمایش حاضر سطوح تانن موجود در علوفه خشک زعفران کمتر از حدی بود که برای حیوانات نشخوارکننده مضر باشد و حتی می‌تواند در افزایش میزان پروتئین عبوری به روده کوچک و بهبود جریان اسیدهای آمینه به بعد از شکمبه مؤثر باشد (Waghorn et al., 1987). از مزایای دیگر سطوح پایین تانن برای حیوانات نشخوارکننده می‌توان به افزایش تولید شیر، رشد پشم، سرعت تخمک گذاری، درصد بره‌زایی و همچنین کاهش بروز نفخ اشاره نمود (Min et al., 2003).

فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک به روش کیسه-های نایلونی

منحنی تجزیه‌پذیری ماده خشک در زمان‌های مختلف انکوباسیون در شکل ۱ نشان داده شده است. همچنین فراسنجه‌ها و میزان تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک در سرعت-های عبور ۲، ۴ و ۶ درصد در جدول ۲ ارائه شده است. روند تجزیه‌پذیری ماده خشک علوفه خشک زعفران حاکی از آن است که عمده تجزیه‌پذیری در ۴۸ ساعت اول انکوباسیون اتفاق افتاده و پس از این مدت روند تجزیه کند شده است. بنابر گزارش ون سوست (Van Soest, 1994) نرخ ناپدید شدن بستگی به زمان لازم برای اتصال میکروب ها به دیواره سلولی و ماهیت دیواره سلولی دارد. کاظمی و همکاران (Kazemi et al., 2007) بخش سریع تجزیه، بخش کند تجزیه و ثابت نرخ تجزیه علوفه خشک زعفران را به ترتیب ۴۲/۷۶، ۴۲/۶۶ و ۰/۰۷۵ گزارش نمود که با نتایج این طرح همخوانی ندارد. دلیل این تفاوت می‌تواند به زمان برداشت و شرایط آب و هوایی منطقه مربوط باشد. فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری اغلب تحت تأثیر ویژگی‌هایی همچون ترکیب شیمیایی و ساختار دیواره سلولی مواد خوراکی قرار می‌گیرند (Givens et al., 2000). سرعت عبور مواد از شکمبه (k) تحت تأثیر مقدار خوراک مصرفی است، به طوری که با افزایش سطح خوراک مصرفی در دام، این مقدار نیز افزایش می‌یابد. همچنین، افزایش مقدار k سبب می‌شود که مدت زمان دسترسی میکروارگانیسم‌های شکمبه به مواد خوراکی نیز کاهش یافته و در نتیجه میزان تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک کاهش یابد (Orskov, 1992). با افزایش مقدار k، از ۲ به ۶ درصد بر ساعت، درصد تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک کاهش یافته است. براساس گزارش یان و اگنو (Yan & Agnew, 2004) بین تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک با فیبر نامحلول در شوینده خنثی و فیبر نامحلول در شوینده اسیدی ارتباط منفی وجود دارد همچنین تانن‌ها نیز از طریق ایجاد کمپلکس‌هایی که با مواد مغذی از قبیل کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها ایجاد می‌کنند می‌توانند بر تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک تأثیر بگذارند.

تولید گاز

مقدار و نرخ تولید گاز، انرژی قابل متابولسیم، ماده آلی قابل هضم و مقدار اسیدهای چرب کوتاه زنجیر حاصل از تخمیر علوفه خشک زعفران مورد آزمایش در جدول ۳ نشان داده شده است. کل مقدار تولید گاز در ۹۶ ساعت انکوباسیون حدود ۵۱ میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک بود (شکل ۲). همچنین روند تولید گاز علوفه خشک زعفران (شکل ۲) نشان می‌دهد که بیشترین مقدار تولید گاز تا زمان ۱۶ ساعت بود و پس از آن نرخ تولید گاز روند کاهشی داشت. این امر به وضوح نشان می‌دهد که افزایش میزان تخمیر در مرحله اول به دلیل بیشتر در دسترس بودن سوبستراهای محلول و قابل تخمیر است (Datt& Singh, 1995). کاظمی و همکاران (Kazemi et al., 2012) بخش نامحلول قابل تخمیر، ثابت نرخ تولید گاز، قابلیت هضم ماده آلی، انرژی قابل متابولیسم و مقدار اسیدهای چرب کوتاه زنجیر را به ترتیب

۵۰/۶۱ درصد، ۰/۰۷۴ در ساعت، ۵۸/۸۸ درصد، ۸/۷۵ مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک و ۰/۹۳ میلی مول گزارش نمود که بالاتر از نتایج آزمایش حاضر است. دلیل این تفاوت می‌تواند به خاطر تفاوت در ترکیب شیمیایی باشد؛ به طوری‌که محتوی پروتئین خام پایین (حدود شش درصد) و مقادیر بالای فیبر نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی (۴۵/۹ و ۳۸/۰ درصد) منجر به کاهش فعالیت و یا دسترسی میکروارگانیسم‌های محیط انکوباسیون به سوبسترای قابل تخمیر شده است و به طبع آن مقدار تولید گاز و سایر فراسنجه‌ها کاهش یافته است.

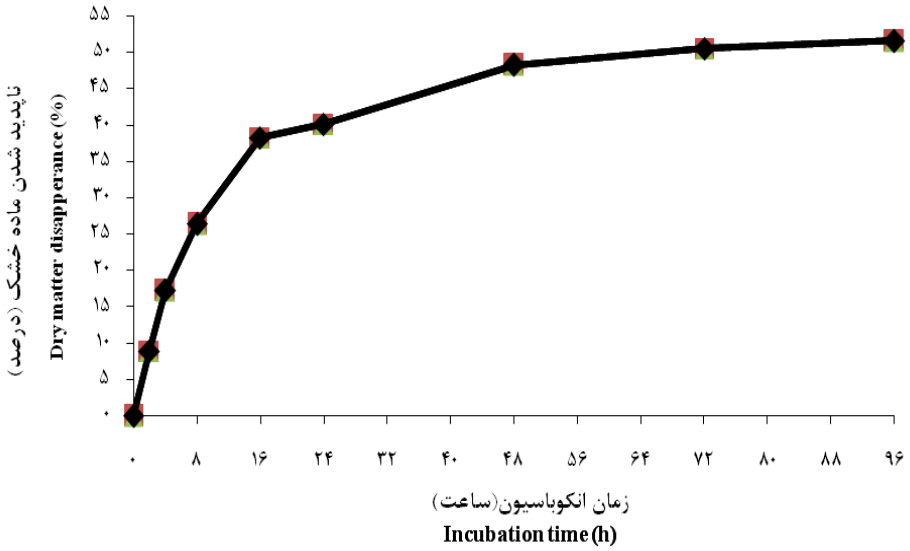
جدول ۱- میانگین ترکیب شیمیایی و عناصر معدنی علوفه خشک زعفران

Table 1- Chemical composition and mineral content of saffron forage

ترکیب شیمیایی (درصد ماده خشک) Chemical composition (%/DM)		عناصر معدنی Mineral content	
ماده خشک Dry matter	94.0± 1.91	عناصر پر نیاز (درصد ماده خشک) Macro mineral (%DM)	
ماده آلی Organic matter	94.8± 1.08	کلسیم Ca	1.2± 2.7
پروتئین خام Crude protein	6.7± 0.12	فسفر P	0.21± 0.28
چربی خام Ether extract	4.7± 1.23	منیزیم Mg	0.03± 0.10
فیبر نامحلول در شوینده خنثی Neutral detergent fiber	45.9± 1.07	سدیم Na	0.006± 0.0007
فیبر نامحلول در شوینده اسیدی Acid detergent fiber	38.0± 3.14	پتاسیم K	0.44± 0.34
کربوهیدرات‌های غیر فیبری* *NFC	42.5± 2.27	عناصر کمیاب (میلی‌گرم در کیلوگرم) Micro minerals (ppm)	
خاکستر خام Raw ash	5.2± 0.04	مس Cu	<1
کل ترکیبات فنولی Total phenolics	4.4± 2.43	روی Zn	<1
تانن کل Total tannin	3.2± 2.40	آهن Fe	9.0± 0.006
تانن متراکم Condensed tannin	0.31± 0.12		

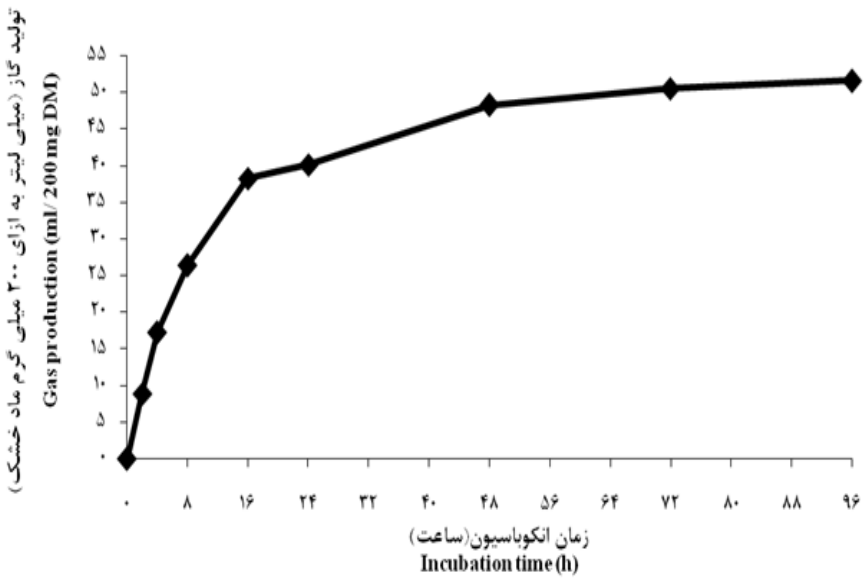
❋ کربوهیدارت‌های غیر فیبری= ۱۰۰- (فیبر نامحلول در شوینده خنثی+ چربی خام+ خاکستر+ پروتئین خام)

*Non fibrous carbohydrates (NFC) = 100 – (CP + NDF + EE + Ash) %



شکل ۱- منحنی تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک

Fig. 1- Dry matter ruminal degradability curve



شکل ۲- روند تولید گاز در زمان‌های مختلف انکوباسیون

Fig. 2- Cumulative gas production at different incubation time

جدول ۲- فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری و تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک علوفه خشک زعفران
Table 2- *In situ* DM degradation parameters and effective degradability of saffron forage

تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک* (درصد در ساعت) Effective degradability of DM (EDDM)* (%/h)			فراسنجه‌های تجزیه پذیری Degradation parameters		
0.06	0.04	0.02	ثابت نرخ تجزیه (در ساعت) Rate constant of degradation (h^{-1})	بخش کند تجزیه (درصد) Slowly degradable fraction (%)	بخش سریع تجزیه (درصد) Rapidly degradable fraction (%)
48.2± 0.76	52.1± 0.79	58.5± 0.69	0.043± 0.008	39.2± 0.94	32.0± 1.03

* تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک در نرخ عبور شکمبه‌ای ۰/۰۲، ۰/۰۴ و ۰/۰۶ درصد در ساعت.

* EDDM, effective degradability of DM. 0.02, 0.04, and 0.06 are ruminal outflow rate (%/h).

کمالک و همکاران (Kamalak et al., 2005) در آزمایشی که بر روی ۱۴ واریته مختلف یونجه مقدار قابلیت هضم ماده آلی از ۵۹/۱۵ تا ۶۴/۹۷ درصد و میزان انرژی قابل متابولیسم نیز بین ۸/۶۵ تا ۹/۷۶ مگاژول بر کیلوگرم گزارش نمودند. این مقدار انرژی قابل متابولیسم و قابلیت هضم ماده آلی بالاتر از میزان بدست آمده برای علوفه خشک زعفران مورد مطالعه می‌باشد. این اختلاف به دلیل تفاوت در محتوی مواد خوراکی مورد مطالعه، که منطقی به نظر می‌رسد. نورتون (Norton, 2003) گزارش کرد که مواد خوراکی باید حداقل حاوی ۱۰ درصد پروتئین خام باشند تا فعالیت میکروبی در شکمبه مطلوب باشد. بنابراین، مواد خوراکی با کمتر از ۱۰ درصد پروتئین خام سبب کاهش فعالیت میکروبی در شکمبه و در نتیجه منجر به کاهش تولید گاز می‌شوند. منکه و استیگناس (Menke & Steingass, 1988) گزارش نمودند وقتی از روش تولید گاز برای تعیین خصوصیات هضمی مواد خوراکی استفاده می‌شود فرض بر این است که گاز تولیدی تحت تأثیر هیچ عامل دیگری جز ترکیبات شیمیایی و خصوصیات فیزیکی خوراک قرار نمی‌گیرد، اما تغییر در فعالیت میکروبی مایع شکمبه ممکن است بر نرخ تخمیر اثر بگذارد. تولید گاز حاصل از پروتئین در مقایسه با کربوهیدرات نسبتاً اندک است. همچنین سهم چربی نیز در تولید گاز قابل صرف نظر می‌باشد (Wolin, 1960). ارتباط منفی بین فیبر نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی با تولید گاز و سایر فراسنجه‌ها توسط خزعل و همکاران (Khazaal et al., 1994)، تلورا و همکاران (Tolera et al., 1997)، عبدالرزاق و همکاران (Abdulrazak et al., 2000) و کمالک و همکاران (Kamalak et al., 2005) گزارش شده است. همچنین ارتباط مثبت بین تولید گاز و سایر فراسنجه‌ها با پروتئین خام توسط لاربی و همکاران (Larbi et al., 1998)، تلورا و همکاران (Tolera et al., 1997) و کمالک و همکاران (Kamalak et al., 2005) گزارش شده است. به طور کلی، منحنی تولید گاز از نظر ماده تخمیر شوند شامل دو مرحله است که مرحله اول مربوط به بخش محلول در آب و مرحله دوم مربوط به تخمیر مواد نامحلول در آب است. منحنی تولید گاز S شکل است و دارای سه مرحله می‌باشد. مرحله اول که شامل خیس خوردن و چسبیدن میکروب‌ها می‌باشد و مرحله دوم به صورت نمایی و بیانگر هضم آنزیمی است و مرحله سوم که در آن تولید گاز کاهش یافته و سرانجام به صفر می‌رسد و منحنی به خط افقی تبدیل می‌شود. در این پژوهش، منحنی تولید گاز از الگوی فوق تبعیت می‌کند (Cone et al., 1996; Cone et al., 1997). روش تولید گاز و روش کیسه‌های نایلونی از مهمترین روش‌های تعین نرخ و مقدار هضم ماده خشک هستند. روش کیسه‌های نایلونی سال‌های زیادی است که در برآورد نرخ و مقدار ناپدید شدن اجزای خوراک مورد استفاده قرار می‌گیرد. روش تولید گاز نیز به

عنوان روشی رایج در تعیین ارزش غذایی مواد خوراکی مورد پذیرش قرار گرفته است. با این‌وجود، هر کدام محدودیت‌های خاص خود را دارند. صحت روش کیسه‌های نایلونی بالاتر از روش تولید گاز است و معیار مناسب‌تری برای تعیین مصرف خوراک و قابلیت هضم فراهم می‌کند؛ اما بدلیل تفاوت محیط شکمبه حیوانات مورد استفاده نتایج مربوط به روش کیسه‌های نایلونی می‌تواند تغییرات زیادی داشته باشد (Khanum et al., 2007; Khazaal et al., 1993).

جدول۳- پارامترهای تولید گاز علوفه خشک زعفران

Table 3- The estimated parameters from the gas production of saffron forage

مقدار گاز تولید شده پس از ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر بر ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک) Gas production volume at 24 h (ml/200mg)	بخش نامحلول قابل تخمیر (درصد) Insoluble but fermentable fraction (%)	ثابت نرخ تولید گاز (درساعت) Gas production rate constant (per hr)
40.2± 5.66	49.8± 4.23	0.091± 0.09

جدول ۴- انرژی قابل متابولیسم، ماده آلی قابل هضم و مقادیر اسیدهای چرب کوتاه زنجیر علوفه خشک زعفران

Table 4- Metabolisable energy, Organic matter digestibility and Short chain fatty acid contents of saffron Forage

قابلیت هضم ماده آلی (درصد) Organic matter digestibility (%)	انرژی قابل متابولیسم (مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک) Metabolisable energy ($MJ.kg^{-1}$ DM)	اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی مول) Short chain fatty acids (mmol)
53.9± 5.10	8.0± 0.77	0.89± 0.12

نتیجه‌گیری

با در نظر گرفتن مجموع پارامترهای کمی و کیفی مطالعه شده، می‌توان نتیجه گرفت که علوفه خشک زعفران در مقایسه با علوفه‌های متعارف مورد استفاده در تغذیه دام هضم شکمبه‌ای پایین‌تری دارد، همچنین وجود عوامل ضدتغذیه‌ای به ویژه تانن بالا در این علوفه می‌تواند اثر سوء بر قابلیت هضم مواد مغذی در شکمبه داشته باشد. با این‌وجود، درصد متوسط پروتئین خام و فیبر نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی، نشانه‌ای از کیفیت خوب علوفه خشک زعفران به عنوان یک علوفه است. با این‌حال، مطالعات تغذیه‌ای بیشتری با استفاده از دام لازم است تا تصویر کاملی از کیفیت علوفه خشک زعفران بدست آید، زیرا در هنگام ارزیابی ارزش غذایی یک علوفه نمی‌توان دام را نادیده گرفت.

منابع

Abdulrazak, S.A., Fujihara, T., Ondiek, J.K., Orskov, E., 2000. Nutritive evaluation of some Acacia tree leaves from Kenya. Anim. Feed Sci. Technol. 85, 89–98.

AOAC., 2000. Official methods of analysis, 17th Ed. Official methods of analysis of AOAC International, Gaithersburg, MD, USA.

Barry, T.N., Duncan, S.J., 1984. The role of condensed tannins in the nutritional value of Lotus pedunculatus for sheep. I. Voluntary intake. Brit. J. Nutr. 51:485-491.

Bilandi, M.S., Vadei, A., 2007. Economic review of saffron and its impact on farmers' income. 6th Agricultural Economic Conference. University of Mashhad. [In Persian].

Cone, J.W., Van Gelder, A.H., Visscher, G.T.W., Oushoorn, L., 1996. Influence of rumen fluid and substrate concentration on fermentation

kinetics measured with fully automated time related gas production apparatus. Anim. Feed Sci. Technol. 61, 113-128.

Cone, J.W., Van Gelder, A.H., and Driehuis, F., 1997. Description of gas production profiles with a three phasic model. Anim. Feed Sci. Technol. 66, 31-45.

Datt, J. W., Singh, G.P., 1995. Effect of protein supplementation on in vitro digestibility and gas production of wheat straw. Indian J.Dairy Sci. 48, 357-361.

EbnAbbasi, E., Ghasriani, F., 2001. Recognition and Nutritive Value Determination of livestock and Birds Feed. Resource of Kordestan Province, Bureau of Plan, Schematization and Harmony of Research Affairs, Organization of Researches and Agriculture Instruction, 41 pp. [In Persian with English Summary].

Givens, D.I., Owen, E., Axford, R.F.E., Omed, H.M., 2000. Forage Evaluation in Ruminant Nutrition. CABI Publishing, 480 pp.

Kafi, M., Rashed, M.H., Koocheki, A., Mollafilabi, A., 2001. Saffron: Technology, Cultivation and Processing. Ferdowsi University of Mashhad Press. Center of Excellence for Special Crops. [In Persian]

Kamalak, A., Canbolat, O., Gurbuz, Y., Erol, A., Ozay, O., 2005 .Effect of maturity stage on chemical composition, in vitro and in situ dry matter degradation of tumbleweed hay (*Gundelia tournetortii* L.) Small Rumin. Res. 58:49-156.

Kamalak, A., Canbolat, O., Erol, A., Kilinc, C., Kizilsimsek, M., Ozkan, C.O., Ozkose, E., 2005.Effect of variety on chemical composition, *in vitro* gas production, metobolizabl energy and organic matter digestibility of alfalfa hays.Livestock.Research for Rural Development.17(7.(http://cipav.org.co/lrrd/lrrd17/7/cont1707.htm.

Khanum, S.A., Yaqoob, T., Sadaf, S., Hussain, M., Jabbar, M.A., Hussain, H.N., Kausar, R., Rehman, S., 2007. Nutritional evalution of varius feedstuffs for livestock production using in vitro gas method. Pakistan Vet. J. 27(3), 129-133.

Khazaal, K., Dentinho, M.T., Ribeiro, J.M., Orskov, E.R., 1993. A comparison of gas production during incubation with rumen contents *in vitro* digestibility in vitro and the voluntary intake of hays. Anim. Prod. 57, 105–112.

Khazaal, K., Boza, J., Orskov, E.R., 1994. Assessment of phenolics-related anti-nutritive effects in Mediterranean browse. A comparison between the use of the in vitro gas production technique with or without insoluble polyvinylpolypyrrolidone or nylon bag. Anim. Feed Sci. Technol. 49, 133-149.

Kazemi, M., Tahmasbi, A., Valizadeh, R., DanashMasgeran, M., Moheghi, M., 2007. Determination of nutritional value crocus sativus forage in animal nutrition. Third Congress on Animal Science. [In Persian with English Summary].

Kazemi, M., Tahmasbi, A. M., Naserian, A. A., Valizadeh, R., Moheghi, M.M., 2012. Potential nutritive value of some foragespecies used as ruminants feed in Iran. Pakistan. J. Bio. 11(57), 12110-12117.

Makkar, H.P.S., 2000. Quantification of tannins in tree foliage.Animal Production and Health Section International Atomic Energy Agency.WagramerStrasse. Vienna, Austria.

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

Makkar, H.P.S., Bluemmel, M., Borowy, N.K., Becker, K., 1993. Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. J. Sci. Food Agric. 61, 161–165.

MacDonald, P., Edwards, R.A., Green Halgh, J.F.D., Morgan, C.A., 1995.Animal Nutrition,

Longman Scientific and Technical, Fifth Edition, 607 pp.

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

Min, B.R., Barry, T.N., Attwood, G.T., McNabb, W.C., 2003. The effect of condensed tannins on the nutrition of ruminants fed fresh temperate forages: a review. Anim. Feed Sci. Tech. 106, 3-19.

Norton, B.W., 2003. The nutritive value of tree legumes. In: Forage tree legumes in tropical agriculture. (Ed. R.C. Gutteridge, and H.M. Shelton) pp. 1-10. Available in website: http://www.fao.org/ag/agP/agpc/doc/Publicat/Gutt-shel/x5556e0j.htm.

NRC., 1978. Nutrient Requirements of Dairy Cattle.5th Rev. Ed. Acad. Sci., Washington, DC.

NRC., 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle.7th Ed. Nat. Acad. Sci., Washington, DC.

Orskov, E.R., 1992. Protein Nutrition in Ruminants (1st Ed.). United States: Academic Press, INC, San Diego.

Orskov, E.R., Mcdonald, I., 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurments weighted according to rate of passage. J. Agric. Sci. (Cambridge). 92(2), 499–503.

Ranjbary, A., 1995. Mineral Determination of Dominant Range Plants in Four Major Regions in Isfahan Province, MSc Thesis of Ranch, University of Tarbiat Modares, Tehran, Iran 125 pp. [In Persian].

Reed, J.D., 1995. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. J. Anim. Sci. 73, 1516-1528.

SAS., 2000. SAS Statistical Analysis Systems 2000. User's Guide. SAS Institute Incorporation, Cary, NC.

Tolera, A., Khazaal, K., Orskov, E.R., 1997. Nutritive evaluation of some browse species. Anim. Feed Sci. Technol. 67, 181–195.

Vadei, A., Dadmand, M., Abasi, A., Faysi, R., Ali Saghi, D., 2008. A study on nutritional value of residuals in saffron farms.fourth national congress on study crop residues. Tehran, Iran, 236-241. [In Persian]

Valizadeh, R., 1988. Study saffron leaves the feed. Iranian Research Organization for Science and Technology.Center of Khorasan. [In Persian].

Van Hatalo, A., Aronen, I., Varvikko, T., 1995. Intestinal nitrogen digestibility of heat-moisture treated means as assessed by the mobile bag method in cows. Anim. Feed Sci. Technol. 55, 139-152.

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

Van Soest, P.J., 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. United States. Comstock Publication, Ithaca.

Waghorn, G.C., Utlyat, M.J., John, A., Fisher, M.T., 1987. The effect of condensed tannins on the site of digestion of amino acids and other nutrients in sheep fed on Lotus corniculatus L. Bri. J. Nutr. 57(1), 115-126.

Wolin, M.J., 1960. A theoretical rumen fermentation balance. Dairy Sci. 43, 1452-1459.

Yan, T., Agnew, R.E., 2004. Prediction of nutritive values in grass silages: II. Degradability of nitrogen and dry matter using digestibility, chemical composition, and fermentation data. J. Anim. Sci. 82: 1380–1391.

Chemical composition, rumen degradability and fermentation parameters of saffron forage using *in situ* and gas production techniques

Vahid Kardan Moghaddam[1], Mohamad Hasan Fathi Nasri[2*], Reza Valizadeh[3] and Homayon Farhangfar[4]
1- Former M.Sc. Student, Department of Animal science, University of Birjand
2- Associate Professor, Department of Animal science, University of Birjand
3- Professor, Department of Animal science, Ferdowsi University of Mashhad
4- Professor, Department of Animal science, University of Birjand
*- Corresponding Author E-mail: hfathi@birjand.ac.ir

Kardan Moghaddam, V., Fathi Nasri, M.H., Valizadeh, R., and Farhangfar, H., 2015. Chemical composition, rumen degradability and fermentation parameters of saffron forage using *in situ* and gas production techniques. Journal of Saffron Research. 2(2): 129-140.

Submitted: 29-12-2013
Accepted: 5-1-2015

Abstract
Nutritive value of saffron residues was evaluated through determination of chemical compositions, *in situ* degradability and *in vitro* gas production techniques using two permanently fistulated Holstein heifers. The gas production and degradability characteristics were measured at 0, 2, 4, 8, 16, 24, 48, 72 and 96 hours. The saffron forage contained 96.8, 6.7, 45.9, 38.0, 5.2, 4.7 and 42.5 % of organic matter (OM), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), ash, ether extract (EE) and nonfiber carbohydrates (NFC), respectively. The study showed that Na, Mg, Zn and Fe were insufficient for ruminant requirement. The results obtained from degradability of dry matter showed that fraction "a" (rapidly degradable), "b" (slowly degradable) and "c" (constantdegradable rate) were calculated 32.0%, 39.2% and 0.043/h, respectively. Also, *in vitro* gas production parameters (b and c), organic matter digestibility (OMD), metabolisable energy (ME) and short-chain fatty acids (SCFA) values of saffron forage were 49.8 ml/200 mg of DM, 0.091 ml/h, 53.9 %, 8.0MJ/kg DM and 0.89 mmol, respectively. Phenolic compounds (TP), total tannin (TT) and condensed tannin (CT) contents were 2.93%, 0.97% and 0.31%, respectively. It was concluded that saffron forage as cheap feedstuff sources can be replaced with part of feedstuff animal's diet.
Keywords: Chemical composition, Degradability, Gas production, Saffron forage