بسم الله الرحمن الرحيم

١٣٨٧ / ١٩

٤٦٩٥

دانشکده کشاورزی

گروه علوم دامی

پایان‌نامه

جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته علوم دامی گرایش غذا وتغذیه دام

عنوان

تعیین ارزش غذایی برخی از ضایعات کشاورزی با استفاده از روشهای *In vitro* و *In situ In vivo*

استاد راهنما

دکتر اکبر تقی‌زاده

استادان مشاور

دکتر حسین جانمحمدی

دکتر غلامعلی مقدم

پژوهشگر

مقصود بشارتی

۱۳۸۷ /۶/ ۲۵

اسفند ۱۳۸۶

شماره ۶۹

تقدیم به:

خانواده عزیز و فداکارم

که همواره

در راه کسب علم و دانش یار و همراه و مشوق من بودند.

بسمه تعالی

تقدیر و تشکر

حمد و سپاس خدائی را سزاست که مبدإ هستی است و بهترین مخلوق را آفرید و فکر و اندیشه به او داد تا بیاموزد و یاد دهد.

از استاد محترم جناب آقای دکتر اکبر تقی‌زاده به خاطر راهنمائیهای ارزنده‌ای که در جهت اجرا، تدوین، نگارش و هر چه پربارتر شدن پایان نامه ارائه نموده‌اند صمیمانه تشکر می‌نمایم.

از اساتید مشاور جناب آقایان دکتر غلامعلی مقدم و دکتر حسین جانمحمدی به پاس راهنمائیها و مشاوره‌های ارزشمندشان تقدیر و تشکر می‌کنم.

از جناب آقای دکتر پیرانی مدیریت محترم گروه علوم دامی که زحمت داوری پایان نامه را بر عهده داشتند و با دقت تمام زحمت بازخوانی پایان نامه را تقبل کردند تشکر و قدردانی می‌نمایم.

از استاد ارجمند جناب آقای دکتر جلیل شجاع که در طول تحصیل از راهنمائی‌های ارزشمند ایشان بهره‌مند بودم تقدیر و تشکر می‌کنم.

از تمامی دوستان و همکلاسی‌های عزیزم آقایان مهندس عادل انصاری، حمید پایا، بابک باغبانزاده نوبری، عیسی فتح‌الهی، سعید امیر دهری، محمد رضا شیخلو، وحید حصنی، پیمان شهبازی، مهدی بایری‌یار، حبیب رمضانزاده، صادق سکوتی و خانم‌ها انگجی، اسدی و نوریان که بنده را در اجرای پایان نامه یاری کردند کمال تشکر و قدردانی را دارم.

از خانواده عزیز و مهربانم که زحمات فراوانی در طول تحصیل متحمل شده‌اند و همواره مشوقم بوده‌اند صمیمانه سپاسگزارم.

بشارتی

بهار ۱۳۸۷

نام خانوادگی: بشارتی **نام:** مقصود

عنوان پایان‌نامه: تعیین ارزش غذایی برخی از ضایعات کشاورزی با استفاده از روشهای *in vitro*، *in situ* و *in vivo*

استاد راهنما: دکتر اکبر تقی‌زاده

استادان مشاور: دکتر حسین جانمحمدی- دکتر غلامعلی مقدم

مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد رشته: علوم دامی گرایش: غذا و تغذیه دام

دانشگاه: تبریز دانشکده: کشاورزی تاریخ فارغ‌التحصیلی:۱۳۸٦/۱۲/۸ تعداد صفحات:۱۱۷

کلید واژه‌ها: تانن، تجزیه پذیری، تولید گاز، قابلیت هضم، گوسفند، *in situ*، *in vivo*

چکیده:

در دامپروری مدرن تغذیه حدود ۷۰-٦۰ درصد هزینه کل را تشکیل می‌دهد، لذا شناسایی و استفاده از منابع غذایی جدید در تغذیه دام یکی از روشهای کاربردی در کاهش هزینه‌های پرورش دام می‌باشد. یکی از این روشها، استفاده مناسب از ضایعات غذایی و فرآورده‌های فرعی کشاورزی که در تغذیه انسان کاربردی ندارند، است. هدف از انجام این تحقیق تعیین ارزش غذایی (ترکیبات شیمیایی، قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام و خصوصیات تجزیه‌پذیری) پوش کشمش، تفاله انگور، تفاله سیب، تفاله گوجه فرنگی و ضایعات ماکارونی با استفاده از روشهای *in vitro*، *in situ* و *in vivo* بود. در این تحقیق از ١٦ رأس گوسفند نر بالغ نژاد قزل جهت انجام آزمایش *in vivo* و ۲ رأس گوسفند فیستوله شده جهت انجام آزمایشات *in situ* و *in vitro* استفاده شد. برای انجام آنالیز آماری داده‌ها در قالب طرح کاملا تصادفی از نرم افزار SAS و جهت بررسی و تحلیل داده‌های تجزیه پذیری از برنامه کامپیوتری Naway استفاده شد. ترکیبات شیمیایی پوش کشمش شامل پروتئین خام، چربی خام، NDF، ADF و خاکستر خام به ترتیب برابر ٦/۳۵٪، ۱/۱۲٪، ۲۵/۹٪، ۲۵/۵٪ و ۷/٤٪، برای تفاله انگور به ترتیب ٦/٦۲٪، ۱/٤۱٪، ۲۵/۹٪، ۲۵/۵٪ و ۱۲/۳٪، برای تفاله سیب به ترتیب ۵/۲۵٪، ۳/۷٪، ۳۵/۳٪، ۲۸٪ و ۲/۲٪، برای تفاله گوجه فرنگی ۲۱/۵۹٪، ٦/۹٪، ٦۷/٤٪، ۵۸/۷٪ و ۱۲/۲٪، و برای ضایعات ماکارونی به ترتیب ۱۱/۲۷٪، ۰/٦۸٪، - - و ۱/۲٪ بود. میزان کل ترکیبات فنلی و کل تانن‌های قابل استخراج برای پوش کشمش به ترتیب ٦/۷٪ و ۵/۲۳٪، و برای تفاله انگور به ترتیب ۳/۰۱٪ و ۲/۲٤٪ بودند. در روش *in vivo* اختلاف معنی-داری از لحاظ قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی بین تیمارها مشاهده نشد ولی از لحاظ قابلیت هضم پروتئین خام، ADF و NDF بین تیمارها اختلاف وجود داشت.

با افزایش درصد پوش کشمش در تیمارهای آزمایش قابلیت هضم پروتئین خام کاهش یافت. در روش تولید گاز، حجم گاز تولیدی در ٤٨ ساعت انکوباسیون برای پوش کشمش، تفاله انگور، تفاله سیب، تفاله گوجه فرنگی و ضایعات ماکارونی به ترتیب ٢٤٣، ٢٦٥، ٣٠٥، ١٩٧ و ٢٤٦ میلی لیتر گاز در هر گرم ماده خشک بود، که در بین مواد خوراکی مورد آزمایش تفاله سیب با ٣٠٥ میلی لیتر گاز و تفاله گوجه فرنگی با ١٩٧ میلی لیتر گاز بیشترین و کمترین گاز تولیدی را داشتند. در روش ***in situ*** در صفر ساعت انکوباسیون، تفاله انگور (٦٨/٨٩٪) و تفاله گوجه فرنگی (١٥/١٢٪) به ترتیب بیشترین و کمترین میزان ناپدید شدن ماده خشک را داشتند. پس از ٤٨ ساعت انکوباسیون ضایعات ماکارونی (٩٧/٧٤٪) و تفاله گوجه فرنگی (٤٥/٣١٪) به ترتیب بیشترین و کمترین قابلیت هضم ماده خشک را در بین مواد خوراکی مورد آزمایش داشتند. در صفر ساعت انکوباسیون ضایعات ماکارونی با ٦٧/٧٤٪ قابلیت هضم پروتئین خام بیشترین و تفاله انگور و تفاله گوجه فرنگی به ترتیب با ١٧/٠٩٪ و ١٦/٧٪ کمترین میزان ناپدید شدن پروتئین خام را در بین نمونه‌ها داشتند. همچنین در ٤٨ ساعت پس از انکوباسیون ضایعات ماکارونی و تفاله انگور به ترتیب با ٩٨/١٨٪ و ٥٩/٥٥٪ به ترتیب بیشترین و کمترین میزان تجزیه پذیری پروتئین خام را در بین مواد خوراکی داشتند. از تجزیه پذیری ماده خشک و پروتئین خام مواد غذایی می‌توان در تعیین مقدار غذای مصرفی و جیره نویسی در راستای تأمین مقدار مطلوب مواد غذایی مورد نیاز برای عملکرد بهتر جمعیت میکروبی شکمبه و دام سود برد. در محاسبه ناپدید شدن ماده خشک با روش آزمایشگاهی در ٤٨ ساعت انکوباسیون ضایعات ماکارونی و تفاله انگور به ترتیب با ٧٨٪ و ٧٦/١١٪ بیشترین و تفاله گوجه فرنگی با ٤٢/٨٥٪ کمترین میزان تجزیه پذیری ماده خشک را درا بودند. همبستگی بالایی بین تجزیه پذیری ماده خشک و پروتئین خام با روش ***in situ*** ،***in vitro*** و حجم گاز تولیدی در تمام مواد غذایی مشاهده شد.

فهرست مطالب

مقدمه ۱

فصل اول

بررسی منابع – روشهای اندازه گیری قابلیت هضم ۳

۱-۱- تعیین قابلیت هضم با استفاده از حیوان زنده (*In vivo*) ۳

۱-۲- مقایسه قابلیت هضم حقیقی با قابلیت هضم ظاهری ٤

۱-۳- روش کیسه‌های نایلونی (*in situ*) ٦

الف- نسبت بین سطح کیسه و اندازه نمونه ۸

ب- اندازه منافذ کیسه ۸

پ- جیره حیوان میزبان ۸

ت- تعداد و گونه‌های حیوانات مورد استفاده ۹

ث- آماده‌سازی نمونه‌ها ۹

۱-٤- روشهای آزمایشگاهی (*in vitro*) ۱۰

۱-٤-۱-روش Terry و Tilley ۱۰

۱-٤-۲- روش تولید گاز (Gas production) ۱۲

بافر و منبع مایع شکمبه ۱۳

کاربرد و پیشرفت‌های حاصل شده ۱٤

۱-٤-۳-روشهای استفاده از آنزیمها ۱۸

۱-۵-روش های اندازه گیری هضم پروتئین در رودۀ باریک ۲۰

۱-۵-۱- روشهای حیوانی ۲۱

۱-۵-۲-روش کیسه‌های نایلونی متحرک(MNB) ۲۲

۱-٦-عوامل موثر بر قابلیت هضم خوراک در نشخوارکنندگان ۲۵

۱-٦-۱-عوامل گیاهی ۲۵

۱-٦-۲-عوامل مدیریتی ۲٦

۱-٦-۳-عوامل حیوانی ۲۷

۱-۷-اثرات جمع ناپذیر یا غیر افزایشی(Non- additive Associative effects) ۳۱

۱-۸-۱- تفاله انگور و پوش کشمش ۳٦

ترکیبات و خواص غذایی ۳۷

سطح زیر کشت انگور در جهان ۳۹

میزان تولید انگور ٤۰

عملکرد در هکتار ٤۱

تفاله انگور ٤٣
پوش کشمش ٤٣
١-٨-٢- تفاله گوجه فرنگی ٤٤
ترکیب میوه رسیده گوجه فرنگی ٤٦
موارد استفاده گوجه فرنگی ٤٨
روند تولید جهانی گوجه فرنگی در سالهای اخیر ٤٩
تولید گوجه فرنگی در ایران و استان آذربایجانشرقی ٤٩
تفاله گوجه فرنگی ٥٣
١-٨-٣- تفاله سیب ٥٥
انواع واریته‌های سیب و پایه‌های پیوندی ٥٦
ارقام مهم ایرانی ٥٦
سطح زیر کشت ٥٦
میزان تولید ٥٧
عملکرد در هکتار ٥٧
تفالهٔ سیب ٥٩
١-٨-٤- ضایعات ماکارونی ٦١

فصل دوم

مواد و روش‌ها

٢-١- محل انجام پژوهش، آنالیز شیمیایی مواد غذایی و دامهای مورد استفاده ٦٢
اندازه‌گیری تانن با استفاده از روش تغییر یافته مککار و همکاران(١٩٩٢) ٦٢
الف) آنالیز کل ترکیبات فنلی قابل استخراج (TEPHs) ٦٢
ب) آنالیز ترکیبات فنولی بدون تانن توسط (PVP) ٦٣
ج) تهیه محلول استاندارد ٦٤
د) قرائت عدد جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر ٦٤
ه) رسم منحنی استاندارد و تعیین معادله رگرسیون ٦٥
و) محاسبه کل تاننهای قابل استخراج (TETs) ٦٥
ی) روش محاسبه ٦٦
٢-١-١- دامهای مورد استفاده ٦٧
٢-٢-١- تعیین قابلیت هضم با استفاده از حیوان زنده (*in vivo*) ٦٧
مرحله عادت پذیری دام ٦٨
مرحله پیش آزمایش ٦٨

مرحله اصلی آزمایش..... ٦٨
۲-۲-۲- نحوه محاسبه قابلیت هضم ماده غذایی مکمل ٦٨
۲-۳-۱- برآورد تجزیه پذیری به روش *in situ* ٦٩
۲-۳-۲- روش آماری برای تجزیه و تحلیل روش *in situ* ٧٠
۲-٤-۱-اندازه‌گیری تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی ٧١
۲-٥-۱- تعیین میزان ناپدید شدن با استفاده از روش آزمایشگاهی ٧٣
۳-٥-۲- مدل آماری مورد استفاده در روش تولید گاز و تعیین میزان تجزیه‌پذیری به روش *in vitro* ٧٤
۲-٦- برآورد انرژی قابل متابولیسم ٧٥

فصل سوم

نتایج و بحث

۳-۲- تعیین قابلیت هضم با استفاده از روش *in vivo* ٧٧
۳-۲- اندازه گیری گاز تولیدی توسط مواد غذایی مورد آزمایش *(Gas Production)* ٨٤
۳-٤- محاسبه ناپدید شدن مواد غذایی به روش *in situ* ٩٠
۳-٤-۱ ناپدید شدن ماده خشک مواد غذایی مورد آزمایش به روش کیسه‌های نایلونی ٩١
۳-٤-۲- ناپدید شدن پروتئین خام مواد غذایی مورد آزمایش با روش کیسه‌های نایلونی ٩٧
۳-٥ محاسبه ناپدید شدن ماده خشک موادغذایی مورد آزمایش با روش آزمایشگاهی*(in vitro)* ١٠١
۳-٦ رابطه بین تجزیه پذیری ماده خشک و پروتئن خام با روش *in situ in vitro* و حجم گاز تولیدی نمونه‌های مواد غذایی ١٠٣
منابع ١٠٧

فهرست جداول

جدول۱-۱ میزان مواد غذایی موجود در یکصد گرم انگور تازه و کشمش ٣٨
جدول ۱-۲ سطح زیر کشت، میزان تولید و عملکرد محصول انگور بتفکیک استان در سال ۱۳۸۲ ..... ٤٢
جدول ۱-۳ خصوصیات هضمی، متابولیکی و شیمیایی تفاله انگور ٤٣
جدول ۱-٤ ترکیب مواد معدنی تفاله انگور بر حسب درصد ٤٤
جدول۱-٥ ترکیب شیمیایی میوه رسیده گوجه فرنگی(براساس درصد ماده خشک) ٤٧
جدول۱-٦ تغییرات کاروتن های اصلی گوجه فرنگی های رسیده ٤٧

جدول۱-۷ برآورد سطح زیر کشت، میزان تولید و عملکرد در هکتار گوجه فرنگی در ایران به تفکیک استان..... ۵۱
جدول ۱-۸ خصوصیات هضمی، متابولیکی و شیمیایی تفاله گوجه فرنگی..... ۵۳
جدول ۱-۹ بخش های نیتروژن و قابلیت هضم RUP تفاله گوجه فرنگی..... ۵٤
جدول۱-۱۰ اسیدهای آمینه تفاله گوجه فرنگی..... ۵٤
جدول ۱-۱۱ ترکیب مواد معدنی تفاله گوجه فرنگی بر حسب درصد..... ۵٤
جدول ۱-۱۲ ترکیب پروتئینی دانه گوجه فرنگی..... ۵۵
جدول۱-۱۳ برآورد سطح زیر کشت، میزان تولید و عملکرد در هکتار سیب در ایران به تفکیک استان در سال۱۳۸۲.. ۵۸
جدول۱-۱٤ برآورد سطح زیر کشت، میزان تولید و عملکرد در هکتار سیب در آذربایجان‌شرقی سال۱۳۸٦..... ۵۹
جدول۱-۱۵ خصوصیات هضمی، متابولیکی و شیمیایی تفاله سیب..... ٦۰
جدول ۱-۱٦ بخش های نیتروژن و قابلیت هضم RUP تفاله سیب..... ٦۰
جدول۱-۱۷ اسیدهای آمینه تفاله سیب..... ٦۱
جدول ۱-۱۸ ترکیب مواد معدنی تفاله سیب بر حسب درصد..... ٦۱
جدول ۳-۱ ترکیبات مغذی پوش کشمش (آزمایش حاضر و سایر تحقیقات) و یونجه (صد در صد ماده خشک)..... ۷٦
جدول۳-۲ میانگین ضرایب قابلیت هضم تیمارهای آزمایشی و ترکیبات شیمیایی آنها (صد در صد ماده خشک) در روش *in vivo*..... ۷۸
جدول۳-۳ میانگین ضرایب قابلیت هضم پوش کشمش در تیمارهای آزمایشی(صد در صد ماده خشک) در روش *in vivo*..... ۸۲
جدول ۳-٤ ماده خشک و ترکیبات شیمیایی مواد خوراکی (درصد در ماده خشک)..... ۸٤
جدول ۳-۵ میزان تولید گاز در زمانهای انکوباسیون (میلی لیتر در گرم ماده خشک)..... ۸۷
جدول ۳-٦ پارامترهای تولید گاز..... ۸۸
جدول ۳-۷ درصد تجزیه پذیری ماده خشک در زمانهای انکوباسیون..... ۹۳
جدول ۳-۸ مشخصه‌های تجزیه پذیری ماده خشک در روش *in situ*..... ۹۵
جدول ۳-۹ درصد تجزیه پذیری پروتئین خام در زمانهای انکوباسیون..... ۹۹
جدول ۳-۱۰ مشخصه‌های تجزیه پذیری پروتئین خام در روش *in situ*..... ۱۰۱
جدول ۳-۱۱ درصد تجزیه پذیری ماده خشک در زمانهای انکوباسیون با روش *in vitro*..... ۱۰۲
جدول ۳-۱۲ مشخصه‌های تجزیه پذیری ماده خشک در روش *in vitro*..... ۱۰۳
جدول ۳-۱۳ ضرایب همبستگی بین تجزیه پذیری ماده خشک و پروتئین خام با دو روش *in situ* و *in vitro* و حجم گاز تولیدی..... ۱۰٤
جدول ۳-۱٤ مدل‌های رگرسیونی برای برآورد میزان تجزیه پذیری ماده خشک مواد غذایی به روش *in situ* با استفاده از نتایج حاصل از میزان تولید گاز(x)..... ۱۰٤
جدول ۳-۱۵ مدل‌های رگرسیونی برای برآورد میزان تجزیه پذیری ماده خشک مواد غذایی به روش *in vitro* با استفاده از نتایج حاصل از میزان تولید گاز(x)..... ۱۰۵

جدول ۳-۱۶ مدل‌های رگرسیونی برای برآورد میزان تجزیه پذیری ماده خشک مواد غذایی به روش *in vitro* با استفاده از نتایج حاصل از میزان تجزیه پذیری ماده خشک مواد غذایی به روش *in situ* (x)..... ۱۰۵
جدول ۳-۱۷ مدل‌های رگرسیونی برای برآورد میزان تجزیه پذیری پروتئین خام مواد غذایی به روش *in situ* با استفاده از نتایج حاصل از میزان تولید گاز(x)..... ۱۰۵

فهرست اشکال

شکل ۱ منحنی تجزیه پذیری ماده خشک در ساعات مختلف انکوباسیون..... ٦
شکل ۳-۱ منحنی تولید گاز در مواد غذایی..... ۸۹
شکل ۳-۲ منحنی تجزیه‌پذیری ماده خشک در مواد غذایی *in situ*..... ۹۷

مقدمه

هضم در نشخوارکنندگان شامل تجزیه و تخمیر میکروبی خوراک در شکمبه بوده و با تجزیه آنزیمی در روده باریک تکمیل می گردد. تنوع میکروبی اکوسیستم شکمبه و حضور انواع گوناگونی از میکروارگانیسمها نظیر باکتریها، پروتوزوآها و قارچهای بی هوازی امکان هضم و گوارش ترکیبات خوراکی گوناگونی را فراهم می سازد که آنزیمهای گوارشی حیوان قادر به شکستن آنها نمی باشد. لذا نشخوارکنندگان با فراهم نمودن شرایط مناسب برای زیست میکروارگانیسمها، محصولات نهایی میکروبی و بیوسنتزی آنها را جهت بر طرف نمودن بخشی از نیازهای غذایی خود مورد استفاده قرار می دهد. با اینکه اساساً هضم شامل شکسته شدن مولکولهای پیچیده به مواد ساده تر است اما تولید و سنتز سلولهای میکروبی نکته کلیدی فرایندهای هضمی در نشخوارکنندگان محسوب می گردد. بدین لحاظ تعیین ارزش بالقوه یک خوراک از نظر تأمین یک ماده مغذی خاص که بوسیله تجزیه شیمیایی قابل تعیین است نمی تواند ارزش حقیقی آن را برای حیوان مشخص نماید. پیچیدگی اکوسیستم شکمبه موجب گردیده است تا امروزه قابلیت هضم یک خوراک بر اساس مبانی کمی تغییرات و مدلهای ریاضی توصیف گردد. دانشمندان علم تغذیه از چندین دهه پیش تکنیکهای گوناگونی را جهت تعیین قابلیت هضم خوراک در دستگاه گوارش پیشنهاد کرده اند. روشهای *In vivo* یا تعیین قابلیت هضم با استفاده از حیوان زنده، *In vitro* یا تعیین قابلیت هضم با کمک تقلید شرایط شکمبه در آزمایشگاه، *in situ* یا تعیین تجزیه پذیری و قابلیت هضم با استفاده از کیسه های نایلونی[1] و حیوان فیستوله و کانولاگذری شده و برخی روشهای خاص نظیر استفاده از معرفها یا اشعه فروسرخ قرمز[2] (NIR) از جمله این تکنیکهاست. در بخشهای بعد به اختصار هر یک از تکنیکهای فوق را

[1]- Nylon Bag
[2] - Near Infrred

بررسی نموده و سپس به تفصیل روشهای کیسه های نایلونی متحرک[1] را مورد ارزیابی قرار داده خواهد شد.

کمبود مواد خوراکی دامی از عوامل عمده محدود کننده دامپروری کشور در تولید فراورده‌های با ارزش دامی می‌باشد برای رفع قسمتی از این کمبودها بنظر می‌رسد که استفاده از امکانات موجود بخصوص بقایای محصولات کشاورزی که مقدار قابل ملاحظه‌ای در کشور تولید می‌گردد از اقدامات اساسی می‌باشد. از این گونه تولیدات می توان پوش کشمش ، ضایعات کارخانجات ماکارونی سازی ، تفاله گوجه فرنگی ، تفاله سیب ، وتفاله انگور را نام برد. پوش کشمش از کارخانجات کشمش پاک کنی بدست می آید و شامل ساقه ، ساقـچه های خوشه انگـور و کشـمـش های وازده می شود . برای استفاده از این ضایعات لازم است که این مواد را مورد ارزیابی قرار داده واز ترکیبات آنها آگاهی داشت. برای این منظور می توان از روش تجزیه تقریبی خوراک استفاده کرد . ولی اطلاعات بدست آمده از این روش کافی نیست واگر این اطلاعات به عنوان تنها منبع ارزیابی خوراک مورد استفاده قرار گیرد باعث گمراهی در ارزیابی خوراک می شود وبه همین منظور خوراک باید در مراحل بعدی از لحاظ قابلیت تجزیه پذیری ، قابلیت هضم وهمچنین در مورد ضایعات کشاورزی از لحاظ خوشخوراکی مورد ارزیابی قرار گیرد. برای این منظور از روشهای *In vivo* (استفاده از حیوان زنده) ، *In situ* (استفاده از کیسه های نایلونی) و *In vitro* (روش تولید گاز) برای ارزیابی خوراک استفاده می کنند .

[1] - Mobile Nylon bag

بررسی منابع

روشهای اندازه گیری قابلیت هضم

۱-۱- تعیین قابلیت هضم با استفاده از حیوان زنده (*In vivo*)

در این روش مقادیر مشخصی از خوراک به حیوان داده می شود و مدفوع دفعی جمع آوری می‌شود. در طی آزمایش باید وعده های خوراکی در زمانی مشابه و مقداری یکسان در اختیار دام قرار گیرد. در این حالت خروج مدفوع ناشی از خوراک مصرفی کمتر از واقعیت برآورد گردیده و قابلیت هضم بیشتر از واقعیت تخمین زده می شود. از آنجایی که بعضی از مواد خوراکی، از قبیل مواد دانه‌ای و متراکم را نمی‌توان به تنهایی برای تعیین قابلیت هضم به دام داد، لذا از خوراک پایه که معمولاً یونجه یا کاه می باشد استفاده گردیده و اثر تجمعی این دو خوراک را با استفاده از روش اختلاف یا معادلات تابعیت تعیین می کنند. در مجموع این روش پر هزینه بوده و به کار و زمان زیادی نیاز دارد (Akeson و Stahmann، ۱۹۶۱). یکی از روشهای برآورد قابلیت هضم به کمک حیوان زنده استفاده از مارکرها می باشد. بطور قراردادی قابلیت هضم علوفه در بین مقادیر متفاوت مصرف و دفع در مدفوع متفاوت است و مستلزم تخمین میزان مصرف خوراک و کل مدفوع دفع شده می باشد. قابلیت هضم ظاهری علوفه یا خوراک را می توان با استفاده از مارکرهای داخلی و یا افزودن یک مارکر خارجی به جیره غذایی به میزان مشخص، و نمونه برداری از مدفوع پس از رسیدن به مرحله یکنواختی (Steady-State) تخمین زد. مزیت استفاده از مارکرها جهت تخمین قابلیت هضم مواد خوراک عدم نیاز به جمع آوری کل مدفوع با نمونه برداری از مدفوع دفعی می باشد که سبب کاهش هزینه و زحمت کار خصوصاً در مطالعاتی که از علفخواران بزرگ استفاده می شود ، خواهد شد .

قابلیت هضم ماده خشک را می توان با استفاده از معادله زیر برآورد کرد:

قابلیت هضم ماده خشک (گرم در کیلو گرم) = ۱۰۰۰ [۱ – (Mh/Mf)]

Mh : غلظت مارکر در علوفه (یا هر ماده خوراکی)

MF : غلظت مارکر درمدفوع

از این روش می توان جهت برآورد قابلیت هضم مواد مغذی موجود در ترکیب مواد خوراکی نیز استفاده کرد. از معادله زیر می توان به این منظور استفاده کرد:

[(Mh/Mf)× (Nf/Nh)] ×۱۰۰۰ -۱۰۰۰ = (گرم در کیلو گرم) قابلیت هضم مواد مغذی مورد نظر

Mh :غلظت مارکر در علوفه (یا هر ماده خوراکی)

MF : غلظت مارکر در مدفوع

Nf : غلظت ماده مغذی در مدفوع

Nh: غلظت ماده مغذی در علوفه

معادلات پیشنهاد شده در بالا با این فرض است که مارکر مورد استفاده بطور کامل از طریق مدفوع دفع می شود و قابل جذب نیست و دوم مارکر به مرحله یکنواختی (Steady-State) در دستگاه گوارش رسیده و بعد نمونه گیری انجام شده است.

۱-۲- مقایسه قابلیت هضم حقیقی با قابلیت هضم ظاهری

مدفوع حاوی موادی است که فقط منشاء خوراکی ندارد بلکه بخشی از آن از منشاء اندوژنوسی و میکرواورگانیسم های دستگاه گوارش می باشد. حضور مواد با منشاء غیر از جیره غذایی در مدفوع نشان دهنده این است که قابلیت هضم بدست آمده به جزء برای فیبر که منشاء داخلی ندارد، واقعی نیست. قابلیت هضم ظاهری از قابلیت هضم واقعی کمتر است. قابلیت هضم ظاهری بعضی از عناصر، عصاره اتری و نیتروژن اغلب با قابلیت هضم حقیقی آنها فاصله زیادی دارد.

میزان دفع نیتروژن میکروبی و اندوژنوس (نیتروژن متابولیکی مدفوع) تحت تأثیرمیزان ماده خشک مصرفی است. انجمن ملی تحقیقات آمریکا میزان دفع نیتروژن متابولیکی مدفوع را ۳۰ گرم در ازای هر کیلوگرم ماده خشک مصرفی در نظر گرفته است. به دلیل رابطه بین میزان ماده خشک مصرفی و نیتروژن متابولیکی مدفوع تفاوت بین قابلیت هضم ظاهری و حقیقی نیتروژن با کاهش نیتروژن جیره یا ماده خوراکی مصرفی افزایش می‌یابد(NRC، ۲۰۰۱). در بعضی حالات دفع نیتروژن متابولیکی مدفوع تحت تأثیر دسترسی انرژی در قسمت های انتهای دستگاه گوارش مثل روده کور و روده فراخ که تخمیر میکروبی وجود دارد قرار می گیرد.در این شرایط تولید پروتئین میکروبی در این قسمتها افزایش پیدا می‌کند ولی جذب پروتئین میکروبی در این ناحیه وجود ندارد. بنابراین افزایش

عرضه کربوهیدراتها در روده دفع نیتروژن متابولیکی مدفوع را افزایش می‌دهد (Mathers و Miller، ۱۹۸۱).

قابلیت هضم ظاهری پروتئین خوراک با افزایش سطح پروتئین خوراک تحت تاثیر قرار می‌گیرد زیرا در این حالت میزان نیتروژن با منشاء اندوژنوس ثابت است(Mathers و Miller، ۱۹۸۱). قابلیت هضم حقیقی همیشه ثابت است و تابع سطح پروتئین دریافتی نیست.

روشهای مختلفی برای برآورد نیتروژن متابولیکی مدفوع وجود دارد. در تک معده‌ایها از جیره‌های فاقد پروتئین به این منظور استفاده می‌شود. در این حالت میزان نیتروژن دفعی از طریق مدفوع دامهایی که از جیره فاقد نیتروژن مصرف کنند را نیتروژن متابولیکی مدفوع می نامند. اما در نشخوار کنندگان اغلب نیتروژن متابولیکی را از طریق دادن مقدار مشخصی خوراک دارای غلظتهای متفاوت پروتئین، با استفاده از معادلات رگرسیونی پیش بینی می‌شود. در نشخوارکنندگان که برای قسمتی از هضم وابسته به میکروارگانیسم‌های هستند دادن جیره‌های فاقد نیتروژن ایجاد مشکل می‌کند. اگر باکتریهای شکمبه به منبع نیتروژن دسترسی نداشته باشند نمی‌توانند به مدت طولانی فعالیت طبیعی خود را انجام دهند. در اوایل استفاده از چنین جیره‌ها، نیتروژن از طریق بزاق و بویژه دیواره شکمبه در اختیار میکروارگانیسم‌ها قرار می‌گیرد ولی باید توجه داشت که تمام باکتریها نیاز پروتئینی خود را از اوره تامین نمی‌کنند. مثلاً باکتریهای سلولایتیک عمده نیتروژن مورد نیاز خود را از آمونیاک تامین می‌کنند. ولی باکتریهای مصرف کننده کربوهیدراتهای غیر ساختمانی نیاز پروتئینی خود را از پپتیدها و اسیدهای آمینه تامین می کنند(NRC، ۲۰۰۱).

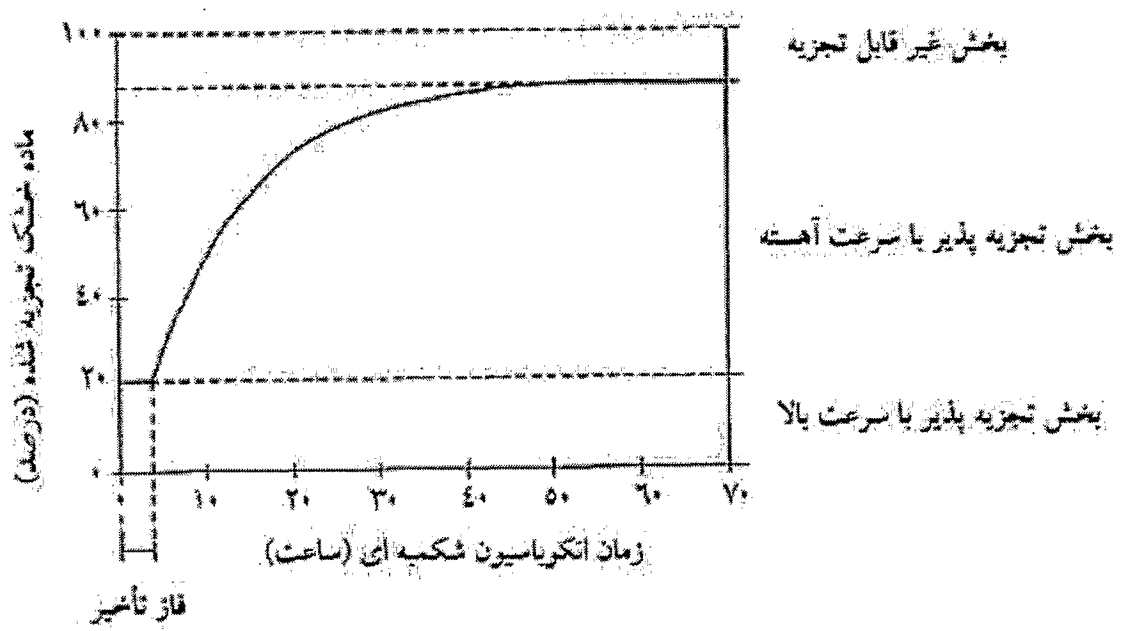
آیا نیتروژن متابولیکی مدفوع را باید بخشی از پروتئین جیره غذایی که بطور کامل مورد استفاده قرار نگرفته است دانست و یا اینکه باید به عنوان بخشی از احتیاجات حیوان به حساب آورده شود؟ بلکستر و میشل (۱۹۴۷ و ۱۹۴۸) بر این اعتقاد هستند که درست است که نیتروژن متابولیکی مدفوع

با جیره فاقد نیتروژن نیز دفع می‌شود ولی باید آنرا به عنوان بخشی از احتیاجات حیوان دانست زیرا نیتروژن از دست رفته از این طریق باید برای نگهداری کامل بافتها جایگزین شود .

۱-۳- روش کیسه های نایلونی (*in situ*)

تکنیک کیسه‌های نایلونی یا کیسه‌های پلی‌استر و داکرونی به طور وسیعی برای تخمین تجزیه پذیری مواد مغذی در شکمبه استفاده شده است. این روش شامل معلق گذاشتن کیسه‌های حاوی اقلام غذایی متفاوت در شکمبه و اندازه‌گیری ناپدید شدن مواد مغذی در فاصله‌های زمانی متفاوت است. بنابراین، این روش در مقایسه با روش های آزمایشگاهی دارای یک مزیت است و آن اینکه این روش فرایندهای هضمی که در شکمبه یک حیوان زنده اتفاق می‌افتد را در برمی‌گیرد. این روش توسط ارسکوف و مکدونالد در سال ۱۹۷۹ بیان شد و عمدتاً برای بررسی روند تجزیه پذیری نیتروژن استفاده می‌شد.

در این مدل، خوراک به سه بخش تقسیم بندی می شود (DMIlo، ۲۰۰۰):



شکل ۱ منحنی تجزیه پذیری ماده خشک در ساعات مختلف انکوباسیون

۱. بخش غیر قابل تجزیه که بعد از انکوباسیون بلند مدت نیز در داخل کیسه باقی می ماند.
۲. بخش غیر محلول ولی دارای پتانسیل تجزیه پذیری
۳. بخشی که دارای قابلیت تجزیه پذیری خیلی سریع می باشد. این بخش بلافاصله بعد از انکوباسیون ناپدید می شود. این بخش علاوه بر قسمت محلول مواد خوراکی، ذرات خیلی کوچک که در اثر شستن از کیسه خارج می‌شود را نیز شامل می‌شود.

تجزیه‌پذیری موثر مواد خوراکی با مدت زمان ماندگاری خوراک در شکمبه و آن نیز با سطح خوراک‌دهی حیوان همبستگی بالایی دارد، چون مصرف بالاتر خوراک منجر به خروج سریع‌تر غذا از شکمبه می شود. اندازه گیری مقادیر نسبی سرعت خروج مواد از شکمبه بر حسب ساعت (r)، مقادیری در دامنه ۰/۰۲ تا ۰/۰۸ در ساعت را بدست می دهد و مبین آن است که ۰/۰۲ تا ۰/۰۸ از کل محتویات، در هر ساعت شکمبه را ترک می‌نماید. ARC (۱۹۸٤) برآوردهایی از سرعت‌های خروج مناسب در رابطه با سطح خوراک‌دهی را به شرح زیر ارائه نمود (جعفری و نویدشاد، ۱۳۸۰) :

۱. حیواناتی که در سطح پایینی تغذیه می‌شوند، حدودا برابر سطح نگهداری (r = ۰/۰۲).
۲. گوساله‌ها، گاوهای شیری کم تولید، گاوهای گوشتی و گوسفند در سطح بالاتر خوراک دهی، اما کمتر از ۲ برابر نگهداری (r= ۰/۰۵).
۳. گاوهای شیری پر تولید بیش از ۲ برابر نگهداری (r=۰/۰۸).

فاکتورهای متعددی بر تخمین هضم مواد مغذی اثر می‌گذارند و باید در این تکنیک کنترل شوند تا شرایط استاندارد حفظ شود. این فاکتورها شامل خلل و فرج کیسه‌ها، نسبت وزن نمونه به مساحت کیسه، اندازهٔ ذرات نمونه، روش گذاشتن کیسه در شکمبه، جیره حیوان، دفعات تغذیه حیوان، و مقدار باکتری هایی که به غذای باقیمانده در کیسه چسبیده اند و ... می باشند.

الف- نسبت بین سطح کیسه و اندازه نمونه

مناسب‌ترین نسبت ۱۵ میلی‌گرم نمونه خشک در هر سانتی متر مربع می‌باشد (Michalet-Doreau و Ould-Bah، ۱۹۹۲ و Ørskov، ۱۹۹۲). نمونه انکوبه شده باید بتواند جهت تشکیل جمعیت‌های میکروبی به آزادی در داخل کیسه حرکت کند. از طرفی میزان نمونه باید جوری باشد که میزان باقی‌مانده برای آنالیزهای بعدی نیز کافی باشند. تعداد کیسه‌هایی که در هر حیوان گذاشته می‌شود بسته به گونه حیوان مغییر می‌باشد.

بنابراین در صورت زیاد بودن نسبت نمونه به سطح کیسه تشکیل جمعیت‌های میکروبی با اختلال روبه رو شده و در نتیجه تجزیه‌پذیری کاهش می‌یابد و در صورت کم بودن میزان نمونه به سطح آن باقی مانده به اندازه‌ای نیست که بتوان از آن برای آنالیزهای بعدی استفاده کرد.

ب- اندازه منافذ کیسه

مناسب‌ترین اندازه منافذ اندازه‌ای است که به مایعات شکمبه‌ای و میکرواورگانیسم‌ها اعم از پروتوزواها، باکتری‌ها و قارچ‌ها اجازه ورود به داخل کیسه را داده و از طرفی مواد تجزیه شده، میکرواورگانیسم‌ها و گازهای تولید شده هنگام تجزیه مواد به راحتی از آن خارج شوند. همچنین اندازه منافذ کیسه باید به گونه‌ای باشد که از خروج مواد تجزیه‌نشده جلوگیری کند. اندازه منافذ بین ۶۰-۴۰ میکرون به عنوان اندازه استاندارد پذیرفته شده است(Michalet-Doreau و Ould-Bah، ۱۹۹۲ و Ørskov، ۱۹۹۲).

پ- جیره حیوان میزبان

بهترین حالت ارزیابی مواد خوراکی این است که در جیره حیوان، خوراک مورد آزمایش وجود داشته باشد و حتی‌الامکان مشابه جیره حیواناتی باشد که اطلاعات بدست آمده برای بالانس آن‌ها استفاده می‌شود. اما به دلیل اینکه معمولاً چندین ماده خوراکی در روش کیسه های نایلونی مورد