نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان
جلد ششم، شماره چهارم، ۱۳۹۷
http://ejrr.gau.ac.ir

اثر عصاره الکلی ضایعات چای سبز بر تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای و قابلیت هضم روده‌ای کنجاله سویا

*محمد ناصحی[1]، نورمحمد تربتی‌نژاد[2]، مرتضی رضایی[3] و تقی قورچی[2]

[1]فارغ التحصیل دکتری و [2]استاد گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
[3]دانشیار موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج

تاریخ دریافت: ۹۶/۲/۱۱؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۶/۶

چکیده

سابقه و هدف: تجزیه شدن پروتئین جیره در شکمبه نشخوارکنندگان اغلب موجب هدر رفتن آن در حیوانات پرتولید می‌گردد. بدین منظور محافظت از پروتئین در حیوانات پرتولید که نیاز پروتئینی آن‌ها از ساخت پروتئین میکروبی قابل تامین نیست، ضروری می‌باشد. بنابراین پژوهش حاضر جهت بررسی اثر سطوح مختلف عصاره ضایعات چای سبز بر تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای و قابلیت هضم روده‌ای ماده خشک و پروتئین خام کنجاله سویا انجام گرفته است.

مواد و روش‌ها: به‌منظور عصاره‌گیری از ضایعات چای سبز، از یک حلال با نسبت ۱۰ میلی‌لیتر متانول، ۱۰ میلی‌لیتر اتانول و ۸۰ میلی‌لیتر آب مقطر در هر ۱۰۰ میلی‌لیتر استفاده شد. کنجاله سویا در سطوح صفر (شاهد)، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد ماده خشک با عصاره حاصل عمل‌آوری گردید. تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام با استفاده از ۲ راس گاو نر تالشی به روش کیسه‌های نایلونی در ساعات صفر، ۲، ٤، ٦، ٨، ١٢، ٢٤ و ٤٨ ساعت و قابلیت هضم روده‌ای آن به روش برون‌تنی اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: عمل‌آوری در تمامی ساعات انکوباسیون مقدار تجزیه‌پذیری ماده خشک کنجاله سویا را به‌طور معنی‌داری کاهش داد (P< ۰/۰۵). پس از ٤٨ ساعت انکوباسیون تجزیه‌پذیری پروتئین خام تیمارهای عمل‌آوری شده با سطوح ۵ و ۱۰ درصد تفاوت آماری معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت (P< ۰/۰۵) اما سطوح ۱۵ و ۲۰ درصد عصاره به‌طور قابل توجهی تجزیه‌پذیری پروتئین خام را نسبت به تیمار شاهد کاست (P< ۰/۰۵). بخش سریع تجزیه ماده خشک کنجاله سویا در تیمارهای عمل‌آوری شده با سطوح ۱۵ و ۲۰ درصد عصاره به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت (P< ۰/۰۵). بخش سریع تجزیه پروتئین خام در کلیه سطوح عمل‌آوری نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی‌داری پیدا کرد (P< ۰/۰۵). بخش کند تجزیه و پتانسیل تجزیه‌پذیری ماده خشک در تیمارهای عمل‌آوری شده نسبت به تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (P< ۰/۰۵). بخش کند تجزیه پروتئین خام در تیمارهای شاهد و عمل‌آوری شده با ۵ و ۱۰ درصد عصاره تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند، اما سطوح ۱۵ و ۲۰ درصد عصاره مقدار این بخش را نسبت به تیمار شاهد به‌طور قابل توجهی کاهش داد (P< ۰/۰۵). نرخ ثابت تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند. تجزیه‌پذیری موثر ماده خشک و پروتئین خام (در سرعت‌های عبور ۲، ۵ و ۸ درصد) در اثر عمل‌آوری کاهش یافت (P< ۰/۰۵). قابلیت هضم روده‌ای ماده خشک تیمارهای

*نویسنده مسئول: nasehi.md65@gmail.com

عمل‌آوری شده با سطوح ۵ و ۱۰ درصد عصاره به‌طور معنی‌داری از سایر تیمارهای آزمایشی بیشتر بود ولی سطح ۲۰ درصد عصاره منجر به کاهش آن شد (P< ۰/۰۵). قابلیت هضم روده‌ای پروتئین خام نیز در تیمارهای عمل‌آوری شده با ۵ و ۱۰ درصد عصاره از سایر تیمارها بیشتر بود اما عمل‌آوری با ۲۰ درصد عصاره منجر به کاهش آن گردید (P< ۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: عمل‌آوری کنجاله سویا با عصاره ضایعات چای سبز می‌تواند موجب کاهش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای آن گردد. با توجه به نتایج حاصل از اندازه‌گیری قابلیت هضم روده‌ای ماده خشک و پروتئین خام، سطوح ۵ و ۱۰ درصد عصاره ضایعات چای سبز موجب بهبود جذب روده‌ای کنجاله سویا شده و می‌تواند برای محافظت از پروتئین خام آن در مقابل تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: پروتئین خام، تانن، ضایعات چای سبز، کیسه‌های نایلونی

مقدمه

بازده استفاده از پروتئین در جیره نشخوارکنندگان به‌دلیل تجزیه شدن وسیع در شکمبه پایین می‌باشد. تجزیه شکمبه‌ای اغلب موجب هدر رفتن پروتئین جیره به‌ویژه در حیوانات پرتولید می‌گردد. محافظت از پروتئین در این دسته از حیوانات که نیاز پروتئینی آن‌ها فقط از ساخت پروتئین میکروبی قابل تامین نیست، ضروری می‌باشد. بنابراین گرایش قابل توجهی به کاهش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین در این حیوانات وجود دارد (۵). تحقیقات نشان داده‌اند که تغذیه منابع پروتئینی که به تجزیه میکروبی در شکمبه مقاوم بوده اما در بخش‌های بعدی دستگاه گوارش قابل استفاده می‌باشند، به‌طور چشمگیری مقدار رشد، تولید شیر و پروتئین شیر را افزایش می‌دهد (۲۷، ۳۲ و ۳٤). بر این اساس، روش‌های عمل‌آوری متفاوتی از قبیل حرارت و استفاده از فرمالدئید برای حفاظت از پروتئین در مقابل تجزیه شدن در شکمبه و ایجاد پروتئین عبوری از شکمبه به قسمت‌های بعدی دستگاه گوارش مورد استفاده قرار گرفته است (۱۱، ۷ و ٦). این روش‌های عمل‌آوری ممکن است قابلیت زیست فراهمی روده‌ای برخی اسیدهای آمینه از جمله لیزین، سیستئین، تیروزین و لوسین را کاهش دهند (۳ و ۲٦). علاوه بر آن، افزایش مصرف‌کنندگان متقاضی مواد خوراکی طبیعی و سالم، موجب گسترش شیوه ارگانیک پرورش حیوانات شده که از ویژگی‌های آن عدم آسیب به محیط زیست، نگهداری حیوانات در سلامت کامل با بالاترین استانداردهای رفاه و عدم استفاده از محرک‌های رشد معمول، ضایعات حیوانات یا دیگر افزودنی‌های شیمیایی به جیره حیوانات می‌باشد. بنابراین افزودن فرمالدئید یا دیگر ترکیبات شیمیایی برای حفاظت از پروتئین در مقابل تجزیه شکمبه‌ای با اهداف پرورش ارگانیک حیوانات تطابق ندارد (۵). بدین‌منظور جست‌وجو برای یافتن یک جایگزین جهت حفاظت از پروتئین جهت بهبود استفاده از پروتئین و بازدهی حیوانات ضروری به نظر می‌رسد. بر این اساس، گرایش فراوانی به استفاده از تانن‌های متراکم در جیره، برای حفاظت از پروتئین ایجاد شده است (۵).

چای سبز دارای تانن و ساپونین قابل توجهی می‌باشد (۲۳). تانن‌های متراکم با پروتئین‌ها از طریق گروه‌های هیدروکسیل فنولیک تانن ایجاد پیوند می‌نمایند. تانن‌های متراکم بسته به ساختار شیمیایی و مقدار آن‌ها در جیره ممکن است آثار سودمند یا نامطلوبی داشته باشند. اثرات مفید تانن‌های متراکم با توانایی آن‌ها برای افزایش استفاده از پروتئین جیره در نشخوارکنندگان مرتبط است. اثرات سودمند تغذیه‌ای تانن‌های متراکم (کاهش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای

پروتئین) توسط سایر محققین گزارش شده است (۱). تانن‌های متراکم پیوندهایی را با پروتئین‌ها تشکیل می‌دهند که در محدوده pH =۳/۵-۷ پایدار می‌باشد اما در شیردان و دوازدهه (pH= ۳/۵) این پیوندها از بین می‌روند (۱۰). این پیوندها پروتئین‌ها را از تجزیه میکروبی و دی‌آمیناسیون در شکمبه محافظت کرده و قابلیت دسترسی پروتئین‌های خوراک را برای هضم افزایش داده و موجب افزایش جذب اسیدهای آمینه در روده می‌گردند (۵). فروتوس و همکاران (۲۰۰۰) از تانن متراکم تجاری (Quebracho) برای محافظت از کنجاله سویا در مقابل تجزیه شکمبه‌ای استفاده نمودند. این محققین کاهش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین را در اثر استفاده از این ترکیب مشاهده کردند. در این تحقیق قابلیت هضم آزمایشگاهی پروتئین غیرقابل تجزیه با استفاده از سطوح کم تانن تحت تاثیر قرار نگرفت اما ۲۵ گرم تانن متراکم موجب کاهش قابلیت هضم روده‌ای کنجاله سویا شد. (۸). دنتینهو و همکاران (۲۰۰۷) نیز کاهش در تجزیه-پذیری موثر شکمبه‌ای پروتئین کنجاله سویا عمل-آوری شده با عصاره تانن مرکبات را گزارش نمودند. اما این پژوهشگران گزارش کردند که قابلیت هضم روده‌ای پروتئین در اثر عمل‌آوری کاهش یافت (٤).

بسیاری از ساپونین‌ها موجب کاهش غلظت آمونیاک در شکمبه می‌شوند (۱۵، ۱٦ و ۱۷). اما این اثرات در بین تحقیقات یکسان نیست. آمونیاک در شکمبه از طریق تجزیه پروتئین جیره و یا پروتئین میکروبی تولید می‌شود (۱٤). اثرات ساپونین‌ها بر فعالیت پروتوزوآ و در پی آن کاهش بازچرخه پروتئین باکتریایی (۳۰) ممکن است به تشریح اثر ساپونین‌ها بر غلظت آمونیاک شکمبه کمک کند. اما این مساله که چه مقدار ساپونین از تجزیه پروتئین در شکمبه جلوگیری می‌کند، هنوز مشخص نشده است. میوتیزل و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که ساپونین مانع از تجزیه پروتئین در شرایط برون تنی نشد (۱۸). وانگ و همکاران (۱۹۹۸) دریافتند که عصاره یوکا تجزیه کازئین را در دستگاه تخمیر کننده پیوسته افزایش داد، اما این اثر قابل توجه نبود (۳۳). همچنین، نیوبولد و همکاران (۱۹۹۷) روند مشابهی را در مایع شکمبه گوسفند دریافت کننده ساپونین عنوان کردند (۲۰).

به‌طور کلی اطلاعات جامع در رابطه با اثر عصاره حاصل از ضایعات چای سبز بر تجزیه‌پذیری شکمبه-ای کنجاله سویا موجود نیست. بنابراین، پژوهش حاضر به‌منظور بررسی اثر عصاره حاصل از ضایعات چای سبز بر تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای و قابلیت هضم روده‌ای ماده خشک و پروتئین خام کنجاله سویا انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در موسسه تحقیقات علوم دامی کشور واقع در شهرستان کرج انجام شد. آزمایش‌های مربوط به ترکیبات شیمیایی در آزمایشگاه تغذیه دام و طیور وآزمایش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای در آزمایشگاه تغذیه و فیزیولوژی این موسسه به انجام رسید.

عصاره‌گیری از ضایعات چای سبز و عمل‌آوری کنجاله سویا با عصاره: ضایعات چای سبز با همکاری موسسه تحقیقات چای کشور از شهرستان لاهیجان واقع در استان گیلان تهیه شده و پس از انتقال به آزمایشگاه در آون با دمای ٤۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷۲ ساعت خشک و سپس با آسیاب دارای الک ۱ میلی‌متری آسیاب گردید. به‌منظور عصاره‌گیری، ابتدا یک حلال با نسبت ۱۰ میلی‌لیتر متانول، ۱۰ میلی‌لیتر اتانول و ۸۰ میلی‌لیتر آب مقطر در هر ۱۰۰ میلی‌لیتر تهیه شد. این حلال با نسبت ۱ به ۸ (۱ گرم ضایعات چای به ۸ میلی‌لیتر حلال) با ضایعات چای ترکیب گردید. ضایعات چای مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۵ تا ۳۰

درجه سانتی‌گراد در حلال خیسانده شد. بعد از آن، ظرف حاوی نمونه مدت ١ ساعت در دمای ٣٩ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس محتویات ظرف از کاغذ صافی عبور داده شد و عصاره حاصل جمع‌آوری گردید. عصاره حاصل برای استفاده جهت اندازه‌گیری ترکیبات موجود و فرآوری کنجاله سویا پس از تبخیر در دمای ٥٠ درجه سانتی‌گراد به شکل پودر تبدیل شد (٢٤).

به‌منظور عمل‌آوری کنجاله سویا با عصاره ضایعات چای سبز، به‌ترتیب مقادیر ٥، ١٠، ١٥ و ٢٠ گرم از عصاره خشک و پودر شده مذکور در ١٠٠ میلی‌لیتر آب مقطر حل شده و سپس بر روی نمونه‌های آزمایشی (کنجاله سویا) اسپری شد. نمونه‌های کنجاله سویا مدت ٤ ساعت در دمای ٢٥ درجه سانتی‌گراد در آزمایشگاه نگهداری شده و سپس در دمای ٤٠- ٣٥ درجه سانتی‌گراد مدت ٢٤ ساعت در آون خشک شده و با استفاده از آسیاب دارای الک ٢ میلی‌متری جهت انجام آزمایش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای آسیاب و در شرایط آزمایشگاه (دمای ٢٥ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد (٢٤).

آزمایش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای: آزمایش تجزیه‌پذیری با ٢ راس گاو نر تالشی (دارای فیستولای شکمبه‌ای) با میانگین وزنی ٣٥٠ کیلوگرم انجام گرفت. گاوها با یک جیره پایه حاوی یونجه خشک، کاه گندم و کنسانتره (٣٠ درصد کنسانتره، ٧٠ درصد علوفه) در سطح احتیاجات نگهداری براساس توصیه NRC (٢٠٠١) تغذیه شدند (١٩). خوراک‌دهی روزانه در دو وعده مساوی در ساعتهای ٠٠: ٨ و ٠٠: ١٨ صورت می‌گرفت تا محیط شکمبه در شرایط ثابتی نگه داشته شود. آب و سنگ نمک نیز به‌طور آزاد در دسترس دام‌ها قرارداشت. به‌منظور اندازه‌گیری تجزیه‌پذیری، در هر کیسه (ابعاد کیسه‌ها ١٤× ٥ و قطر منافذ آن‌ها ٤٠ تا ٦٠ میکرون بود) ٥ گرم از هرنمونه (کنجاله سویا فرآوری شده با سطوح صفر، ٥، ١٠، ١٥ و ٢٠ درصد عصاره ضایعات چای سبز) قرار داده شد و لوله‌هایی از جنس پلاستیک نرم به طول ٣٠ سانتی‌متر نیز جهت قرار دادن کیسه‌ها در شکمبه مورد استفاده قرار گرفتند.

کلیه کیسه‌های حاوی نمونه‌های مواد خوراکی قبل از قرار دادن در شکمبه، در یک ظرف حاوی آب ٣٩ درجه سانتی‌گراد به مدت ٥ دقیقه قرار داده شد. سپس کیسه‌های نایلونی حاوی نمونه‌ها از طریق فیستوله وارد شکمبه شده (در هر گاو ٢ تکرار از هر تیمار برای هر ساعت) و تا پایان زمان شکمبه‌گذاری، درب فیستوله محکم بسته شد. بعد از گذشت زمان‌های مورد نظر (٢، ٤، ٦، ٨، ١٢، ٢٤ و ٤٨ ساعت) کیسه‌ها از شکمبه خارج و به منظور توقف فعالیت میکروارگانیسم‌ها بلافاصله در یک ظرف حاوی آب سرد قرار داده شدند. سپس کیسه‌ها به مدت ٣٠ دقیقه با ماشین لباس‌شویی مورد شست و شو قرار گرفتند. کیسه‌ها برای خشک شدن مدت ٤٨ ساعت در آون با دمای ٥٥ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. اختلاف وزن نمونه‌های خشک شده با وزن قبل از شکمبه‌گذاری بیانگر میزان تجزیه‌پذیری ماده خشک نمونه در زمان مربوطه می‌باشد. برای برآورد میزان تجزیه‌پذیری در زمان صفر یا به‌طور دقیق‌تر میزان مواد محلول در آب، کیسه‌های حاوی مواد خوراکی پس از توزین به مدت ٣٠ دقیقه در ماشین لباس‌شویی قرار داده شدند. آن‌گاه کیسه‌ها خارج شده، و به مدت ٤٨ ساعت در آون با دمای ٥٥ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. اختلاف وزن محتویات این کیسه‌ها با نمونه شسته نشده بیانگر میزان تجزیه‌پذیری نمونه در زمان صفر می‌باشد (٢٤).

برای اندازه‌گیری تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین خام کنجاله سویا، پس از اندازه‌گیری تجزیه‌پذیری ماده خشک، با احتساب اختلاف پروتئین خام در

نمونه‌های کنجاله سویا قبل و بعد از شکمبه‌گذاری مقدار تجزیه‌پذیری پروتئین خام به‌دست آمد.

برآورد فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام نمونه‌های آزمایشی با استفاده از معادله ارسکوف و همکاران (۱۹۷۹) و با استفاده از نرم‌افزار *Fitcurve* محاسبه شد (۲۲). در این راستا رابطه ۱ مورد استفاده قرار گرفت

$$P=a+b(1-e^{-ct}) \quad \text{رابطه (۱)}$$

P= مقدار تجزیه‌پذیری ماده مغذی در زمان t، a= بخش سریع تجزیه که به سرعت ناپدید می‌شود (درصد)، b = بخش کند تجزیه که بالقوه قابل تجزیه می‌باشد (درصد)، c = نرخ ثابت تجزیه بخش b (درصد بر ساعت)، t= زمان تخمیر در شکمبه، e= مبنای لگاریتم نپری (برابر با ۲/۷۱۸۲)

اندازه‌گیری قابلیت هضم روده‌ای: اندازه‌گیری قابلیت هضم روده‌ای ماده خشک و پروتئین خام کنجاله سویا با استفاده از روش سه مرحله‌ای برون تنی انجام گرفت. بدین منظور ۵ گرم از نمونه‌های آزمایشی (کنجاله سویا فرآوری شده با سطوح صفر، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد عصاره ضایعات چای سبز) به‌وسیله کیسه‌های نایلونی و از طریق فیستولا مدت ۱۲ ساعت در شکمبه هر گاو قرار داده شد. سپس کیسه‌ها از شکمبه خارج شده و در زیر شیر آب سرد شسته شده تا آب خروجی از آن روشن گردد. سپس نمونه‌ها در آون با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤٨ ساعت خشک گردید. نمونه‌های خشک شده با یکدیگر مخلوط شده و از مخلوط حاصل چند نمونه برای اندازه‌گیری پروتئین خام به‌کار رفت. ۰/۵ گرم از هر نمونه را در داخل کیسه‌های نایلونی مخصوص قرار داده و ۳ کیسه نایلونی خالی به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. ۳۰ کیسه نایلونی در بطری حاوی ۲ لیتر محلول اسید کلرید ۱ نرمال که قبلا گرم شده و pH آن در حدود ۱/۹ بود به‌علاوه ۱ گرم در لیتر پپسین به‌مدت ۱ ساعت بر روی یک شیکر در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد با دور ثابت قرار گرفت. پس از آن کیسه‌های نایلونی مورد شست‌وشو قرار گرفته و در داخل بطری حاوی ۲ لیتر محلول پانکراتین (KH_2PO_4 ۰/۵ مولار با pH ۷/۷۵، ۵۰ قسمت در میلیون تیمول و ۳ گرم در لیتر پانکراتین) که گرم شده، قرار گرفته و مدت ٢٤ ساعت با یک حالت چرخشی ثابت در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در نهایت پس از انکوباسیون کیسه‌های نایلونی با استفاده از جریان آب سرد شسته شده تا آب خروجی از آن‌ها شفاف گردد. سپس در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤٨ ساعت خشک شده و مقدار ماده خشک و پروتئین خام موجود در آن‌ها اندازه‌گیری گردید. قابلیت هضم روده‌ای ماده خشک و پروتئین خام کنجاله سویا از کسر مقدار ماده خشک و پروتئین خام حاصل از نمونه‌ها پس از انجام مراحل فوق از مقدار ماده خشک و پروتئین خام نمونه‌ها پس از انکوباسیون در شکمبه به‌دست آمد (۹ ؛ ٣٦).

اندازه‌گیری ترکیب شیمیایی: اندازه‌گیری کل ترکیب فنلی قابل استخراج، تانن کل، تانن متراکم و تانن قابل هیدرولیز بر اساس روش هاگرمن (۲۰۰۰) انجام شد. به‌منظور اندازه‌گیری کل ترکیب فنلی قابل استخراج، مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از نمونه‌های آزمایشی که با الک به قطر یک میلی‌متر آسیاب شده بودند، داخل لوله آزمایش ریخته شدند. سپس مقدار ۵ میلی‌لیتر استون آب‌دار ۷۰ درصد جهت عصاره‌گیری، به محتویات لوله اضافه شده و مخلوط شدند. وقتی عصاره شفاف شد و در بالای لوله آزمایش قرار گرفت، آن‌ها را سانتریفیوژ (با ۳۰۰۰ دور در دقیقه) کرده و بعد درب لوله‌ها با پارافیلم مسدود شدند. مقدار ۰/۵ گرم اسید تانیک را در ۱۰۰ میلی‌لیتر استون ۷۰ درصد حل کرده و ۱۰ میلی‌لیتر از این عصاره، به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس مقادیر صفر، ۱۰، ۲۰، ٤٠، ٦٠، ٨٠

و ١٠٠ میکرولیتر از این عصاره با آب مقطر به حجم یک میلی‌لیتر رسید. در مرحله بعد ١٠٠ میکرولیتر از عصاره هر نمونه با ٩٠٠ میکرولیتر آب مقطر رقیق شده و به آن‌ها ٥٠٠ میکرولیتر محلول فولین شیکالتو (یک مولار) و ٢/٥ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم ٢٠ درصد اضافه گردیدند. پس از اختلاط کامل، میزان جذب نور آن‌ها در طول موج ٧٢٥ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت شد. جهت اندازه‌گیری تانن کل، مقدار ١٠٠ گرم پلی وینیل پلی پیرولیدون در لوله آزمایش ریخته شد و یک میلی‌لیتر آب مقطر و ٢ میلی‌لیتر عصاره حاوی تانن استخراج شده، به آن اضافه گردید. مخلوط کاملا یکنواخت شده و به مدت ١٥ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس آن‌ها برای ١٠ دقیقه سانتریفیوژ (٣٠٠٠ دور در دقیقه) شده و عصاره بالایی جمع‌آوری شدند. در داخل هر لوله حاوی عصاره، ٥٠٠ میکرولیتر محلول فولین شیکالتوی یک مولار و ٢/٥ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم ٢٠ درصد ریخته و پس از اختلاط کامل میزان جذب نور در طول موج ٧٢٥ نانومتر خوانده شد. برای تعیین تانن متراکم مقدار ٠/٥ میلی‌لیتر از عصاره تیمارهای آزمایشی در لوله‌های آزمایشی با درپوش مخصوص، ریخته و به هر لوله ٣ میلی‌لیتر بوتانول- اسید کلریدریک و ٠/١ میلی‌لیتر فریک آمونیوم سولفات اضافه شد. سپس درپوش مخصوص بسته و یک ساعت جوشانده شدند. پس از سرد شدن کامل، میزان جذب نور نمونه‌ها در طول موج ٥٥٠ نانومتر قرائت شدند. تانن قابل هیدرولیز از تفاوت مقدار تانن کل و تانن متراکم حاصل گردید (١٢). اندازه‌گیری ساپونین به روش یوسیکا و همکاران (١٩٧٤) انجام گرفت (٣٥). بدین منظور مقدار ٥ گرم از هر نمونه خشک و آسیاب شده در داخل دستگاه سوکسله با استفاده از متیل الکل برای مدت ١٠ ساعت مورد استخراج قرار گرفت. سپس عصاره متیل الکل با استفاده از ٢٠ میلی‌لیتر آب مقطر رقیق شده و به یک قیف جداکننده به ظرفیت ٢٥٠ میلی‌لیتر انتقال داده شد. در مرحله بعد مقدار ١٠ میلی‌لیتر ان- بوتیل الکل به آن اضافه شده و قیف به‌مدت ١ دقیقه تکان داده شد. سپس لایه حاوی ان- بوتیل الکل داخل یک بشر ٥٠ میلی‌لیتری جمع‌آوری شده و مجددا این کار با استفاده از ٥ میلی‌لیتر ان- بوتیل الکل تکرار گردید. بخش قابل حل ان- بوتیل الکل تحت فشار پایین تغلیظ شده و در ٥ میلی‌لیتر متیل الکل حل شد. ٥ میلی‌لیتر از محلول به دست آمده به کمک هم‌زن شیشه‌ای در سه برابر حجم آن از اتر اضافه گشت. با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ١، محلول فوق صاف شد. کاغذ صافی حاوی رسوب ساپونین تحت خلاء خشک شده و پس از توزین مقدار ساپونین محاسبه گردید (٣٥).

مقادیر ماده خشک، خاکستر خام و پروتئین خام نمونه‌های کنجاله سویا براساس روش AOAC (٢٠٠٥) اندازه‌گیری شد (٢).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از طرح کاملا تصادفی استفاده گردید. در آزمایش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ٤ تکرار برای هر تیمار و در آزمایش قابلیت هضم روده‌ای ٦ تکرار برای هر تیمار استفاده شد. مدل آماری طرح به‌صورت زیر بود.

رابطه (٢) $Y_{ij} = \mu + T_{ij} + e_{ij}$

Y_{ij} = مقدار هر مشاهده، μ = میانگین صفت مورد آزمایش، T_{ij} = اثر تیمار، e_{ij} = خطای آزمایشی (باقیمانده)

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SAS ٩/١ (٢٠٠٢) و رویه GLM استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح خطای ٥ درصد انجام گرفت (٢٥).

نتایج و بحث

ترکیبات شیمیایی عصاره ضایعات چای سبز و تیمارهای آزمایشی: عصاره ضایعات چای سبز دارای ۱۲/۵۲±۰/۶۰درصد ترکیبات فنلی قابل استخراج، ۹/۴۹±۰/۵۱ درصد تانن کل، ۶/۷۳±۰/۵۳ درصد تانن متراکم، ۲/۷۶±۰/۷۹ درصد تانن قابل هیدرولیز و ۸/۳۷±۰/۴۰ درصد ساپونین کل بود (جدول ۱). دنتینهو و همکاران (۲۰۰۰) از عصاره حاصل از گیاه گل آفتابی جهت عمل‌آوری کنجاله سویا و بررسی تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای آن استفاده نمودند. این محققین مقدار ترکیبات فنولیک، تانن کل و تانن متراکم این عصاره را به‌ترتیب ۶/۴۰، ۳ و ۳/۱۵ درصد گزارش کردند که با عصاره حاصل از ضایعات چای سبز استفاده شده در پژوهش حاضر اختلاف قابل توجهی دارد (۴). عصاره گیاه آکاسیای بیدی و آرتیپلکس نیز در آزمایشی به‌منظور بررسی تاثیر آن‌ها بر تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای کنجاله سویا مورد مطالعه قرار گرفتند. عصاره گیاه آکسیای بیدی دارای ۶/۱۲ درصد ترکیبات فنولیک و ۲/۳۵ درصد ساپونین بود. مقدار ترکیبات فنولیک عصاره گیاه آرتیپلکس ۱۱/۲۹ درصد و ساپونین موجود در آن ۱۲/۳۸ درصد بود (۲۴). عصاره گیاه آرتیپلکس از نظر ترکیبات فنولیک تاحدودی مشابه عصاره ضایعات چای سبز بوده اما مقدار ساپونین آن از این عصاره بیشتر بود. مقادیر ماده خشک، پروتئین خام و خاکستر تیمارهای آزمایشی در جدول ۲ گزارش شده است.

تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای: اثر عصاره ضایعات چای سبز بر تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک کنجاله سویا در ساعات مختلف انکوباسیون در جدول ۳ گزارش شده است. پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در شکمبه، تجزیه‌پذیری ماده خشک تیمارهای عمل‌آوری شده با عصاره به‌طور معنی‌داری از کنجاله سویای عمل‌آوری نشده کمتر بود ($P<0/05$). تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک کنجاله سویا عمل‌آوری شده با ۵ و ۱۰ درصد عصاره در ساعت ۴۸ با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند. بین تیمارهای عمل‌آوری شده با ۱۰ و ۱۵ درصد عصاره نیز در این مورد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. تجزیه‌پذیری ماده خشک کنجاله سویا فرآوری شده با ۱۵ و ۲۰ درصد عصاره نیز از نظر آماری تفاوتی معنی‌داری با هم نداشتند.

جدول ۱- ترکیبات عصاره ضایعات چای سبز

Table 1. Green tea wastes extract compounds

ترکیبات Compounds	مقادیر (درصد ماده خشک) Contents (% Dry matter)
کل ترکیبات فنلی قابل استخراج TP[1]	12.52±0.60
تانن کل TT[2]	9.49±0.51
تانن متراکم CT	6.73±0.53
تانن قابل هیرولیز HT	2.76±0.79
ساپونین کل TS	8.37±0.40

1- Total extractable phenolic compound ،2 -Total Tannin ،3 -Condensed Tannin ،4 -Hydrolysable Tannin ،5 -Total Saponin، مقدار حاصل برای هر ترکیب میانگین ۳ تکرار می‌باشد.

بخش سریع تجزیه (a) ماده خشک کنجاله سویا در اثر عمل‌آوری با ۵ و ۱۰ درصد عصاره ضایعات چای سبز تفاوت معنی‌داری با کنجاله سویا عمل‌آوری نشده پیدا نکرد، ولی سطوح ۱۵ و ۲۰ درصد عصاره

مقدار این بخش را به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار عمل‌آوری نشده کاهش داد (P< ۰/۰۵). بین تیمارهای عمل‌آوری شده با سطوح ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد عصاره اختلاف معنی‌داری در رابطه با بخش سریع تجزیه ماده خشک وجود نداشت. تیمارهای عمل‌آوری شده با ۱۵ و ۲۰ درصد عصاره نیز تفاوت معنی‌داری در این بخش نداشتند (جدول ٤).

مقدار بخش کند تجزیه (b) ماده خشک در تیمارهای عمل‌آوری شده به‌طور معنی‌داری نسبت به کنجاله سویا عمل‌آوری نشده کاهش پیدا کرد (۰/۰۵ >P). بین تیمارهای عمل‌آوری شده با ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد عصاره در این رابطه اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. مقدار بخش کند تجزیه ماده خشک کنجاله سویای عمل‌آوری شده با ۲۰ درصد عصاره به‌طور معنی‌داری از تیمار عمل‌آوری شده با ۵ درصد عصاره کمتر بود (P< ۰/۰۵) (جدول ٤).

مقدار پتانسیل ($a+b$) تجزیه‌پذیری ماده خشک در اثر عمل‌آوری با سطوح مختلف عصاره به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کاهش پیدا کرد (P<۰/۰۵). بین تیمار عمل‌آوری شده با ۵ و ۱۰ درصد عصاره در این رابطه اختلاف معنی‌داری نبود. عمل‌آوری با ۱۵ درصد عصاره، مقدار پتانسیل تجزیه‌پذیری ماده خشک را به‌طور معنی‌داری نسبت به ۵ درصد عصاره کاهش داد (P< ۰/۰۵).

جدول ۲- درصد ماده خشک، پروتئین خام و خاکستر تیمارهای آزمایشی

Table 2. Dry matter, Crude protein and Ash contents (%) of Experimental treatments

تیمارهای آزمایشی Experimental treatments	ماده خشک DM	پروتئین خام CP	خاکستر Ash
کنجاله سویا Soybean meal	93.03±1.68	45.04±1.57	3.32±1.04
کنجاله سویا + ۵ درصد عصاره[1] Soybean meal + 5% extract	94.28±0.96	43.31±0.95	2.78±0.62
کنجاله سویا + ۱۰ درصد عصاره Soybean meal + 10% extract	92.76±1.41	44.34±2.03	3.45±1.28
کنجاله سویا + ۱۵ درصد عصاره Soybean meal + 15% extract	93.79±0.67	45.50±0.90	2.67±0.62
کنجاله سویا + ۲۰ درصد عصاره Soybean meal + 20% extract	94.01±1.47	43.53±2.07	3.02±0.50

[1] عصاره ضایعات چای سبز، مقدار حاصل برای هر یک ار ترکیبات شیمیایی میانگین ۳ تکرار می‌باشد.

بین تیمارهای عمل‌آوری شده با ۱۵ درصد عصاره و ۱۰ درصد در این مورد اختلاف معنی‌داری نبود. در تیمار دارای ۲۰ درصد عصاره، مقدار پتانسیل تجزیه‌پذیری به‌طور قابل توجهی از تیمار ۱۰ درصد عصاره کمتر بود (P<۰/۰۵). بین تیمارهای ۱۵ و ۲۰ درصد عصاره در این مورد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ٤).

نرخ ثابت (c) تجزیه‌پذیری ماده خشک در تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند (جدول ٤). تجزیه‌پذیری موثر ماده خشک (در سرعت‌های عبور ۲، ۵ و ۸ درصد)، در اثر عمل‌آوری با سطوح مختلف عصاره ضایعات چای سبز به‌طور قابل توجهی نسبت به تیمار عمل‌آوری نشده کاهش یافت (P< ۰/۰۵).

مقدار تجزیه‌پذیری پروتئین خام کنجاله سویا در اثر عمل‌آوری با عصاره ضایعات چای سبز پس از ٤٨ ساعت انکوباسیون، در تیمار عمل‌آوری شده با ۱۵ و

۲۰ درصد عصاره به‌طور قابل توجهی نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت (P< ۰/۰۵) (جدول ۵).

بخش سریع تجزیه (*a*) پروتئین خام تیمارهای عمل‌آوری شده با سطوح مختلف عصاره به‌طور قابل توجهی نسبت به تیمار عمل‌آوری نشده کاهش یافت (P< ۰/۰۵). بین تیمارهای عمل‌آوری شده با ۵ و ۱۰ درصد عصاره و همچنین بین تیمارهای دارای ۱۰ و ۱۵ درصد عصاره اختلاف معنی‌داری در این رابطه وجود نداشت. بخش سریع تجزیه پروتئین خام کنجاله سویای عمل‌آوری شده با ۲۰ درصد عصاره با این بخش در تیمار عمل‌آوری شده با ۱۵ درصد عصاره تفاوتی نداشت اما به‌طور معنی‌داری از سایر تیمارها کمتر بود (P< ۰/۰۵) (جدول ٦).

جدول ۳- اثر سطوح مختلف عصاره ضایعات چای سبز بر تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک (براساس درصد) کنجاله سویا در ساعات مختلف انکوباسیون.

Table 3. Effect of different level of green tea waste extract on ruminal dry matter degradability (%) of soybean meal in different incubation times

ساعات انکوباسیون Incubation times / تیمارهای آزمایشی Experimental treatments	0	2	4	6	8	12	24	48
کنجاله سویا Soybean meal	29.17^{a}	38.80^{a}	42.18^{a}	46.55^{a}	55.34^{a}	70.80^{a}	78.35^{a}	91.83^{a}
کنجاله سویا + ۵ درصد عصاره Soybean meal + 5% extract	27.49^{b}	38.15^{ab}	40.05^{b}	43.32^{b}	51.12^{b}	68.61^{ab}	73.70^{b}	86.57^{b}
کنجاله سویا + ۱۰ درصد عصاره Soybean meal + 10% extract	26.79^{bc}	38.07^{ab}	39.07^{bc}	42.15^{b}	50.17^{bc}	66.84^{b}	71.64^{b}	84.20^{bc}
کنجاله سویا + ۱۵ درصد عصاره Soybean meal + 15% extract	25.51^{cd}	35.93^{bc}	38.25^{c}	41.40^{b}	49.15^{bc}	63.72^{c}	68.46^{c}	82.40^{cd}
کنجاله سویا + ۲۰ درصد عصاره Soybean meal + 20% extract	24.67^{d}	33.85^{c}	35.11^{d}	41.32^{b}	47.29^{c}	59.95^{d}	68.51^{d}	79.95^{d}
P Value[1]	0.0001	0.001	0.0001	0.001	0.0007	0.0001	0.0001	0.0001
SEM[2]	0.69	1.00	0.77	1.07	1.42	1.28	1.23	1.17

[1]سطح احتمال؛ [2]خطای استاندارد میانگین؛ حروف غیرمشابه در هر ستون بیان‌گر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

The means within the same column with different letter have significant difference (P< 0.05).

بخش کند تجزیه (*b*) پروتئین خام تیمارهای کنجاله سویا عمل‌آوری نشده، عمل‌آوری شده با ۵ و ۱۰ درصد عصاره اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند، اما مقدار این بخش در تیمار عمل‌آوری شده با ۱۵ و ۲۰ درصد عصاره به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کمتر بود (P< ۰/۰۵). بین تیمار عمل‌آوری شده با ۱۵ و ۲۰ درصد عصاره در رابطه با بخش کند تجزیه پروتئین خام اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ٦).

پتانسیل تجزیه‌پذیری (*a+b*) پروتئین خام تیمارهای عمل‌آوری شده با عصاره به‌طور معنی‌داری از تیمار شاهد کمتر بود (P< ۰/۰۵). در بین تیمارهای آزمایشی کمترین مقدار پتانسیل تجزیه‌پذیری پروتئین خام به تیمار عمل‌آوری شده با ۲۰ درصد عصاره تعلق داشت (P< ۰/۰۵). بین تیمارهای عمل‌آوری شده با ۵ و ۱۰ درصد عصاره اختلاف معنی‌داری در رابطه با این بخش وجود نداشت (جدول ٦).

جدول ٤- اثر سطوح مختلف عصاره ضایعات چای سبز بر فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای و قابلیت هضم روده‌ای ماده خشک کنجاله سویا

Table 4. Effect of different level of green tea waste extract on ruminal degradability parameters and intestinal digestibility of soybean meal dry matter

IDMD	EDMD			c	(a+b)	b	a	فراسنجه‌های مورد بررسی Items
	k=0.08	k=0.05	k=0.02					تیمارهای آزمایشی Experimental treatments
57.14[b]	58.45[a]	66.05[a]	79.02[a]	0.067[a]	94.16[a]	65.50[a]	28.66[a]	کنجاله سویا Soybean meal
60.19[a]	55.37[b]	62.50[b]	74.52[b]	0.068[a]	88.57[b]	61.19[b]	27.38[ab]	کنجاله سویا + ٥ درصد عصاره Soybean meal + 5% extract
61.63[a]	54.07[b]	60.92[bc]	72.55[bc]	0.068[a]	86.05[bc]	59.04[bc]	27.01[ab]	کنجاله سویا + ١٠ درصد عصاره Soybean meal + 10% extract
55.31[bc]	52.20[c]	58.95[c]	70.40[cd]	0.066[a]	83.87[dc]	57.82[bc]	26.06[bc]	کنجاله سویا + ١٥ درصد عصاره Soybean meal + 15% extract
53.66[c]	45.95[d]	56.57[d]	68[d]	0.063[a]	81.64[d]	56.65[c]	24.99[c]	کنجاله سویا + ٢٠ درصد عصاره Soybean meal + 20% extract
0.001	0.0001	0.0001	0.0001	0.9	0.0001	0.0005	0.0006	P Value[7]
1.20	0.70	0.69	0.85	0.005	1.75	1.59	0.64	SEM[8]

a: بخش سریع تجزیه (درصد)؛ b: بخش کند تجزیه (درصد)؛ a+b: پتانسیل تجزیه‌پذیری (درصد)؛ c: نرخ ثابت تجزیه‌پذیری (درصد در ساعت)؛ EDMD: تجزیه‌پذیری موثر ماده خشک (درصد در سرعت‌های عبور ٢، ٥ و ٨)؛ IDMD: قابلیت هضم روده‌ای ماده خشک براساس درصد؛ 7- سطح احتمال؛ 8- خطای استاندارد میانگین؛ حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال 5 درصد می‌باشد.

a: Rapidly degraded fraction (%), b: Slowly degraded fraction (%), a+b: Potential of degradability, c: Constant rate of degradation (h-1), EDMD: Effective degradability of dry matter (in 2, 5 and 8% out follow rates), IDMD: Dry matter intestinal digestibility (%).The means within the same column with different letter have significant difference (P< 0.05).

نرخ ثابت تجزیه‌پذیری پروتئین خام تیمارهای آزمایشی اختلاف قابل توجهی با هم نداشت (جدول ٦). تجزیه‌پذیری موثر پروتئین خام (در سرعت‌های عبور ٢، ٥ و ٨ درصد) در اثر عمل‌آوری با عصاره نسبت به تیمار عمل‌آوری نشده کاهش یافت (P<٠/٠٥). تیمار عمل‌آوری شده با ٢٠ درصد عصاره دارای کمترین مقدار تجزیه‌پذیری موثر پروتئین خام (در تمامی سرعت‌های عبور) در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی بود (P< ٠/٠٥). بین تیمارهای عمل‌آوری شده با ٥ و ١٠ درصد عصاره اختلاف معنی‌داری در مورد تجزیه‌پذیری موثر در کلیه سرعت‌های عبور وجود نداشت (جدول ٦).

گیاهان انواع مختلفی از متابولیت‌های ثانویه را تولید می‌نمایند. بسیاری از این مواد دارای خواص ضد میکروبی هستند که ممکن است در تغییر فرآیند تخمیر در شکمبه مفید باشند (٣١). با توجه به جداول ٣، ٤، ٥ و٦ مشاهده می‌شود که عمل‌آوری کنجاله سویا با عصاره ضایعات چای سبز موجب کاهش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام آن شده است. مطابق با نتایج پژوهش حاضر، هرواس و همکاران (٢٠٠٠) گزارش کردند که میزان نیتروژن آمونیاکی در شکمبه گوسفند در اثر عمل‌آوری کنجاله سویا با تانیک اسید کاهش یافته است (١٣).

جدول ۵- اثر سطوح مختلف عصاره ضایعات چای سبز بر تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین خام (براساس درصد) کنجاله سویا در ساعات مختلف انکوباسیون

Table 5. Effect of different level of green tea waste extract on ruminal crude protein degradability (%) of soybean meal in different incubation times

48	24	12	8	6	4	2	0	ساعات انکوباسیون Incubation times تیمارهای آزمایشی Experimental treatments
87.58^{a}	84.86^{a}	65.39^{a}	46.61^{a}	35.68^{a}	30.15^{a}	26.50^{a}	23.40^{a}	کنجاله سویا Soybean meal
85.02^{ab}	82.16^{a}	62.39^{ab}	41.17^{bc}	34.14^{ab}	29.66^{a}	26.32^{a}	18.04^{b}	کنجاله سویا + ۵ درصد عصاره Soybean meal + 5% extract
84.72^{ab}	82.72^{a}	61.76^{ab}	44.33^{ab}	33.00^{bc}	28.12^{ab}	24.45^{ab}	17.41^{b}	کنجاله سویا + ۱۰ درصد عصاره Soybean meal + 10% extract
81.61^{b}	73.02^{b}	59.79^{b}	42.25^{b}	32.00^{c}	26.52^{b}	23.74^{bc}	15.29^{c}	کنجاله سویا + ۱۵ درصد عصاره Soybean meal + 15% extract
77.28^{c}	69.62^{c}	54.93^{c}	37.97^{c}	29.97^{d}	24.10^{c}	22.29^{c}	14.48^{c}	کنجاله سویا + ۲۰ درصد عصاره Soybean meal + 20% extract
0.0001	0.0001	0.0003	0.001	0.0003	0.0003	0.001	0.0001	P Value[1]
1.57	1.21	1.69	1.68	0.94	1.07	0.90	0.82	SEM[2]

[1]سطح احتمال؛ [2]خطای استاندارد میانگین؛ حروف غیرمشابه در هر ستون بیان‌گر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

The means within the same column with different letter have significant difference (P< 0.05).

جدول ٦- اثر سطوح مختلف عصاره ضایعات چای سبز بر فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای و قابلیت هضم روده‌ای پروتئین خام کنجاله سویا.

Table 6. Effect of different level of green tea waste extract on ruminal degradability parameters and intestinal digestibility of soybean meal crude protein

ICPD	ECPD			c	(a+b)	b	a	فراسنجه‌های مورد بررسی Items تیمارهای آزمایشی Experimental treatments
	k=0.08	k=0.05	k=0.02					
64.65^{b}	52.52^{a}	61.47^{a}	76.75^{a}	0.066^{a}	94.73^{a}	77.56^{a}	17.16^{a}	کنجاله سویا Soybean meal
68.41^{a}	49.57^{b}	58.47^{b}	73.55^{b}	0.067^{a}	91.10^{b}	76.67^{ab}	14.43^{b}	کنجاله سویا + ۵ درصد عصاره Soybean meal + 5% extract
69.97^{a}	49.62^{b}	58.67^{b}	73.77^{b}	0.069^{a}	91.07^{b}	77.68^{a}	13.39^{bc}	کنجاله سویا + ۱۰ درصد عصاره Soybean meal + 10% extract
63.65^{b}	46.45^{c}	55.00^{c}	69.35^{c}	0.068^{a}	85.89^{c}	73.32^{bc}	12.58^{cd}	کنجاله سویا + ۱۵ درصد عصاره Soybean meal + 15% extract
61.75^{c}	43.35^{d}	51.57^{d}	65.62^{d}	0.064^{a}	82.33^{d}	70.54^{c}	11.78^{d}	کنجاله سویا + ۲۰ درصد عصاره Soybean meal + 20% extract
0.001	0.0001	0.0001	0.0001	0.4	0.0001	0.001	0.0001	P Value[7]
0.96	0.86	0.9	1.03	0.003	1.52	1.57	0.68	SEM[8]

a: بخش سریع تجزیه (درصد)؛ b: بخش کند تجزیه (درصد)؛ a+b: پتانسیل تجزیه‌پذیری (درصد)؛ c: نرخ ثابت تجزیه‌پذیری (درصد در ساعت)؛ ECPD: تجزیه‌پذیری موثر پروتئین خام (درصد در سرعت‌های عبور ۲، ۵ و ۸)؛ ICPD: قابلیت هضم روده‌ای پروتئین خام براساس درصد؛ 7- سطح احتمال؛ 8- خطای استاندارد میانگین؛ حروف غیرمشابه در هر ستون بیان‌گر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

a: Rapidly degraded fraction (%), b: Slowly degraded fraction (%), a+b: Potential of degradability, c: Constant rate of degradation (h-1), ECPD: Effective degradability of crude protein (in 2, 5 and 8% out follow rates), ICPD: Crude protein intestinal digestibility (%).The means within the same column with different letter have significant difference (P< 0.05).

سالم و همکاران (۲۰۱۲) نیز کاهش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین خام کنجاله سویا را در اثر عمل‌آوری با عصاره‌های دارای ترکیبات فنولیک بیان نمودند (٢٤). ترکیبات ثانویه موثر بر میکروارگانیسم‌های شکمبه در عصاره ضایعات چای سبز نیز وجود دارد (جدول ۱) که می‌توانند تجزیه‌پذیری کنجاله سویا را تحت تاثیر قرار دهند. کاهش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک کنجاله سویا در اثر عمل‌آوری با عصاره چای سبز می‌تواند به دلیل کاهش تجزیه پروتئین، تجزیه شدن پپتیدها و دی‌آمیناسیون اسیدهای آمینه در شکمبه باشد (۲۱). کاهش تجزیه شدن پروتئین، ممکن است به‌دلیل پیوند یافتن تانن‌ها با پروتئین (از طریق اتصال گروه‌های فنلی تانن به گروه کربونیل پپتیدها) کنجاله سویا بوده که موجب کاهش حلالیت آن گردیده و پروتئین را به تجزیه شدن سریع در شکمبه مقاوم نموده است (٢٤).

قابلیت هضم روده‌ای: قابلیت هضم روده‌ای ماده خشک کنجاله سویای عمل‌آوری شده با سطوح ۵ و ۱۰ درصد عصاره ضایعات چای سبز اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند اما مقادیر آن‌ها به‌طور معنی‌داری نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی بیشتر بود (P< ۰/۰۵) (جدول ٤). بین کنجاله سویای عمل‌آوری نشده و کنجاله سویای عمل‌آوری شده با ۱۵ درصد عصاره ضایعات چای سبز تفاوت قابل توجهی از نظر قابلیت هضم ماده خشک وجود نداشت. در بین تیمارهای آزمایشی، کنجاله سویای عمل‌آوری شده با ۲۰ درصد عصاره دارای کمترین مقدار قابلیت هضم ماده خشک بود (P<۰/۰۵) (جدول ٤).

اثر عصاره ضایعات چای سبز بر قابلیت هضم روده‌ای پروتئین خام کنجاله سویا در جدول ۵ نشان داده شده است. کنجاله سویای عمل‌آوری شده با ۱۰ درصد عصاره دارای بیشترین قابلیت هضم پروتئین خام در بین تیمارهای آزمایشی بود. اما مقدار آن از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با کنجاله سویای عمل‌آوری شده با ۵ درصد عصاره نداشت. مقادیر قابلیت هضم روده‌ای پروتئین خام در تیمارهای عمل‌آوری شده با ۵ و ۱۰ درصد عصاره به‌طور معنی‌داری از سایر تیمارهای آزمایشی بیشتر بودند (P<۰/۰۵). بین کنجاله سویای عمل‌آوری نشده و کنجاله سویای عمل‌آوری شده با ۱۵ درصد عصاره اختلاف معنی‌داری در رابطه با قابلیت هضم روده‌ای پروتئین خام وجود نداشت. مقدار قابلیت هضم روده‌ای پروتئین خام کنجاله سویای عمل‌آوری شده با ۲۰ درصد عصاره، به‌طور معنی‌داری نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی کمتر بود (P<۰/۰۵).

تانن‌ها به پروتئین‌ها متصل شده و این امر از تجزیه شدن شکمبه‌ای پروتئین‌ها تا حدودی جلوگیری می‌نماید. این اتصال تانن به پروتئین، زمانی که از تجزیه شکمبه‌ای بیش از حد یک منبع پروتئینی با ارزش بکاهد بسیار سودمند خواهد بود. در اثر کاهش تجزیه شدن شکمبه‌ای پروتئین خام توسط تانن‌ها، پروتئین بیشتری از شکمبه عبور نموده و این امر در افزایش قابلیت هضم پروتئین خام حاصل شده در این پژوهش می‌تواند موثر باشد (۱). فروتوس و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند که قابلیت هضم روده‌ای پروتئین خام کنجاله سویا در اثر عمل‌آوری با سطوح بالای تانن (۲۵ گرم بر کیلوگرم) کاهش می‌یابد (۸). اما مطابق با نتایج تحقیق حاضر علیپور و روزبهان (۲۰۱۰) مشاهده کردند که در اثر استفاده از عصاره تانینی تفاله انگور، قابلیت هضم روده‌ای پروتئین خام کنجاله سویا افزایش یافت (۱).

تحقیقات نشان داده است که کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمبه در اثر تانن‌های متراکم، مقدار اسیدهای آمینه‌ای که به روده کوچک می‌رسند را افزایش می‌دهد. این امر موجب بیشتر شدن جذب

ظاهری اسیدهای آمینه در روده می‌شود (۲۸). سطوح کم تانن متراکم به‌دلیل کاهش تجزیه پروتئین در شکمبه، مقدار پروتئین و اسیدهای آمینه‌ای که به روده کوچک می‌رسند را افزایش می‌دهند. تانن‌های متراکم پیوندهایی را با پروتئین‌ها تشکیل می‌دهند که در محدوده pH =۳/۵–۷ پایدار می‌باشد اما در شیردان و دوازدهه (pH= ۳/۵) این پیوندها از بین می‌روند (۱۰). این پیوندها پروتئین‌ها را از تجزیه میکروبی و دی‌آمیناسیون در شکمبه محافظت کرده و قابلیت دسترسی پروتئین‌های خوراک را برای هضم افزایش داده و موجب افزایش جذب اسیدهای آمینه در روده می‌گردند (۵) بنابراین با تغذیه سطوح مطلوب این نوع از تانن‌ها می‌توان مقدار پروتئین عبوری را بدون ایجاد اثر نامطلوب بر مصرف خوراک و یا قابلیت هضم افزود (۲۹).

نتیجه‌گیری کلی

عمل‌آوری کنجاله سویا با عصاره ضایعات چای سبز موجب کاهش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای آن گردید. با توجه به نتایج حاصل از اندازه‌گیری قابلیت هضم روده‌ای ماده خشک و پروتئین خام، سطوح ۵ و ۱۰ درصد عصاره ضایعات چای سبز موجب افزایش جذب روده‌ای کنجاله سویا شده و می‌تواند برای محافظت از پروتئین خام آن در مقابل تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

1. Alipour, D. and Rouzbehan, Y. 2010. Effects of several levels of extracted tannin from grape pomace on intestinal digestibility of soybean meal. Livest. Prod. Sci. 128: 87-91.
2. AOAC. 2005. Official methods of analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemistis, Arlington, VA, USA.
3. Ashes, J.R., Mangan, J.L. and Sidhu, G.S. 1984. Nutritional availability of amino acids from protein cross-linked to protect against degradation in the rumen. Br. J. Nut. 52: 239–247.
4. Dentinho, M.T.P., Moreira, O. C., Pereira, M. S. and Bessa, R. J. B. 2007. The use a tannin crude extract from *Citrus ladanifer* L. to protect soya-bean meal protein from degradation in the rumen. Animal. 1: 645–650.
5. Dey, A., Dutta, N., Sharma, K. and Pattanaik, A.K. 2008. Effect of dietary inclusion of *Ficus infectoria* leaves as a protectant of proteins on the performance of lambs. Small Rumin. Res. 75: 105-114.
6. Dutta, N. and Agrawal, I.S. 2000. Effect of formaldehyde and heat treatment on protein degradability. Ind. Vet. J. 77: 36–39.
7. Ferguson, K.A., Hemsley, J.A. and Reis, P.J. 1967. Nutrition and wool growth: the effect of protecting dietary protein from microbial degradation in the rumen. Aust. J. Sci. 30: 215–217.
8. Frutos, P., Hervas, G., Giraldez, F.J., Fernadez, M. and Manteccon, A.R. 2000. Digestive utilization of quebracho-treated soyabean meal in sheep. J. Agric. Sci. Camb. 134: 101–108.
9. Gargallo, S., Calsamiglia, S. and Ferret, A. 2006. Technical note: A modified three-step *in vitro* procedure to determine intestinal digestion of proteins. J. Anim. Sci. 84: 2163-2167.
10. 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.
11. Glimp, H.A., Karr, M.R., Little, C.O., Woolfolk, P.G., Mitchell, G.E. and Hudson, L.W. 1967. Effect of reducing soybean protein solubility by dry heat on the protein utilization of young lambs. J. Anim. Sci. 26: 858–861.
12. Hagerman A.E. 2002. Tannin handbook. Biological Activities of tannins: Tannin as antioxidants. Protein digestibility

protein precipitation by tannins. Pp:1-12.
13. Hervías G., Frutos P., Serrano E., Mantecón A.R. and Giraldez F.J. 2000. Effect of tannic acid on rumen degradation and intestinal digestion of treated soya bean meals in sheep. J. Agri. Sci. 135: 305-310
14. Leng, R.A. and Nolan, J.V. 1984. Nitrogen metabolism in the rumen. J. Dairy. Sci. 67: 1072–1089.
15. Lu, C.D. and Jorgensen, N.A. 1987. Alfalfa saponins affect site and extent of nutrient digestion in ruminants. J. Nut. 117: 919–927.
16. Lu, C.D., Tsai, L.S., Schaefer, D.M. and Jorgensen, N.A. 1987. Alteration of fermentation in continuous culture of mixed rumen bacteria by isolated alfalfa saponins. J. Dairy. Sci. 70: 799–805.
17. Makkar, H.P.S., Sen, S., Blummel, M. and Becker, K. 1998. Effect of fractions containing saponins from *Yucca schidigera Quillaja saponaria* and *Acacia auriculofprmis* on rumen fermentation. J. Agric. Food Chem. 46: 4324–4328.
18. Muetzel, S., Hoffmann, E.M. and Becker, K. 2003. Supplementation of barley straw with *Sesbania pachycarpa* leaves *in vitro*: effects on fermentation variables and rumen microbial population structure quantified by ribosomal RNA-targeted probes. Br. J. Nutr. 89: 445–453.
19. National Research Council. 2001. Nutrient requirements of dairy Cattle. 7th Rev. ed. Washington, DC: The National Academic Press; p. 408.
20. Newbold, C.J., ElHassan, S.M., Wang, J., Ortega, M.E. and Wallace, R.J. 1997. Influence of foliage from African multipurpose trees on activity of rumen protozoa and bacteria. Br. J. Nutr. 78: 237–249.
21. Newbold, C.J., Wallace, R.J. and McKain, N. 1990. Effects of the ionophore tetronasin on nitrogen metabolism by ruminal microorganisms *in vitro*. J. Anim. Sci. 68, 1103-1109.
22. Ørskov, E.R. and McDonald, I. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. J. Agri. Sci. 92: 499–503.
23. Ramdani, D., Chaudhry, A.S. and Seal, C.J. 2013. Chemical composition, plant secondary metabolites, and minerals of green and black teas and the effect of different tea-to-water ratios during their extraction on the composition of their spent leaves as potential additives for ruminants. J. Agric. Food Chem. 61: 4961-4967.
24. Salem, A.Z.M., Szumacher-Strabel, M., Lopez, S. and Khalil, M.S. 2012. *In situ* degradability of soybean meal treated with *Acacia saligna* and *Atriplex halimus* extracts in sheep. J. Anim. Feed. Sci. 21: 447-457.
25. SAS. 2002. User's guide: Statistics, Version 9.1. SAS Institute, Inc. Cary, NC, USA.
26. Schonhusen, U., Voigt, J. and Piatkowski, B. 1986. Effect of the pH value when treating concentrate protein with formaldehyde on protein protection in the rumen. Arch. Anim. Nutr. 36: 741–747.
27. Terrill, T.H., Douglas, G.B., Foote, A.G., Purchas, R.W., Wilson, G.F. and Barry, T.N. 1992. Effect of condensed tannins upon body growth, wool growth and rumen metabolism in sheep grazing sulla (*Hedysarum coronarium*) and perennial pasture. J. Agric. Sci .Camb. 119: 265–273.
28. Waghorn, G.C., John, A., Jones, W.T. and Shelton I.D. 1987. Nutritive value of *Lotus corniculatus* L. containing low and medium concentrations of condensed tannins for sheep. Proc. New. Zealand. Soc. Anim. Prod. 47: 25–30.
29. Waghorn, G.C., Jones, W.T., Shelton, I.D. and McNabb, W.C. 1990. Condensed tannins and the nutritive value of herbage. Proc. New. Zealand. Grassl. Assoc. 51: 171–176
30. Wallace, R.J., Arthaud, L. and Newbold, C.J. 1994. Influence of *Yucca-shidigera* extract on ruminal ammonia concentrations and ruminal microorganisms. Appl. Environ. Microbiol. 60: 1762–1767.

31. Wallace, R.J., 2004. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. Proc. Nutr. Soc. 63: 621-629.
32. Wang, Y., Douglas, G.B., Waghorn, G.C., Barry, T.N., Foote, A.G. and Purchas, R.W. 1996. Effect of condensed tannins upon the performance on lambs grazing *Lotus corniculatus* and Lucerne (*Medicagosativa*). J. Agri. Sci. Camb. 126: 87–98.
33. Wang, Y., McAllister, T.A., Newbold, C.J., Rode, L.M., Cheeke, P.R. and Cheng, K.J. 1998. Effects of *Yucca schidigera* extract on fermentation and degradation of steroidal saponins in the rumen simulation technique (RUSITEC). J.Anim. Feed Sci. Technol. 74: 143–153.
34. Wright, T.C., Moscardini, S., Luimes, P.H., Susmel, P. and McBride, B.W. 1998. Effects of rumen un degradable protein and feed intake on nitrogen balance and milk production in dairy cows. J. Dairy. Sci. 81: 784–793.
35. Yosioka, I., Inada A., and Kitagawa, I. 1974. Soil bacterial hydrolysis leading to genuine aglycone—VIII: Structures of a genuine sapogenol protobassic acid and a prosapogenol of seed kernels of *Madhuca longifolia* L. Tetrahedron. 30: 707-714.
36. Zhao, Y.L., Yan, S.M., He, Z.X., Anele, U.Y., Swift, M.L., McAllister, T.A. and Yang, W.Z. 2015. Effects of volume weight, processing method and processing index of barley grain on *in situ* digestibility of dry matter and starch in beef heifers. J. Anim. Feed Sci. Technol. 199: 93-10.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. of Ruminant Research, Vol. 6(4), 2019
http://ejrr.gau.ac.ir

Effect of green tea waste extract on ruminal degradability and intestinal digestibility of soybean meal

M. Nasehi[1*], N.M. Torbatinejad[2], M. Rezaie[3], T. Ghoorchi[2]
[1]Ph.D. Graduated and [2]Professor, Dept. of Animal and Poultry Nutrition, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural sciences and Natural resources, Gorgan, Iran
[3]Associate prof., Animal Science Research Institute of Iran, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
Received: 01/05/2017; Accepted: 28/08/2017

Abstract

Background and objectives: Degradation in rumen often results in wastage of dietary proteins, particularly in productive ruminants. For this purpose, protection of proteins is essential for productive animals, where the protein requirement of these animals cannot be met from microbial protein synthesis. Therefore, this study was conducted to investigate the effect of green tea waste extract on ruminal degradability and intestinal digestibility of soybean meal dry matter and crude protein.

Materials and methods: For extraction from green tea waste, a solvent was prepared with a ratio of 10 ml of methanol, 10 ml of ethanol and 80 ml of distilled water per 100 ml. The soybean meal treated at 0 (control), 5, 10, 15 and 20 percent of dry matter with this extract. Ruminal degradability of dry matter and crude protein determined using two Taleshi bulls by nylon bag method in 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 and 48 hours. Intestinal digestibility measured *In vitro*.

Results: Treatment decreased the amount of dry matter (DM) degradability of soybean meal in all incubation times ($P<0.05$). Crude protein (CP) degradability of processing treatments by 5% and 10% extract were not different significantly in comparison to control group ($P>0.05$) but 15% and 20% extract significantly reduced CP degradability related to control ($P<0.05$). Rapidly degraded fraction (a) of DM degradability of soybean meal in treatments processing with 15% and 20% extract, significantly decreased related to control ($P < 0.05$). Fraction of CP degradability significantly reduced by processing in all treated group related to control ($P<0.05$). Slowly degraded fraction (b) and potential degradability (a+b) of DM in 5%, 10%, 15% and 20% extract treatments significantly decreased related to control ($P<0.05$). b fraction of CP degradability in control, 5% and 10% extract treatments had no significant difference, but 15% and 20% level of extract significantly decreased this fraction related to control ($P<0.05$). Constant rate of degradability of DM and CP were not different between treatments. Effective degradability of DM and CP (in 2%, 5% and 8% out flow rates) significantly reduced by treatment ($P<0.05$). Intestinal digestibility of DM was significantly higher in soybean meal treated with 5 and 10% extract than other treatments, but 20% extract significantly reduced it ($P<0.05$). In addition, intestinal digestibility of CP was significantly higher in soybean meal treated with 5% and 10% extract than other treatments, but 20% extract significantly reduced it ($P<0.05$).

Conclusion: Soybean meal treatment by green tea waste extract can decrease its ruminal degradability. According to results from DM and CP intestinal digestibility, 5% and 10% levels of green tea waste extract improved soybean meal intestinal absorption and can use for protein protection against ruminal degradability.

***Keywords*:** Crude protein, Green tea waste, Nylon bag, Tannin

*Corresponding author; nasehi.md65@gmail.com