

تاثیر پرتوتابی میکروویو در زمان‌های مختلف بر مولفه‌های ارزش غذایی تفاله انگور قرمز در شرایط برون تنی

بهزاد اسدنژاد^۱، رسول پیرمحمدی^۲ و حامد خلیل‌وندی بهروزیار^{۲*}

تاریخ دریافت: ۹۷/۸/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۸/۳/۱۱

^۱ دانشجوی دکترای گروه علوم دامی دانشگاه ارومیه

^۲ به‌ترتیب استاد و استادیار گروه علوم دامی دانشگاه ارومیه

*مسئول مکاتبه: Email: h.khalilvandi@urmia.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: برآورد ارزش غذایی تفاله انگور قرمز پرتوتابی شده با میکروویو. هدف: بررسی اثر پرتوتابی میکروویو در زمان‌های مختلف بر ارزش تغذیه‌ای تفاله‌ی انگور قرمز در شرایط برون تنی و تکنیک کیسه‌های نایلونی. روش کار: تفاله انگور قرمز پس از خشک شدن در معرض هوا و دور از تابش آفتاب، با استفاده از دستگاه میکروویو با قدرت ۹۰۰ وات در زمان‌های ۲، ۴ و ۶ دقیقه پرتودهی شد. از سه رأس گوساله نر اخته هشتتاین مجهز به فیستولای شکمبه‌ای به‌منظور تجزیه‌پذیری ماده خشک و همچنین گرفتن مایع شکمبه در آزمون تولیدگاز استفاده شد. **نتایج:** پرتوتابی سبب افزایش میزان پروتئین خام، ماده خشک، خاکستر و الیاف نامحلول در شوینده خنثی شد. همچنین کاهش معنی‌داری در مقادیر کل ترکیبات فنولی، تانن کل، تانن متراکم آزاد و پیوند یافته با پروتئین و الیاف مشاهده شد. فعالیت زیستی ترکیبات فنولی در رسوب پروتئین‌ها، نیز کاهش یافت. پرتوتابی با امواج میکروویو سبب افزایش میزان تجزیه‌پذیری ماده خشک تفاله‌ی انگور قرمز و مقادیر گاز تولیدی در همه‌ی زمان‌های انکوباسیون در تیمار ۶ دقیقه و باعث کاهش تجزیه‌پذیری ماده خشک در تیمار ۶ دقیقه نسبت به گروه شاهد شد. پرتوتابی باعث کاهش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین خام در همه‌ی تیمارها نسبت به گروه شاهد شد. پرتوتابی باعث افزایش تولید گاز شد. بیشترین میزان تولید گاز در تیمار ۲ دقیقه در زمان ۱۲۰ ساعت انکوباسیون مشاهده شد که مقدار آن (۷۱/۹۸ در برابر ۵۵/۰۷) میلی‌لیتر به ازاء ۵۰۰ میلی گرم ماده خشک بود. **نتیجه‌گیری نهایی:** نتایج نشان داد که پرتوتابی میکروویو با غیر فعال کردن بخش بزرگی از مواد ضدتغذیه‌ای تفاله‌ی انگور قرمز باعث افزایش ارزش تغذیه‌ای آن می‌شود.

واژگان کلیدی: تفاله‌ی انگور قرمز، میکروویو، هشتتاین، کیسه‌های نایلونی، تست گاز

مقدمه

برنامه چهارم توسعه تنها در بخش علوفه‌ای خوراک دام در خصوص علف یونجه و علوفه‌های مشابه ۲۳۸ هزار تن و در بخش علوفه‌های سیلویی ۸۶۲ هزار تن (بر حسب ۳۰ درصد ماده خشک) کمبود وجود دارد، که جدا از کمبودهای غلات، کنجاله‌های پروتئینی، سبوس و تفاله

یکی از اهداف مهم در هر کشور تأمین مواد خوراکی مورد نیاز دام‌های آن کشور است. بر اساس آمارنامه محصولات کشاورزی اداره کل آمار و اطلاعات وزارت جهاد کشاورزی (۲۰۰۳) پیش‌بینی شده است که تا پایان

چغندر قند است. با توجه به این نکات استفاده بهینه از مواد خوراکی موجود و نیز شناخت و معرفی محصولات جدید جهت تغذیه دام‌ها یکی از مهم‌ترین اولویت‌های تحقیقاتی بخش دامپروری کشور است. براساس آمارهای سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد فائو (۲۰۰۳) ایران یکی از کشورهای با رشد سریع جمعیت است که انتظار می‌رود جمعیت ۷۰ میلیون نفری کنونی آن تا سال ۲۰۵۰ میلادی به بیش از ۱۰۰ میلیون نفر برسد. لذا توجه بیشتر به افزایش تولید و تأمین مواد غذایی برای جمعیت در حال رشد کشور، امری بسیار ضروری است. اخیراً مواد با ترکیبات فعال گیاهی مختلفی از محدوده‌ی وسیعی از گونه‌های گیاهی جداسازی شده است و از نظر اثر بر تخمیر شکمبه و بهبود قابلیت تولیدی حیوان مورد بررسی قرار گرفته‌اند (ابرقویی و روزبهان ۲۰۱۳ و استینر ۲۰۰۹). این ترکیبات از متابولیسم ثانویه‌ی گیاه هستند که به چهار گروه پلی فنول‌ها و تانن‌ها، ساپونین‌ها، ارگانوسولفورها و اسانس‌های روغنی تقسیم می‌شوند و فعالیت‌های ضد میکروبی آنها علیه تعدادی از مخمرها، باکتری‌ها و قارچ‌ها به اثبات رسیده است (کالسامیگلیا ۲۰۰۷). همچنین فعالیت‌های ضد میکروبی شکمبه‌ای این ترکیبات به اثبات رسیده است. فعالیت ضد میکروبی و تاثیر بر فعالیت تخمیری شکمبه توسط این ترکیبات بستگی به ماهیت، فعالیت و مقدار آنها دارد (جایانگرا و همکاران ۲۰۱۰). تفاله انگور یکی از فرآورده‌هایی فرعی کارخانجات کشت و صنعت و صنایع تبدیلی در کشور است که فرآورده فرعی حاصل از عمل‌آوری انگور است این محصول شامل مواد باقیمانده بعد از استخراج آب انگور بوده و به‌طور طبیعی از ۶۵ درصد تفاله و ۴۰ درصد دانه تشکیل می‌شود (پویی و همکاران ۱۹۸۰). تفاله‌ی مرطوب را می‌توان در هوایی باز بصورت انباشته به مدت حدود ۳ تا ۴ روز بدون خطر قارچ زدگی یا ایجاد تغییرات نامطلوب نگهداری نمود (پروونزا و همکاران ۱۹۹۹). یکی از خصوصیات تفاله انگور میزان زیاد تانن می باشد که موادی پلی فنلی بوده و قادر به

ایجاد کمپلکس با پروتئین‌ها می‌باشد که تاثیر منفی بر فعالیت میکروارگانیسم‌ها دارد میزان این مواد تا ۴ درصد هم گزارش شده است. البته ترکیب شیمیایی تفاله‌ی انگور در رابطه با نوع و واریته و روش آبیگری بسیار متغیر می‌باشد. مواد ضد مغذی (تانن) موجود در تفاله انگور را باید به‌نحوی به کمک یکی از روش‌های عمل‌آوری کاهش داد تا برای دام قابل استفاده باشد زیرا که بالا بودن درصد تانن به همراه بالا بودن لیگنین در فیبر خام تفاله‌ی انگور باعث کاهش قابلیت هضم تفاله‌ی انگور می‌شود و مصرف آن را در دام محدود می‌کند و باعث کاهش خوشخوراکی می‌شود (پروونزا و همکاران ۱۹۹۹). استفاده از امواج مایکروویو طی سال‌های اخیر به‌عنوان یکی از روش‌های فرآوری مواد خوراکی دامی در جهت کاهش مواد ضد تغذیه‌ای مواد خوراکی مد نظر قرار گرفته است. بنابراین این آزمایش به منظور بررسی اثر پرتوتابی مایکروویو بر ارزش تغذیه‌ای تفاله‌ی انگور قرمز در شرایط برون تنی و تکنیک کیسه‌های نایلونی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

محل اجرا و حیوانات مورد استفاده در آزمایش

این پژوهش در ایستگاه آموزشی و پژوهشی گروه علوم دامی دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه ارومیه با استفاده از سه رأس گوساله نر اخته‌ی بالغ هلشتاین با وزن ۱۰ $\pm$ ۳۴۰ کیلوگرم و سن ۸ ماه مجهز به فیستولای شکمبه‌ای انجام شد. کلیه حیوانات مورد استفاده در این آزمایش بر اساس راهنمای نگهداری و استفاده از حیوانات مزرعه‌ای در تحقیقات علوم دامی نگهداری شدند (اف ای اس اس ۲۰۱۰). حیوانات به‌صورت انفرادی، دو بار در روز و با جیره حاوی ۴ کیلوگرم یونجه، ۳ کیلوگرم ذرت سیلوشده و ۱/۵ کیلوگرم جو خرد شده به میزان ۱۲۰ درصد احتیاجات نگهداری تغذیه شدند (موسسه‌ی تحقیقات ملی ۲۰۰۱). در تمام طول مدت آزمایش حیوانات به آب آشامیدنی سالم و مکمل مواد معدنی لیسیدنی دسترسی

گردید و سپس داخل حمام آب اولتراسوند (جنکنز ۲۸۰۰)، به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. سپس مواد به لوله‌های سانتریفیوژ منتقل شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس و $3000 \times g$ سانتریفیوژ شدند. مواد شناور جمع‌آوری و داخل یخ نگهداری شدند. از این عصاره برای اندازه‌گیری ترکیبات فنولی و تانن استفاده شد (سازمان انرژی اتمی ۲۰۰۰). ده میکرولیتر عصاره حاوی تانن برداشته و حجم آن را با آب مقطر به ۰/۵ میلی‌لیتر رسانده، ۰/۲۵ میلی‌لیتر معرف فولین شیکالتو و سپس ۱/۲۵ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم به آن اضافه شده، ورتکس شد و جذب بعد از ۴۰ دقیقه در ۷۲۵ نانومتر ثبت شد. با استفاده از منحنی استاندارد (۴ تا ۱۶ میکروگرم، مقدار کل فنول‌ها به صورت اکی والان‌های اسید تانیک بدست آمد و مقدار کل فنول به صورت درصد ماده خشک بیان شد. تانن متراکم براساس روش پورتر و همکاران (۱۹۸۶) اندازه‌گیری شد. در یک لوله شیشه‌ای ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره تاننی ریخته شد. به لوله‌ها ۳ میلی‌لیتر معرف بوتانول-اسیدکلریدریک و ۰/۱ میلی‌لیتر محلول ۲ درصد سولفات آمونیوم آهن (III) اضافه شد و سپس ورتکس گردید، دهانه لوله‌ها با درپوش شیشه‌ای بسته و به مدت ۶۰ دقیقه در حمام آب ۹۷ تا ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از سرد شدن لوله‌ها میزان جذب در ۵۵۰ نانومتر ثبت گردید. مقدار جذب لوله بلانک که مخلوط حرارت ندیده است از مقادیر جذب قرائت شده، کم شد. مقدار تانن متراکم (درصد ماده خشک) به صورت اکی والان‌های لوکوسیانیدین تعیین شد.

تعیین میزان تجزیه‌پذیری با استفاده از روش کیسه نایلونی

ضرایب تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام با استفاده از سه رأس گاو نر اخته هلشتاین ذکر شده در بالا تعیین شد. پنج گرم از نمونه‌های خشک شده در آون ۶۰ درجه سلسیوس داخل کیسه‌های نایلونی با اندازه منافذ ۵۰ میکرومتر ریخته شد. دو کیسه برای هر نمونه

داشتند. از این گوساله‌ها جهت تهیه مایع شکمبه برای آزمون تولید گاز و انکوباسیون کیسه‌های نایلونی برای آزمایش تجزیه پذیری استفاده شد.

جمع‌آوری نمونه، فرآوری و تعیین ترکیب شیمیایی

تفاله‌ی انگور قرمز با ۲۵ درصد ماده خشک به صورت تر از کارخانه پاکدیس شهرستان ارومیه تهیه شد. تفاله‌ی انگور قرمز تهیه شده به صورت هوا خشک و دور از نور مستقیم آفتاب خشک شدند. به‌منظور فرآوری با مایکروویو، میزان ماده خشک تفاله‌ی انگور قرمز هوا خشک تعیین و در نهایت میزان رطوبت نمونه‌های آسیاب شده (آسیاب مجهز به توری دو میلی‌متری) با استفاده از آب دیونیزه تا ۲۵ درصد افزایش یافت. پرتوتابی نمونه‌های آسیاب شده با استفاده از مایکروویو با قدرت ۹۰۰ وات و فرکانس ۲۴۵۰ مگاهرتز به مدت ۲، ۴ و ۶ دقیقه انجام شد. نمونه‌ها در حین پرتوتابی هر ۲۰ ثانیه یکبار به‌منظور اطمینان از یکنواختی هم‌زده شدند (صادقی و شورنگ ۲۰۰۸).

میزان پروتئین خام نمونه‌ها با استفاده از دستگاه کدال پس از هضم نمونه‌ها با کاتالیزور و اسید سولفوریک زیر هود در دستگاه هضم اندازه‌گیری شد (ای او ای سی ۲۰۰۰). به منظور تعیین میزان خاکستر، نمونه‌ها در کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس و به مدت ۶ ساعت قرار گرفت و پس از خنک شدن در دسیکاتور وزن شد (ای او ای سی ۲۰۰۰). میزان ماده‌ی خشک نمونه‌ها با استفاده از آون ۱۰۴ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت تعیین شد (ای او ای سی ۲۰۰۰). به‌منظور تعیین میزان الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و خنثی (با استفاده از آمیلاز مقاوم به حرارت) از روش ون سوست و همکاران (۱۹۹۱) و با استفاده از سیستم اتوماتیک آنکوم استفاده شد.

تعیین ترکیب فنولیک و تانن

نمونه آسیاب و خشک شده تفاله‌ی انگور قرمز (۲۰۰ میلی‌گرم) داخل یک ظرف شیشه‌ای با ظرفیت ۲۵ میلی‌لیتر ریخته شد و ۱۰ میلی‌لیتر استون ۷۰ درصد به آن اضافه

در زمان‌های ۲، ۴، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت در داخل شکمبه هر یک از گاوها انکوبه شد. برای برآورد مقدار ناپدید شدن در زمان صفر، کیسه‌های حاوی مواد خوراکی فقط با آب سرد شستشو شدند. کیسه‌ها پس از خروج از شکمبه تا زمان شفاف شدن آب خروجی از کیسه‌ها با استفاده از ماشین لباسشویی شسته شدند. کیسه‌ها به منظور خشک شدن در آون با دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفته و پس از توزین و تعیین مقادیر ماده خشک و پروتئین خام داده‌ها با استفاده از رویه NLIN در نرم افزار آماری (SAS ۲۰۰۲) نسخه ۹/۱ و با رابطه‌ی (شماره ۱) اروسکف و مکدونالد (۱۹۷۹) و به منظور تعیین فرآسنجه‌های تجزیه پذیری برازش شدند رابطه شماره ۱: $P = b(1 - e^{-ct})$. در این معادله P میزان تجزیه پذیری در زمان t مقدار تجزیه شدن بخش غیر محلول و c ثابت نرخ تجزیه پذیری و t زمان انکوباسیون در داخل شکمبه بود. مقادیر تجزیه پذیری مؤثر با استفاده از رابطه‌ی (شماره ۲) و در نرخ عبور ۲، ۶ و ۸ درصد در ساعت محاسبه شد. رابطه ۲:

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

آزمون تولید گاز

به منظور تعیین اثر فرآوری بر میزان گاز تولیدی و میزان غیرفعال شدن ترکیبات فنلی و تانن‌ها در آزمایشگاه از روش تعیین فشار گاز تولیدی بر اساس روش منکی و استینگس (۱۹۸۸) با استفاده از فشارسنج دیجیتالی تئودورو و همکاران (۱۹۹۴) در سه دور مجزا و سه تکرار به ازای هر نمونه در هر دور، استفاده شد. مایع شکمبه از همان ۳ رأس گاو نر بالغ نژاد هلشتاین قبل از مصرف وعده غذایی صبح تهیه شد (اسدنژاد و همکاران ۲۰۱۸). به منظور کسب اطمینان از حضور تمامی میکروارگانیسم‌های شکمبه محتویات مایع شکمبه هر سه گاو با هم مخلوط شده و با استفاده از همزن با سرعت بالا به مدت ۳۰ ثانیه مخلوط شده و در نهایت با استفاده از پارچه کتان ۴ لایه صاف شدند (منکی و استینگس ۱۹۸۸). پس از صاف نمودن شیرابه شکمبه، شیرابه و

بافر (محلول‌های ماکرومینرال، میکرومینرال، احیاکننده، بافر و ریسازورین) مطابق روش منکی و همکاران (۱۹۷۹) و روش تصحیح شده منکی و استینگس (۱۹۸۸) به نسبت یک قسمت شیرابه و دو قسمت بزاق مصنوعی به داخل بالن سه دهانه مخصوص تحت جریان مداوم دی‌اکسید کربن ریخته شده و تا زمان انتقال به شیشه‌های حاوی نمونه در دمای ۳۹ درجه سلسیوس قرار گرفت. برای اندازه‌گیری میزان گاز تولیدی در ساعات مختلف، ۵۰۰ میلی‌گرم از نمونه‌های آزمایشی (آسیاب شده با غربال ۱ میلی‌متری) آسیاب تاگلیپترا و همکاران (۲۰۱۱) و در شیشه‌های مخصوص ۱۲۵ میلی‌لیتری ریخته شد. به هر شیشه ۵۰ میلی‌لیتر از مخلوط شیرابه شکمبه و بافر اضافه شده و پس از بستن درب شیشه‌ها با درپوش پلاستیکی و پرس فلزی در آون با دمای ۳۹ درجه سلسیوس در داخل آون قرار داده شدند. شیشه‌ها هر ۱ ساعت یکبار تکان داده می‌شدند. فشار گاز تولیدی در ساعات ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت قرائت و ثبت شد. به منظور تصحیح گاز تولیدی توسط شیرابه شکمبه، در هر دور، ۳ شیشه فاقد نمونه که تنها حاوی ۵۰ میلی‌لیتر مخلوط شیرابه شکمبه و بزاق مصنوعی بودند به عنوان بلانک در نظر گرفته شد، تا میزان گاز تولیدی آن‌ها از کل گاز تولیدی توسط نمونه مورد آزمایش کم شده و مقدار تولید گاز خالص از تخمیر نمونه به دست آید. حجم گاز تولیدی در شیشه‌های حاوی نمونه ماده خوراکی در هر زمان توسط رابطه‌ی رگرسیونی بین حجم و فشار گاز محاسبه شده و از بسته نرم افزار آماری (SAS) ۹.۴ و رویه‌ی NLIN به منظور برازش داده‌ها از رابطه‌ی (شماره ۳) استفاده شد (ارسکف و مکدونالد ۱۹۷۹). رابطه شماره ۳: $P = a + b(1 - e^{-ct})$. در این معادله، P میزان تولید گاز در زمان t ، a میزان تولید گاز بخش محلول، b میزان تولید گاز بخش غیر محلول، c نرخ تولید گاز و t زمان انکوباسیون بود. آزمون تولید گاز در هر آزمون در سه دوره در روزهای مجزا انجام شد و در هر دوره حداقل ۳ فلاسک به ازای

هر تیمار و در اندازه‌گیری‌هایی که مستلزم حذف فلاسک پس از گشودن است، با سه تکرار به ازای هر زمان اندازه‌گیری انجام شد.

آزمون تولید گاز در هر آزمون در سه دوره در روزهای مجزا انجام شد و در هر دوره حداقل ۳ فلاسک به ازای هر تیمار و در اندازه‌گیری‌هایی که مستلزم حذف فلاسک پس از گشودن بود، با سه تکرار به ازای هر زمان اندازه‌گیری انجام شد.

تعیین میزان متان تولیدی و فراسنجه‌های شکمبه‌ای

به‌منظور تعیین میزان فراسنجه‌های مختلف شکمبه‌ای همانند جمعیت پروتوزوا، میزان متان تولیدی در ۲۴ ساعت و pH از انکوباسیون مجزا در هنگام انجام آزمون تولید گاز استفاده شد. مقادیر نمونه و محیط کشت و زمان انجام آزمون کاملاً مشابه فرایند فوق‌الذکر برای آزمون تولید گاز بود. در این آزمون سه فلاسک به ازای هر تیمار ۲۴ ساعت پس از شروع انکوباسیون بازگشایی شده و نمونه‌هایی برای تعیین مقادیر پروتوزوا و اندازه‌گیری میزان نیتروژن آمونیاکی و اسیدهای چرب فرار اخذ شد (ون سوست ۱۹۹۴). تعداد ۳ فلاسک دیگر در زمان ۲۴ ساعت پس از شروع انکوباسیون به‌منظور تعیین میزان متان تولیدی مورد استفاده قرار گرفت. به‌منظور تعیین میزان متان از تزریق ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۱ نرمال سدیم هیدروکسید و قرائت تفاضل گاز قابل اندازه‌گیری، پس از گذشت ۱ دقیقه از تزریق به‌منظور برآورد میزان متان استفاده شد (دیمیر و همکاران ۱۹۹۸). محتویات فلاسک‌ها با استفاده از توری ۴ لایه صاف شده و ۳ نمونه ۱ میلی‌لیتری از هر فلاسک به‌منظور شمارش پروتوزوا برداشته شد (دهوریتی ۲۰۰۵). ابتدا اندازه‌گیری pH نمونه‌ها با استفاده از دستگاه pH سنج مدل (Titroline easy) Schott Titrator اندازه‌گیری شد. سپس ۵۰ درصد محلول فرمالین به نسبت ۱:۱ به مخلوط نمونه و مایع شکمبه اضافه شد و در دمای اتاق نگهداری شد نمونه‌ها توسط متیلن بلو رنگ‌آمیزی شدند و مقدار ۱۰ میکرولیتر از نمونه توسط

Sampler برداشته و بر روی لام شیشه‌ای مخصوص قرار داده و در زیر میکروسکوپ نوری شمارش تعداد پروتوزواها انجام گرفت (دهوریتی ۲۰۰۵). به‌منظور تعیین مقدار و الگوی اسیدهای چرب فرار نمونه‌گیری از فلاسک‌های بازگشایی شده در ساعت ۲۴ پس از انکوباسیون انجام شد. محتویات فلاسک‌ها با استفاده از توری ۴ لایه پارچه‌ای صاف شده و ۳ نمونه ۱ میلی‌لیتری از هر فلاسک به‌منظور اندازه‌گیری VFA برداشته شد. نمونه مایع شکمبه بلافاصله با نسبت ۱:۵۰ با اسید سولفوریک ۵۰ درصد مورد محافظت قرار گرفته و پس از سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه تا زمان آنالیز در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند برای اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار از کروماتوگرافی گازی با ستون شیشه‌ای (۶۵،۱ متر × ۶،۴ میلی‌متر) فیلیپس مدل PU4410 به روش (اوتنستین و باتلر ۱۹۷۱) استفاده شد.

محاسبات و مدل آماری

مقادیر انرژی قابل متابولیسم، ماده آلی قابل هضم و مقدار اسیدهای چرب کوتاه زنجیر به ترتیب با استفاده از رابطه‌های ۴، ۵ و ۶ محاسبه شد. میزان انرژی قابل متابولیسم به وسیله فرمول زیر محاسبه شد (منکی و استینگس ۱۹۸۸).

$ME (MJ.Kg DM) = 1.06 + (0.157 \times GP) + (0.084 \times CP) + (0.22 \times CF) - 0.081 \times CA$
میزان ماده‌آلی قابل تخمیر از طریق فرمول پیشنهادی منکی و استینگس (۱۹۸۸) معادله‌ی شماره ۵ محاسبه شد.
(رابطه‌ی شماره ۵):

$$DOM\% = 0.9991 \times GP + 0.0595 \times CP + 0.0181 \times CA + 9$$

به‌منظور مقایسه اثر روش‌های مختلف فرآوری بر ترکیبات شیمیایی و مقادیر ترکیبات فنولیک از طرح کاملاً تصادفی (معادله شماره ۶) و به‌منظور ارزیابی داده‌های مربوط به فرآیندهای تجزیه‌پذیری در ابتدا از طرح بلوک کاملاً تصادفی (اثر دام به عنوان بلوک) استفاده شد، با این حال به دلیل عدم معنی‌داری اثر بلوک داده‌ها به صورت کاملاً تصادفی مورد آنالیز قرار گرفتند (معادله

شماره ۷). در طرح آماری مورد استفاده به منظور ارزیابی اثر فرآوری بر فرآسنجه‌های تولید گاز، میزان متان تولیدی و فرآسنجه‌های شکمبه‌ای، علاوه بر اثر اصلی تیمار، اثر دور انجام آزمون (Run) نیز مورد ارزیابی قرار گرفت (معادله شماره ۸). در طرح آماری مورد استفاده در تعیین میزان کنتیک تولید گاز و کنتیک تجزیه پذیری مواد مغذی اثر روزهای مختلف انجام آزمون و اثر زمان انکوباسیون (ساعت) به عنوان عامل تکرار شونده و اثر متقابل زمان انکوباسیون و نوع فرآوری در مدل آماری قرار گرفته (معادله شماره ۹) و در زمان آنالیز آماری با توجه به داده‌های خروجی، ساختار واریانس- کوواریانس نوع اول به عنوان بهترین ساختار مورد استفاده قرار گرفت. آنالیز آماری معادلات ۴، ۵ با استفاده از رویه مدل خطی تعمیم یافته و معادله شماره ۶ با استفاده از رویه مختلط نرم افزار آماری SAS ۹.۴ (۲۰۰۲) انجام شد. در ارتباط با تمامی معادلات مدل، تصحیح میانگین حداقل مربعات با استفاده از آزمون توکی و مقایسه میانگین‌ها با گزینه PDIFF انجام گرفته و داده‌ها به صورت میانگین حداقل مربعات و خطای استاندارد مربوطه در جداول گزارش شدند.

رابطه شماره ۶: $Y_i = \mu + T_i + e_i$

رابطه شماره ۷: $Y_{ij} = \mu + T_i + A_j + e_{ij}$

رابطه شماره ۸: $Y_{ij} = \mu + T_i + R_j + e_{ij}$

رابطه شماره ۹: $Y_{ij} = \mu + T_i + It_j + R_k + (T \times It)_{ij} + e_{ij}$

Y_i : مشاهده i ; μ : میانگین کل مشاهدات، T_i : اثر تیمار، A_j : اثر حیوان، R : اثر نوبت اجرا (روز انجام آزمون)، It_j : اثر زمان انکوباسیون، TI_{ij} : اثر متقابل زمان انکوباسیون و نوع فرآوری، e_{ij} : اثر اشتباه آزمایشی

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی

پرتوتابی میکروویو تفاله‌ی انگور قرمز مقدار ماده‌ی خشک موجود در تفاله‌ی انگور قرمز را ($P < 0.05$) افزایش داد. داده‌های مربوط به ترکیب شیمیایی تفاله‌ی انگور

قرمز پرتوتابی شده با میکروویو در زمان‌های مختلف در جدول ۱ آمده است. بیشترین مقدار افزایش در ماده‌ی خشک در تفاله‌ی انگور قرمز میکروویو ۶ دقیقه مشاهده شد. کاسووا و همکاران (۲۰۰۲) تاثیر پرتوتابی میکروویو را روی خشک کردن نخود جوانه زده مورد مطالعه قرار داده و به این نتیجه رسیدند که این نوع فرآوری در مقایسه با روش‌های معمول خشک کردن، با سرعت بیشتر و در مدت زمان کمتری نمونه‌های آزمایشی را خشک می‌کند. کادلک و همکاران (۲۰۰۲) افزایش میزان ماده خشک در اثر پرتوتابی میکروویو را به علت خشک شدن اولیه مواد آزمایشی در محفظه میکروویو دانسته‌اند مقدار پروتئین خام نیز در اثر این فرآوری افزایش یافت. بیشترین مقدار پروتئین خام در فرآوری میکروویو ۴ و ۶ دقیقه بود. یک روند افزایشی در مقدار ماده‌ی خشک و پروتئین خام با افزایش مدت زمان فرآوری مشاهده شد.

خلیل‌وندی و همکاران (۲۰۱۱) افزایش پروتئین خام علوفه‌ی اسپرس فرآوری شده با مواد اکسیدکننده و قلیایی را گزارش نمودند که دلیل آن را اکسید شدن بخشی از ماده خشک در اثر استفاده از مواد اکسید کننده و در نتیجه تغلیظ پروتئین خام در ماده خشک خوراک دانستند. نتایج مشابهی در زمینه افزایش میزان پروتئین خام در ماده خشک مواد تانن‌دار در اثر فرآوری با مواد اکسید کننده گزارش شده است (بن سالم و همکاران ۲۰۰۵). احتمالاً اکسید شدن قسمتی از ماده‌ی خشک در اثر پرتوتابی میکروویو سبب تغلیظ پروتئین خام و افزایش آن در مطالعه‌ی حاضر باشد. مقدار خاکستر موجود در تفاله‌ی انگور قرمز در اثر فرآوری با میکروویو ۴ دقیقه کاهش معنی‌داری ($P < 0.05$) نسبت به شاهد نشان داد. ولی در تیمار ۲ و ۶ دقیقه تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد نشان نداد. مقدار NDF تفاله‌ی انگور قرمز بر اثر این فرآوری افزایش یافت. بیشترین مقدار NDF در تیمار ۲ دقیقه‌ی میکروویو مشاهده شد. شمعی و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که پرتوتابی

همکاران (۱۹۹۳) و صالح و تارک (۲۰۰۶) علت این افزایش در دیواره سلولی را کمپلکس پروتئین-الیاف ایجاد شده در اثر تغییرات شیمیایی ناشی از حرارت دانسته‌اند که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد.

مایکروویو سبب افزایش دیواره‌ی سلولی در پوست لپه شد که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد و دلیل آن را کمپلکس پروتئین - الیاف ایجاد شده در اثر تغییرات شیمیایی ناشی از حرارت دانسته‌اند. همچنین برسانی و

جدول ۱- تأثیر پرتوتابی الکترون بر میزان ماده خشک (درصد) و ترکیب شیمیایی تفاله‌ی انگور قرمز (درصد ماده خشک)

Table 1- The effect of microwave irradiation on the dry matter (%) and chemical composition of red grape pomace (dry matter)

Chemical compounds	Control	پرتوتابی مایکروویو Microwave irradiation			SEM
		2min	4min	6min	
DM	94.4 ^c	95.5 ^b	96.25 ^b	97.3 ^a	0.197
CP	12.91 ^c	13.27 ^b	13.51 ^a	13.64 ^a	0.043
Ash	4.40 ^b	4.55 ^a	4.50 ^b	4.60 ^a	0.062
NDF	25.98 ^d	30.06 ^a	27.69 ^c	28.75 ^b	0.048

In each row data with different superscripts are statistically different ($P < 0.05$).

میزان مواد ضدتغذیه‌ای و ترکیبات رسوب دهنده‌ی پروتئین

امواج مایکروویو سبب کاهش معنی‌داری در کل ترکیبات فنولیک، تانن کل، تانن متراکم آزاد، تانن متراکم باند شده با پروتئین‌ها، تانن متراکم باند شده با الیاف و ترکیبات فنولی رسوب دهنده‌ی پروتئین نسبت به شاهد شد ($P < 0.05$). داده‌های مربوط به مواد ضد تغذیه‌ای تفاله‌ی انگور قرمز و همچنین ترکیبات فنولیک متصل به پروتئین و دیواره‌ی سلولی پرتوتابی شده با مایکروویو در جدول ۲ نشان داده شده است. در اثر این پرتوتابی با افزایش مدت زمان فرآوری با مایکروویو یک روند کاهشی در مواد ضد تغذیه‌ای در بین تیمارها دیده می‌شود. کاهش تانن در اثر پرتوتابی در مطالعه‌ی حاضر با گزارش محققین مطابقت داشت (شورنگ و همکاران ۲۰۱۱). مطالعاتی مبنی بر اثرات متناقض پرتوتابی بر عوامل ضد تغذیه‌ای در گیاهان مختلف وجود دارد که ممکن است به دلیل تفاوت در ماهیت ترکیبات شیمیایی گیاهان و استخراج بیش از حد ترکیبات فنولی و ترکیبات محلول سلولی باشد (بهگر و همکاران ۲۰۱۱). نتایج به دست آمده در این مطالعه در مورد تأثیر پرتودهی مایکروویو بر ترکیبات فنولی و تانن مطابق با نتایج حاصل

از مطالعات حبیب‌ا (۲۰۰۲) و صالح و تارک (۲۰۰۶) می‌باشد. حبیب‌ا (۲۰۰۲) تأثیر پرتوتابی مایکروویو را در مقایسه با سایر فرآیندهای حرارتی در نابودی اسید فیتیک، مهار کننده تریپسین و تانن نخود مورد بررسی قرار داد و اینگونه نتیجه‌گیری نمود که با افزایش زمان حرارت‌دهی، میزان نابودی ترکیبات ضد تغذیه‌ای افزایش می‌یابد. که با نتایج مطالعه‌ی حاضر مطابقت دارد. رامچاندوران و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که با اتوکلاو کردن میزان تانن دانه خلر کاهش یافت اما عوامل ضد تغذیه‌ای دیگر تحت تأثیر این روش فراوری قرار نگرفت. (صالح و تارک ۲۰۰۶) نیز به تأثیر مثبت اتوکلاو در کاهش تانن دانه نخود فرنگی اشاره کردند. رامچاندوران و همکاران (۲۰۰۸) عنوان کرده‌اند که این کاهش ممکن است در اثر تجزیه و یا از دست رفتن ترکیبات فنلی در دماهای بالا، یا در اثر ایجاد کمپلکس‌های نامحلول در اثر واکنش با سایر ترکیبات دانه از قبیل پروتئین باشد. آن‌ها اعلام کردند که اندازه‌گیری ترکیبات فنولیک متصل به پروتئین و دیواره سلولی می‌تواند راهکار مناسبی در جهت پاسخ به این سوالات باشد. همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، ترکیبات فنولیک متصل به بخش‌های مختلف از جمله پروتئین‌ها و

الیاف آورده شده است و ترکیبات فنولیک متصل به این بخش‌ها با پرتوتابی کاهش یافته است.

جدول ۲- اثر پرتوتابی گاما بر میزان تانن و ترکیبات فنولیک تفاله انگور قرمز (گرم بر ۱۰۰ گرم) و ترکیبات فنولی رسوب دهنده پروتئین (گرم بر ۱۰۰ گرم کل ترکیبات فنولیک)

Table 2- The effect of microwave irradiation on the amount of tannin and phenolic compounds, red grape pomace, and protein precipitation of phenolic compounds (grams per 100 grams of total phenolic compounds)

Anti-nutritional compounds	Control	Microwave irradiation			SEM
		2min	4min	6min	
Total phenolic compounds	7.72 ^a	6.16 ^b	4.72 ^c	3.51 ^d	0.368
Total tannin	6.12 ^a	4.66 ^b	3.36 ^c	2.78 ^d	0.272
Free condensed tannin	6.02 ^a	4.49 ^b	3.15 ^c	2.74 ^{cd}	0.260
Protein bind condensed tannin	5.34 ^a	3.84 ^b	2.54 ^{cd}	2.43 ^{cd}	0.217
Fiber condensed tannin	4.13 ^a	3.12 ^b	2.22 ^{cd}	1.88 ^d	0.181
Protein precipitation of phenolic compounds	68 ^a	55.30 ^b	43.41 ^c	38.91 ^d	3.335

In each row data with different superscripts are statistically different ($P < 0.05$).

میزان تولید گاز و ضرایب آن

پرتوتابی میکروویو توانست میانگین گاز تولیدی را در تفاله‌ی انگور قرمز تحت تاثیر قرار داده و منجر به افزایش حجم گاز تولیدی گردد ($P < 0.05$). در جدول ۳ میزان تولید گاز در زمان‌های مختلف فرآوری با میکروویو تفاله‌ی انگور قرمز نشان داده شده است. میزان تولید گاز در کلیه‌ی ساعات ۲، ۴ و ۶ دقیقه فرآوری افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان داده است در اکثر زمان‌های انکوباسیون مقدار تولید گاز در تیمار ۲ دقیقه بیشتر از سایر تیمارها بود. با افزایش مدت زمان پرتوتابی میکروویو یک روند کاهشی در میزان تولید گاز در بین تیمارها مشاهده شد که بیشترین میزان تولید گاز را در تیمار ۲ دقیقه در ساعت ۱۲۰ انکوباسیون می‌توان دید (۷۱/۹۸) که این مقدار برای شاهد (۵۵/۰۷) می‌باشد. بالا بودن میزان گاز تولیدی بیانگر بالا بودن انرژی متابولیسمی و همچنین نیتروژن قابل تخمیر و سایر مواد مغذی لازم برای فعالیت میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. باتوجه به این موضوع که میزان گاز تولیدی وابسته به ترکیبات شیمیایی آن ماده‌ی غذایی می‌باشد پس می‌توان نتیجه گرفت که عواملی از جمله گونه‌ی گیاه، زمان برداشت، بلوغ گیاه، روش‌های فرآوری و دیگر عواملی

که ترکیب شیمیایی ماده‌ی غذایی را تحت تاثیر قرار می‌دهند بر میزان گاز تولیدی اثر دارند. گاز تولیدی تحت تاثیر هیچ عاملی به جز ترکیبات شیمیایی و خصوصیات فیزیکی مواد غذایی قرار نمی‌گیرد اما تغییر در فعالیت میکروبی مایع شکمبه ممکن است روی تخمیر اثر بگذارد (منکی و همکاران ۱۹۷۹). در تحقیقی پرینیان خواجه دیزج و همکاران (۲۰۱۰) با موضوع استفاده از روش تولید گاز جهت بررسی اثرات میکروویو بر فرآسنگه‌های تغذیه‌ای دانه‌ی جو و ذرت اعلام کردند که پرتوتابی میکروویو توانست میانگین گاز تولیدی در ساعات ۲۴ را در دانه‌ی جو تحت تاثیر قرار داده و منجر به افزایش حجم گاز تولیدی گردد. تولید گاز بخش محلول و غیر محلول دانه‌ی جو نیز در اثر این فرآوری افزایش معنی‌داری نشان داد. از مشخصه‌های تولید گاز در دانه‌ی جو، نرخ تولید گاز با افزایش مدت فرآوری روند کاهشی را نشان می‌دهد. آنها افزایش مدت زمان فرآوری را که باعث کاهش بخش نرخ تجزیه می‌شود، باعث افزایش بخش محلول و غیر محلول می‌دانند. پرتوتابی میکروویو با ایجاد تغییراتی در ساختار شیمیایی تفاله‌ی انگور قرمز باعث افزایش میزان گاز تولیدی شده است. لیچ (۱۹۶۵) و ویلیامز و باولر (۱۹۸۲) عنوان کردند حرارت‌دهی به همراه بخار

که با نتایج این مطالعه در بخش کند تجزیه مطابقت دارد دلیل آن را می‌توان به کاهش حلالیت پروتئین در اثر پرتوتابی دانست. صادقی و شورنگ (۲۰۰۸) حرارت حاصله از مایکروویو را علت افزایش بخش کند تجزیه بیان کردند. در آن آزمایش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و خنثی نیز با افزایش دز پرتوتابی افزایش یافت. که با نتایج مطالعه‌ی حاضر مطابقت دارد. در نتیجه می‌توان به این نکته اشاره نمود که بخش زیادی از افزایش تولید گاز و افزایش ضرایب تولید گاز در آزمایش حاضر می‌تواند به دلیل کاهش ترکیبات دیواره سلولی در اثر تجزیه پیوندهای لیگنوسلولزی باشد.

برخی دانه‌های غلات، منجر به تغییرات فیزیکی و شیمیایی گرانول‌های نشاسته شده و با شکستن باندهای هیدروژنی و جذب آب باعث ژلاتینه شدن آن‌ها شده و قابلیت دسترسی آن‌ها برای تجزیه و تخمیر توسط میکروارگانیسم‌ها را افزایش می‌دهد. هر ماده‌ی خوراکی که همی سلولز بالایی داشته باشد مقدار تولید گاز بیشتری را خواهد داشت (بلومل و اروسکف ۱۹۹۳). پرتوتابی مایکروویو، دسترسی کربوهیدرات برای میکروارگانیسم‌ها را مورد تغییر قرار می‌دهد. بیشترین اثر پرتوتابی مایکروویو مربوط به کاهش گرانول‌های نشاسته به واکنش‌های گوارشی است. به‌نحوی که متعاقب این فرآوری مرطوب، پیوندهای عرضی پروتئین‌ها از هم گسسته و گرانول‌های نشاسته‌ی محصور در ماتریس پیچیده‌ی پروتئینی ژلاتینی شده و با سهولت بیشتری در اختیار میکروارگانیسم‌ها و آنزیم‌های هاضم مترشح از منابع میکروبی و یا حیوانی قرار می‌گیرند (تئورر و همکاران ۱۹۹۹). افزایش میزان گاز در مطالعه‌ی حاضر را می‌توان بدلیل کاهش مواد فنولیک موجود متصل به دیواره‌ی سلولی دانست. میزان ضرایب تولید گاز تفاله‌ی انگور قرمز نیز در جدول ۳ گزارش شده است. تولید گاز بخش b یا بخش قابل تخمیر در اثر این فرآوری افزایش معنی‌داری ($P < 0.05$) در فرآوری ۲ و ۶ دقیقه نشان داده است که روند کاهشی غیر معنی‌داری با افزایش مدت زمان فرآوری نشان داده است. در زمان ۴ دقیقه تأثیری بر بخش نامحلول b نداشته است. در حالی که بخش c در زمان ۴ دقیقه افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان داده ولی بخش c در تیمار ۲ و ۶ دقیقه تفاوت معنی‌داری نشان نداده است. داده‌های کمی در خصوص اثرات پرتوتابی‌ها روی تفاله‌ها وجود دارد. در مطالعه‌ی شمعی و همکاران (۲۰۱۵) با عنوان تأثیر پرتوتابی مایکروویو بر روی کنجاله‌ی سویا بخش کند تجزیه و ثابت نرخ تجزیه به ترتیب افزایش و کاهش یافت

جدول ۳- تأثیر تیمار آزمایشی مایکروویو بر حجم گاز تولیدی و ضرایب تولید گاز تفاله انگور قرمز در زمان‌های مختلف (میلی‌لیتر به ازاء ۵۰۰ میلی گرم ماده خشک)

Table 3- The effect of microwave irradiation on the volume of produced gas and the gas production coefficients of red grap pomace at different times (mL per 500 mg of dry matter)

Incubation times	microwave irradiation				SEM
	Control	2Min	4Min	6Min	
2	8.40 ^b	10.43 ^a	8.85 ^{ab}	9.90 ^a	0.57
4	13.07 ^d	17.18 ^b	19.81 ^a	15.92 ^c	0.57
6	19.08 ^d	23.2 ^b	24.47 ^a	20.21 ^c	0.57
8	21.13 ^c	28.16 ^a	28.31 ^a	23.68 ^b	0.57
10	22.66 ^c	30.59 ^a	30.29 ^a	25.65 ^b	0.57
12	24.18 ^d	34.13 ^a	32.41 ^b	28.67 ^c	0.57
24	32.59 ^d	45.53 ^b	49.19 ^a	37.83 ^c	0.57
48	38.53 ^d	49.45 ^a	42.72 ^c	47.06 ^b	0.57
72	45.44 ^d	60.55 ^a	48.06 ^c	55.92 ^b	0.57
96	52.57 ^c	69.71 ^a	54 ^b	52.57 ^c	0.57
120	55.07 ^d	71.98 ^a	57.69 ^c	67.04 ^b	0.57
Coefficients					
b	55.34 ^b	70.36 ^a	51.36 ^b	68.86 ^a	3.10
c	0.025 ^c	0.03 ^c	0.068 ^a	0.024 ^c	0.001

In each row, data with different superscripts are statistically different ($P < 0.05$).

b: Potentially fermentable section c: fermentation rate

میزان تولید متان و فرآسنجه‌های شکمبه‌ای

میزان تولید متان در اثر تیمارهای مایکروویو افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد در همه‌ی تیمارها نشان داد. مقدار تولید متان در جدول ۴ گزارش شده است. با افزایش مدت زمان پرتوتابی مقدار تولید متان یک روند صعودی به خود گرفته است که بیشترین مقدار تولید متان در تیمار ۶ دقیقه می‌باشد (۳۰/۵۵). تانداوال و همکاران (۲۰۰۵) مهار رشد باکتری‌های متانوژن را به خاصیت باکتریواستیک و باکتریوسیدی تانن‌های متراکم مربوط می‌دانند. گول ماکار (۲۰۱۲) بیان کردند که تانن‌های قابل هیدرولیز نسبت به تانن‌های متراکم منجر به کاهش بیشتر جمعیت باکتری‌های متانوژن و یا میکروارگانیزم‌هایی که تولید بیشتر یون هیدروژن می‌کنند، می‌شوند. همچنین فرآوری توسط مایکروویو موجب تضعیف نیروهای اندروالسی بین مولکول‌ها و پیوندهای هیدروژنی می‌شود و باعث افزایش ترکیبات محلول می‌گردد. لذا با افزایش زمان پرتودهی، دمای فرآیند آماده‌سازی توسط مایکروویو افزایش می‌یابد و

باعث تخریب دیواره‌ی سلولی پسماندهای مواد خوراکی شده و در نهایت موجب محلولیت آنها می‌گردد. این عمل موجب آزاد سازی آنزیم‌ها و ترکیبات آلی از پروتوپلاسم می‌شود و در نتیجه دسترسی میکروارگانیزم‌ها افزایش یافته و تولید متان و بیوگاز روزانه نیز افزایش می‌یابد (چنج و لیو ۲۰۱۰). افزایش تولید متان در این مطالعه احتمالاً به دلیل افزایش رشد جمعیت باکتری‌های تولید کننده‌ی متان به دلیل کاهش تانن‌های متراکم در اثر پرتوتابی باشد. جمعیت پروتوزوایی در اثر این فرآوری نیز در همه‌ی تیمارها افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد. بین پروتوزوئ‌های شکمبه با متانوژن‌ها رابطه‌ی همزیستی مفیدی وجود دارد لذا مهار متانوژن‌ها منجر به مهار پروتوزوئ‌ها و کاهش جمعیت پروتوزوایی می‌گردد. پاترا و ساکسنا (۲۰۰۹) و سیسلاک و همکاران (۲۰۱۲) کاهش گاز متان تولیدی را علاوه بر اثر مستقیم تانن‌های متراکم بر باکتری‌های متانوژن، بر تأثیر مستقیم آن‌ها بر جمعیت پروتوزوایی بیان کردند. بنابراین در تحقیق حاضر افزایش جمعیت متانوژن‌ها در اثر فرآوری

را می‌توان دلیل افزایش جمعیت پروتوزوئرها دانست. در مطالعه‌ی حاضر با افزایش مقدار جمعیت متانوژن‌ها احتمالاً به این دلیل مقدار جمعیت پروتوزایی افزایش یافته است. هر محصول نهایی که در پایان تخمیر اندازه‌گیری شده مستقیماً به توده‌ی مواد هضم شده بستگی دارد. مقدار pH در همه‌ی تیمارها افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد ولی تفاوت معنی‌داری نسبت به هم مشاهده نشد. مقدار تجزیه‌پذیری ماده خشک در مطالعه‌ی حاضر نیز افزایش یافت همانطور که در جدول هم مشاهده می‌شود با افزایش مدت زمان فرآوری مقدار تجزیه‌پذیری ماده خشک نیز در شیشه‌های ۲۴ ساعت انکوباسیون نیز افزایش یافته است. فروتز و همکاران (۲۰۰۴) بیان کردند که میزان گاز تولیدی معرف میزان تجزیه‌پذیری در آزمون تولید گاز می‌باشد از

آنجایی که در اثر فرآوری با مایکروویو دسترسی میکروارگانیسم‌ها به دیواره‌ی سلولی با غیر فعال شدن تانن‌های متراکم افزایش یافته است. در دیواره‌ی سلولی، همی سلولز در پیوند با سلولز قرار دارد. هضم میکروبی سلولز تا زمانی که همی سلولز برداشته یا شکسته نشود، محدود خواهد بود از طرف دیگر، هضم میکروبی همی سلولز به دلیل اتصال آن با لیگنین و اسیدهای فنلی و تانن‌ها پایین است. بنابراین لیگنین زدایی باعث حل شدن بیشتر همی سلولز و در نتیجه افزایش هضم همی سلولز و سلولز خواهد شد. بنابراین افزایش قابلیت هضم در تحقیق حاضر را می‌توان به کاهش اتصال تانن‌ها با سلولز و همی سلولز در دیواره‌ی سلولی و افزایش تجزیه‌پذیری آنها نسبت داد (جدول ۲).

جدول ۴- تأثیر تیمار آزمایشی مایکروویو بر فرآیندهای تخمیری در مدت ۲۴ ساعت انکوباسیون
Table 4- The effect of microwave irradiation on fermentation parameters within 24 hours of incubation

fermentation parameters	Control	microwave irradiation			SEM
		2Min	4Min	6Min	
Methane (ml /500 mg DM)	10.95 ^c	21.65 ^b	22.25 ^b	30.55 ^a	0.243
PH	6.91 ^b	6.96 ^a	6.97 ^a	6.95 ^a	0.005
Protozoa (ml/105×)	9.6 ^d	10.6 ^c	11.2 ^b	11.3 ^a	0.01
In vitro Digestibility	27.5 ^d	29.5 ^c	31.82 ^b	34.59 ^a	0.571

In each row, data with different superscripts are statistically different ($P < 0.05$).

اسیدهای چرب فرار تولیدی مایع شکمبه در شیشه‌های تست گاز ۲۴ ساعت انکوباسیون مقدار اسیدهای چرب فرار تولیدی در اثر پرتوتابی مایکروویو تغییر معنی‌داری نشان داد ($P < 0.05$). مقدار والریک اسید در اثر پرتوتابی مایکروویو تفاله‌ی انگور قرمز در کلیه‌ی تیمارها کاهش معنی‌داری ($P < 0.05$) نسبت به شاهد نشان داده است و بیشترین کاهش در میزان والریک اسید در تیمار ۲ دقیقه مشاهده شد. مقدار ایزوالریک اسید در کلیه‌ی تیمارها افزایش یافت ($P < 0.05$). بیشترین مقدار ایزوالریک اسید در تیمار ۲ دقیقه مشاهده شد. مقدار بوتیریک اسید در تیمار

۶ دقیقه افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد ($P < 0.05$). مقدار پروپیونیک+بوتیریک اسید در تیمار ۲ و ۴ دقیقه افزایش یافت. ولی در تیمار ۶ دقیقه کاهش یافت. مقدار استیک اسید نیز در تیمار ۴ دقیقه افزایش ولی در تیمار ۲ و ۶ دقیقه کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد ($P < 0.05$). مقدار کل اسیدهای چرب نیز در همه‌ی تیمارها کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد. بیشترین مقدار کاهش در تیمار ۴ دقیقه مشاهده می‌شود (۱۱۵/۳۲) که این میزان مقدار برای شاهد (۱۴۳/۰۱) می‌باشد. اسیدهای چرب فرار و توده‌ی میکروبی محصولات نهایی هضم شکمبه‌ای هستند. هر محصول نهایی که در

پایان تخمیر اندازه‌گیری شده مستقیماً به توده‌ی مواد هضم شده بستگی دارد (منکی و استینگس ۱۹۸۸). تولید گاز با تولید خالص اسیدهای چرب فرار و سنتز میکروبی رابطه‌ی خطی دارد. هر چند حجم خالص گاز تولید شده به ازای هر واحد سوبسترای هضم شده نشان دهنده‌ی متابولیسم میکروبی است، اما نمی‌توان به تولید تجمعی

گاز به عنوان یک شاخص برای پتانسیل رشد میکروبی یک خوراک اعتماد کرد. محققان بیان نمودند که همبستگی مثبتی بین تولید گاز و تولید اسیدهای چرب فرار و همبستگی منفی بین تولید گاز و سنتز پروتئین میکروبی وجود دارد (بلومل و همکاران ۱۹۹۷).

جدول ۵- تأثیر پرتوتابی مایکروویو بر ترکیبات اسیدهای چرب فرار در شیشه‌های تست گاز به مدت ۲۴ ساعت انکوباسیون

Table 5- The effect of microwave irradiation on volatile fatty acid compounds in gas test glasses during 24 hours of incubation

VFA	Microwave irradiation				SEM
	Control	2Min	4Min	6Min	
Valeric acid (%)	0.85 ^a	0.25 ^c	0.53 ^b	0.32 ^{cb}	0.05
Iso valeric acid (%)	0.22 ^d	1.97 ^a	0.53 ^b	0.44 ^c	0.008
Butyric acid (%)	22.07 ^b	16.23 ^d	19.01 ^c	26.04 ^a	0.01
Propionic + Isobutyric acid (%)	18.92 ^c	31.52 ^a	19.27 ^b	17.15 ^d	0.02
Acetic acid (%)	57.94 ^b	50.03 ^d	60.64 ^a	56.03 ^c	0.03
Total VFA (millimoles/ml)	143.01 ^a	124.21 ^c	115.32 ^d	141.93 ^b	0.09

In each row, data with different superscripts are statistically different ($P < 0.05$).

فرآسنجه‌های تخمینی انرژی قابل متابولیسم، ماده آلی قابل هضم و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر پرتوتابی مایکروویو فرآسنجه‌های انرژی متابولیسمی، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و ماده آلی قابل هضم تفاله‌ی انگور قرمز را افزایش داد ($P < 0.05$). داده‌های مربوط به پارامترهای تخمینی در جدول ۶ گزارش شده است. مقادیر گزارش شده برای پارامترهای موجود در جدول از طریق روابط رگرسیونی بین ترکیب شیمیایی خوراک و میزان گاز تولیدی در ۲۴ ساعت محاسبه شده است. افزایش مقدار گاز تولیدی در ۲۴ ساعت انکوباسیون شیشه‌های تست گاز باعث افزایش فرآسنجه‌های تخمینی در تفاله‌ی انگور قرمز پرتوده‌ی شده با مایکروویو شد. مقدار انرژی متابولیسمی در اثر پرتوتابی مایکروویو افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد. بیشترین

مقدار انرژی متابولیسمی مربوط به تیمار ۶ دقیقه - (۱۴/۸۹) می‌باشد که این مقدار برای شاهد (۱۱/۴۳) می‌باشد. همچنین ماده‌ی آلی قابل هضم در همه‌ی تیمارها افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد که بیشترین مقدار آن مربوط به تیمار ۶ دقیقه می‌باشد (۶۵/۴۶). همچنین مقدار اسیدهای چرب کوتاه زنجیر نیز افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد. که در این بخش نیز بیشترین مقدار در تیمار ۶ دقیقه مشاهده می‌شود. افزایش ماده‌ی آلی قابل هضم در تحقیق حاضر را می‌توان به غیر فعال شدن تانن‌های متراکم و در دسترس قرار گرفتن بخش‌های مختلف دیواره سلولی و نشاسته در اثر پرتوتابی نسبت داد. همچنین مقدار اسیدهای چرب کوتاه زنجیر ارتباط مستقیمی با انرژی قابل متابولیسم دارد. زیرا با افزایش مقدار انرژی متابولیسمی، مقدار اسیدهای چرب کوتاه زنجیر نیز افزایش می‌یابد (منکی و استینگس ۱۹۹۸).

جدول ۶- فراسنجه‌های تخمینی برای تفاله‌ی انگور قرمز پرتوتابی شده با مایکروویو با استفاده از روش تولید گاز

Table 6- Estimated parameters for raw and irradiated red grap pomace by microwave using gas production

Estimated parameters	Control	Microwave Irradiation			SEM
		2Min	4Min	6Min	
ME	11.43 ^d	12.64 ^c	13.43 ^b	14.89 ^a	0.042
DOM	47.04 ^d	49.27 ^c	57.74 ^b	65.64 ^a	0.216

ME: metabolizable energy(Mcal/kg), DOM: organic matter digestibility(%DM)

In each row, data with different superscripts are statistically different ($P < 0.05$)

کنتیک و فرآسنجه‌های تجزیه پذیری ماده خشک پرتوتابی مایکروویو توانست کنتیک و فرآسنجه‌های تجزیه پذیری را در تفاله‌ی انگور قرمز تغییر دهد. و منجر به افزایش و کاهش تجزیه پذیری در تفاله‌ی انگور قرمز در سطح ($P < 0.05$) شود. داده‌های مربوط به کنتیک تجزیه پذیری تفاله‌ی انگور قرمز پرتوتابی شده با مایکروویو در زمان‌های مختلف در جدول ۷ گزارش شده است.

جدول ۷- تأثیر پرتوتابی مایکروویو بر کینتیک و فرآسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک تفاله‌ی انگور قرمز

Table 7- The effect of microvawe irradiation on the kinetics and degradability of red grap pomace dry matter

Incubation times	Control	microvawe irradiation			SEM
		2Min	4Min	6Min	
2	14.66 ^b	14.13 ^b	16.66 ^a	13.33 ^b	0.54
4	16.69 ^{ab}	16.39	17.73 ^a	15.19 ^c	0.54
8	17.93 ^{ab}	16.96 ^b	18.79 ^a	16.93 ^b	0.54
12	18.86 ^b	18.39 ^b	19.96 ^a	18.93 ^b	0.54
24	21.73 ^b	20.13 ^c	22.13 ^a	21.23 ^{ab}	0.54
48	26.19 ^a	24.59 ^b	26.06 ^a	24.06 ^b	0.54
72	29.93 ^b	28.66 ^b	31.25 ^a	25.83 ^c	0.54
96	31.59 ^{ab}	30.06 ^b	32.95 ^a	27.99 ^c	0.54
Parameters					
a (%)	7.68	7.43	8.08	7.35	1.36
b (%)	21.29	19.94	18.21	18.33	0.921
c (h^{-1})	0.063	0.064	0.059	0.072	0.035
P(k=0.02)	23.78 ^a	22.63 ^{ab}	22.85 ^{ab}	21.65 ^b	0.305
P(k=0.06)	18.55 ^{ab}	17.73 ^{ab}	19.21 ^a	17.30 ^b	0.435
P(k=0.08)	17.03 ^{ab}	16.31 ^{ab}	18.08 ^a	15.99 ^b	0.448

A: solution section b: potentially degradable section c: degradation rate k: pasage rate P: effective degradability

In each row, data with different superscripts are statistically different ($P < 0.05$)

بیشترین مقدار تجزیه‌پذیری مربوط به تیمار ۴ دقیقه در اکثر ساعات انکوباسیون در شکمبه نسبت به شاهد می‌باشد. همچنین تجزیه‌پذیری ماده خشک در تیمار ۲ دقیقه تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد نداشت ولی در تیمار ۶ دقیقه کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد پیدا کرده است. صادقی و شورنگ (۲۰۰۸) عنوان کردند که میکرونیازاسیون به مدت ۳ دقیقه باعث ژلاتیناسیون نشاسته کنجالی‌سویا شده و از این طریق اندکی تجزیه پذیری ماده خشک را افزایش می‌دهد. فروتز و همکاران (۲۰۰۴) اعلام کردند که تانن‌های موجود در مواد خوراکی تجزیه پذیری ماده خشک را کاهش می‌دهد. داده‌های مربوط به فرآسنجه‌های تجزیه‌پذیری تفاله‌ی انگور قرمز پرتوتابی شده با مایکروویو در زمان‌های مختلف نیز در جدول ۸ گزارش شده است. در اثر پرتوتابی مایکروویو هیچ کدام از فرآسنجه‌های a, b و c تفاوت معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان ندادند. در نرخ عبور ۰/۰۸ مقدار نرخ عبور تفاله‌ی انگور قرمز مایکروویو ۴ دقیقه افزایش معنی‌داری را نسبت به سایر زمان‌های فرآوری نشان

داده است. ولی در سرعت عبور ۰/۰۲ و ۰/۰۸ این مقدار در فرآوری ۶ دقیقه افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد.

کنتیک و فرآسنج‌های تجزیه‌پذیری پروتئین خام

اثر پرتوتابی میکروویو در همه‌ی زمان‌های فرآوری بر کنیتیک تجزیه‌پذیری پروتئین خام تفاله انگور قرمز معنی‌دار بود ($P < 0/05$). مقدار تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین خام در فرآوری ۲، ۴ و ۶ دقیقه کاهش معنی‌داری را در اکثر زمان‌های انکوباسیون نسبت به شاهد نشان داد که این کاهش برای تیمار ۶ دقیقه بیشترین مقدار نسبت به شاهد بود. این مقدار در تیمار ۶ دقیقه در ساعت ۱۲ انکوباسیون برای شاهد و تیمارهای ۲، ۴ و ۶ دقیقه به ترتیب (۲۸/۳۷، ۲۷/۴۵، ۲۵/۸۲ و ۲۴/۳۹) می‌باشد. همچنین پرتوتابی میکروویو بر روی فرآسنج‌های تجزیه‌پذیری پروتئین خام نیز معنی‌دار می‌باشد ($P < 0/05$). بخش A یا بخش تجزیه‌پذیری سریع کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد. با افزایش مدت زمان پرتودهی یک روند نزولی در بین تیمارها مشاهده شد که این کاهش در مقدار بخش A در بین تیمار ۴ و ۶ معنی‌دار نمی‌باشد. بیشترین مقدار کاهش بخش A در تیمار ۶ دقیقه مشاهده شد (۷/۳۰ در مقابل ۹/۵۷). در بخش تجزیه‌پذیری کند یا B و بخش C پروتئین تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد مشاهده نشد. تجزیه‌پذیری مؤثر پروتئین خام در کلیه نرخ‌های عبور ۰/۰۲، ۰/۰۶ و ۰/۰۸ کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد که بیشترین مقدار کاهش در تیمار ۶ دقیقه در نرخ عبور ۰/۰۸ مشاهده می‌شود. با افزایش مدت زمان پرتودهی یک سیر نزولی در کلیه تیمارها مشاهده شد در همه‌ی نرخ‌های عبور مشاهده شد. در تیمار ۲ دقیقه در نرخ عبور ۰/۰۲ تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد مشاهده نشد. همان‌گونه که در جدول نیز مشاهده می‌شود پرتوتابی میکروویو تأثیری بر روی بخش B نداشت. معمولاً با افزایش قابلیت حل شدن پروتئین در مایع شکمبه، تجزیه شدن آن نیز افزایش می‌یابد (موسسه‌ی تحقیقات ملی

۲۰۰۱). کاهش تجزیه‌پذیری بخش A پروتئین را می‌توان به ایجاد پیوندهای عرضی، شکستن پیوندهای هیدروژنی و سایر پیوندهای ضعیف غیر کووالانسی، تغییر موقعیت اسیدهای آمینه و در نهایت افزایش آبگریزی سطح پروتئین‌ها ارتباط داد. با توجه به اینکه گروه‌های جانبی اسیدهای آمینه آبگریز، گروه فعال شیمیایی آنزیم‌های پپسین، تریپسین و کیموتریپسین هستند. این روش عمل-آوری شرایط مناسبی برای فعالیت بیشتر تریپسین و کیموتریپسین در روده را فراهم می‌کنند مورای و همکاران (۲۰۰۳). محققان در تحقیقی اعلام کردند که افزایش بخش B پروتئین خام کنجاله‌های پرتوتابی شده را می‌توان به افزایش آبگریزی سطح مولکول پروتئین به دلیل جدا شدن پیوندهای هیدروژنی و سایر پیوندهای ضعیف غیر کووالانسی و تغییر موقعیت اسیدهای آمینه ارتباط داد (ون سوست و همکاران ۱۹۹۴). در سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل فرض بر این است که بخش C پروتئین در شکمبه تجزیه نمی‌شود. این بخش با صدمه حرارتی رابطه‌ی مستقیم دارد (مجون و همکاران ۲۰۱۰). در سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل، کاهش بخش‌های A و B₁ با کاهش میزان تجزیه شدن پروتئین در شکمبه و افزایش RUP همراه است (لانزاس و همکاران ۲۰۰۷). در صورت عدم اثر منفی بر تجزیه شدن RUP در روده می‌تواند عملکرد تولیدی و تولید مثلی گاوهای شیرده اثر مثبت داشته باشد (موسسه‌ی تحقیقات ملی ۲۰۰۱).

جدول ۸- تأثیر پرتوتابی مایکروویو بر کینتیک و فرآسنجی‌های تجزیه‌پذیری پروتئین خام انگور قرمز

Table 8- The effect of microwave irradiation on the kinetics and degradability of red grape pomace crud protein

Incubation times	Control	Microwave irradiation			SEM
		2Min	4Min	6Min	
2	10.75 ^a	9.16 ^b	8.30 ^c	7.39 ^d	0.214
4	12.87 ^a	11.76 ^b	10.55 ^c	9.69 ^d	0.214
8	14.15 ^a	12.92 ^b	10.91 ^c	10.25 ^c	0.214
12	15.12 ^a	13.68 ^b	12.40 ^c	12.31 ^c	0.214
24	18.10 ^a	17.12 ^b	16.24 ^c	15.44 ^d	0.214
48	22.75 ^a	21.74 ^b	20.70 ^c	19.36	0.214
72	26.63 ^a	24.64 ^b	23.24 ^c	22.11 ^d	0.214
96	28.37 ^a	27.45 ^b	25.82 ^c	24.39 ^d	0.214
Parameters					
a (%)	9.57 ^a	8.50 ^b	7.65 ^c	7.30 ^c	0.142
b (%)	20.68	20.46	20.00	18.47	0.640
c (h ⁻¹)	0.024	0.023	0.022	0.024	0.002
P(k=0.02)	20.80 ^a	19.54 ^b	18.27 ^c	17.30 ^d	0.101
P(k=0.06)	15.47 ^a	14.26 ^b	13.14 ^c	12.45 ^d	0.121
P(k=0.08)	14.34 ^a	13.15 ^b	12.07 ^c	11.43 ^d	0.108

A: solution section b: potentially degradable section c: degradation rate k: passage rate P: effective degradability

In each row, data with different superscripts are statistically different (P < 0.05)

نتیجه‌گیری

بهبود بخشید و چون مدت زمان ۲ و ۴ دقیقه پرتوتابی، اکثر فرآسنجی‌های تفاله‌ی انگور قرمز را بیشتر از ۶ دقیقه‌ی فرآوری بهبود بخشید و با توجه به صرفه جویی در وقت و هزینه پیشنهاد می‌شود از پرتوتابی مایکروویو به مدت ۴ دقیقه در فرآوری تفاله‌ی انگور قرمز استفاده شود.

با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان نتیجه گرفت که پرتوتابی مایکروویو می‌تواند به دلیل غیر فعال کردن تانن‌های موجود و همچنین افزایش تجزیه پذیری در تفاله‌ی انگور قرمز ارزش غذایی این ماده‌ی خوراکی را

منابع مورد استفاده

- Abarghuei MJ and Ruzbehan Y, 2013. The influence of the grape pomace on gas production parameters and protozoa population of rumen inoculum of sheep. *Journal of Iranian Animal Science* 44: 375-384.
- Asadnejad B, Pirmohammadi R and Khalilvandi-Behroozyar H, 2018. Effectsof electron irradiation on nutritional value of red grapepomaceusing in vitroand in situ nylon bags techniques. *Journal Ruminant Reserch* 6:31-48. (In Persian)
- AOAC, 2000. Official methods of analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC. USA.
- Blummel M and Orskov ER, 1993. Comparison of in vitro gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. *Animal Feed Science and Technology* 40: 109-119.
- Anonymous, 2003. Iranian Agricultural Statistics. General Directorate of Agricultural Statistics and Information.
- Anonymous, 2003. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available at <http://www.faostat.FAO.org> No. 12. FAO, Rome.
- Behgar M, Ghasemi S, Naserian A, Borzoie A and Fatollahi H, 2011. Gamma radiation effects on phenolicsantioxidants activity and in vitro digestion of pistachio (*Pistachia vera*) hull. *Radiation Physics and Chemistry* 80: 963-967.

- Bressani T, 1993. Grain quality of common beans. *Food Review International* 9: 237–297.
- Blummel M, Makkar HPS and Becker K, 1997. In vitro gas production: a technique revisited. *Jornal of Animal Physiology Animal Nutrition* 77: 34–24.
- Ben Salem L, Saghrouni H, Nefzaoui A, 2005. Attempts to deactivate tannins in fodder shrubs with physical and chemical treatments. *Animal Feed Science and Technology* 122:109–12.
- Calsamiglia S, Busquet M, Cardozo PW, Castillejos L and Ferret A, 2007. Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Jornal of Dairy Science* 90: 2580–2595.
- Cheng XY and Liu CZ, 2010. Enhanced biogas production from herbal-extraction process residues by microwave-assisted alkaline pretreatment. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 85: 127–131.
- Cieslak A, Zmora P, Pers-Kamczyc E and Szumacher-Strabel M, 2012. Effects of tannins source (*Vaccinium vitis idaea* L.) on rumen microbial fermentation in vivo. *Animal Feed Science and Technology* 176: 102–106.
- Demeyer D, De Meulemeester M, De Graeve K and Gupta BW, 1988. Effect of fungal treatment on nutritive value of straw. *Journal Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent* 53: 1811–1819.
- Dehority BA, 2005. Effect of pH on viability of *Entodinium caudatum*, *Entodinium exiguum*, *Epidinium caudatum*, and *Ophryoscolex purkynjei* in vitro. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 52: 339–342.
- Frutos P, Hervas G, Giraldez FJ and Mantecon AR, 2004. Review. Tannins and ruminant nutrition, *Spanish Journal of Agricultural Research* 2: 191–202.
- FASS, 2010. Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Research and Teaching, 3rd edition. Federation of Animal Science Societies. Champaign, IL, USA
- Goel G, and Makkar HPS, 2012. Methane mitigation from ruminants using tannins and saponins. *Journal of Tropical Animale Health Production* 44: 729–739.
- Habiba RA, 2002. Changes in anti nutrients, protein solubility, digestibility and HCL extrability of ash and phosphorus in vegetable peas as affected by cooking methods. *Food Chemistry* 77: 187–192.
- International Atomic Energy Agency, "Quantification of Tannins in Tree Foliage", IAEA, Vienna, Austria, 2000.
- Jayanegara A, Goel G, Makkar HPS and Becker K, 2010. Reduction in methane emissions from ruminants by plant secondary metabolites: Effects of polyphenols and saponins. In: N.E. Odongo, M. Garcia & G.J. Viljoen (eds), *Sustainable Improvement of Animal Production and Health*. Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome 2010: 151–157.
- Kadlec P, Kaasova J, Dostalova J, Zatopkova M, Hosnedl V and Hrachovinova J, 2002. Microwave treatment on drying of germinated pea. *Czech Journal of Food Science* 20: 23–30.
- Kaasova J, Hubackova B, Kadlec P, Prihoda J and Bubnik Z, 2002. Chemical and biochemical changes during microwave treatment of wheat. *Czech Journal Food Scienc* 20: 74–78.
- Khalilvandi-Behroozyar H, Rezayazdi K and Dehghan-Banadaky M, 2011. Effects of Processing Methods on Sainfoin Digestibility, Degradability and Rumen and Blood Parameters of Holstein Dairy Cows. *Journal of Animal Science Reserch* 21:90–103. (In Persian)
- Leach HW, 1965. Gelatinization of starch. In: *Starch, Chemistry and Technology*, Academic Press, New York.
- Lanzas CL, Tedeschi O, Seo S and Fox DG, 2007. Evaluation of protein fractionation systems used in formulating rations for dairy cattle. *Jornal of Dairy Science* 90: 507–521.
- Menke KH and Steingass H, 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal research and Development* 28: 7–55.
- Menke KH, Raab L, Salewski A, Steingass H, Fritz D, Schneider W, 1979. The estimation of the digestibility and metabolisable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor. *Journal of Agricultur Science (Cambridge)* 93: 217–229
- Marin J, Kennedy KJ, Eskicioglu C. Effect of microwave irradiation on anaerobic degradability of model kitchen waste. *Waste Managment* 30: 1772–1779.

- Mjoun K, Kalscheur KF, Hippen AR and Schingoethe DJ, 2010. Ruminant degradability and intestinal digestibility of protein and amino acids in soybean and corn distillers' grains products. *Journal of Dairy Science* 93: 4144-4154.
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA and Rodwell VW, 2003. *Harper's Biochemistry*. 26th ed., McGrawHill, New York, USA.
- National Research Council (NRC), 2001. *Nutrient Requirement of Dairy Cattle*, 7th revised ed. National Academy of Science, Washington DC.
- Ørskov ER and McDonald L, 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to the rate of passage. *Journal of Agricultural Science Cambridge* 92: 499-503.
- Ottenstein DM and Batler DA, 1971. Improved gas chromatography separation of free acids C2-C5 in dilute solution. *Analytical Chemistry* 43:952-955.
- Provenza FD and Launchbaugh KL, 1999. Foraging on the edge of chaos. In: Launchbaugh, K., Sanders, K., Mosley, J. (Eds.), *Grazing Behaviour of Livestock and Wildlife*, pp. 1-12.
- Poppi DP, Norton BW, Minson DJ and Hendricksen RE, 1980. The validity of the critical size theory for particles leaving the rumen. *Agricultural Science (Camb.)* 94:275-280.
- Porter LJ, Hrstich LN and Chan BG, 1986. The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. *Phytochemistry* 25: 223-230.
- Patra AK and Saxena J, 2009. Dietary phytochemicals as rumen modifiers: a review of the effects on microbial populations. *Antonie van Leeuwenhoek* 96: 363-375.
- Parnian Khaje Dizaj F, Taghizadeh A, Moghaddam G A and Janmohammadi H, 2010. Use of *in Vitro* Gas Production Technique for Evaluation of Nutritive Parameters of Barley and Corn Grain Treated by Different Microwave Irradiation Times. *Journal of Animal Science Reserch* 21:15-27 (In Persian).
- Ramachndran S and Ray AK, 2008. Effect of different processing techniques on the nutritive value of grass pea, *Lathyrus sativus* L., seed meal in compound for indan major carp rohu, lab eorohita (Hamil ton), fingerlings. *Journal Pol Fish* 16: 189-202.
- Shawrang P, Sadeghi AA, Behgar M, Zareshahi H and Shahhoseini G, 2011. Study of chemical compositions, anti-nutritional contents and digestibility of electron beam irradiated sorghum grains", *Food Chemistry* 125:376-379.
- Sadeghi AA and SHawrang p, 2008. Effect of microwave irradiation on ruminal dry matter, protein and starch degradation characteristics of barley grain. *Animal Feed Science and Technology* 141:184-19.
- SAS, 2002. *Version 9.4 SAS/STAT user's guide*. Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, USA.
- Steiner T, 2009. *Phytogenics in animal nutrition (natural concepts to optimize gut health and performance)*. Nottingham University Press. 181p.
- Shamee F, Pirmohammadi R and Khalikvandi Behroozyar H, 2015. Effect of heat treatments on chemical composition, in situ degradability and in vitro fermentability of chick pea pre-cleaning wastes. *Iranian Journal of Animal Science* 46:247-261.
- Theurer CB, Huber JT, DelgadoElorduy A and Wanderley R, 1999. Invited review: Summary of steam-flaking corn or sorghum grain for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 82:1950-1959.
- Tagliapietra FM, Cattani HH, Hansen IK, Hindrichsen L, Bailoni and S Schiavon, 2011. Metabolizable energy content of feeds based on 24 or 48 h in situ NDF digestibility and on in vitro 24 h gas production methods. *Animal Feed Science and Technology* 170: 182-191.
- Tavendale MH, Meagher LP, Pacheco D, Walker N, Attwood GT, and Sivakumaran S, 2005. Methane production from in vitro rumen incubations with *Lotus pedunculatus* and *Medicago sativa*, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. *Animal Feed Science and Technology* 124: 403-419.
- Theodorou MK, Williams BA, Dhanoa MS, McAllan AB and France J, 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology* 48: 185-197.

- Van Soest PJ, 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. Cornell University Press, Ithaca, NY, USA.
- Van soest PJ, Robertson JB, and Lewis BA, 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in ration to animal nutrition, *Jornal of Dairy Science* 74:3583.
- Williams MR and Bowler P, 1982. Starch gelatinization – a morphological study of Triticeae and other starches. *Starch* 34: 221-223.

The effect of microwave irradiation at different times on *in vitro* nutritional value components of red grape pomace

B Asadnejad¹, R Pirmohammadi² and H Khalilvandi-Behroozyar^{2*}

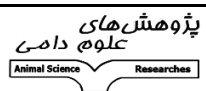
Received: November 7, 2018

Accepted: June 1, 2019

¹Ph.D Candidate Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Urmia, Iran

²Professor and Assistant Professor, respectively, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Urmia, Iran

*Corresponding author: Email: h.khalilvandi@urmia.ac.ir

	Journal of Animal Science/vol.29 No.4/ 2020/pp 35-54 https://animalscience.tabrizu.ac.ir	
© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran. This is an open access article under the CC BY license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0)		

Introduction: The grapevine (*Vitis vinifera* L.) is a woody vine cultivated worldwide for its edible berries (grapes) that are eaten fresh or pressed to make juices. Grape processing generates a large number of by-products that can be broadly classified as follows: solid by-products (leaves, stems, seeds, skins, and pulp), highly viscous by-products (lees), and low-viscosity by-products (wastewater). The seeds (pips) are sometimes extracted to make oil. This datasheet deals with grape pomace (grape marc), which is the main solid residue of grape processing. Grape pomace always includes the pressed skins and the disrupted cells of grape pulp, which depends on process, stems, and seeds. Grape leaves, grape seeds, and oil meal are presented in their own datasheets. Condensed tannins were considered as a main limiting factor in some of the agricultural byproducts. So many research data are available about the effects of different chemical and physical treatments on condensed tannins levels and activity in tanniferous plants. Due to its high content of fiber (and particularly lignin) and the presence of phenolic compounds, grape pomace has low digestibility (Provenza and Launchbaugh, 1999). It can be used to feed ruminants, horses and rabbits, in association with feeds, which have a better nutritive value, but it is not recommended for pigs and poultry as a source of energy and protein. Grape pomace can be fed fresh, but as it is highly perishable and produced seasonally, it must be dried or ensiled before storage. Red grape pomace is one of the main agro-industrial byproducts with medium to high levels of condensed tannins. High concentration of condensed tannins limits their use in the feeding of farm animals (Abarghuei and Ruzbehan, 2013). Along with tannin, soluble and structural carbohydrates is expected to play a role in determining the extent of digestion and resultant fermentation products. Both tannins and carbohydrate sections had been reported to change as grape pomace is processed. Condensed tannin and carbohydrates are diverse in different grape pomace components (e.g. skin, seed, stalk) or from different cultivars. Processing with irradiation-based techniques can be served as green processing methods without negative environmental effects. However, reports about the effects of these processing methods on anti-nutritional factor are so scares. On the other hand, condensed tannins (proanthocyanidins) have been proved to be effective in reducing methane emissions both *in vitro* and *in vivo*. The main objective of this study was to determine the effects of microwave irradiation on *in vitro* and *in situ* chemical composition, levels of anti-nutrients, and nutritive value parameters of grape pomace.

Materials and methods: Shade- air dried grape pomace was irradiated in a microwave oven at 2, 4, and 6 minutes and effects of irradiation were examined on chemical composition measures as well as phenolic compounds. Three ruminally fistulated male Holstein steers were used to prepare rumen fluid and to incubate the *in-situ* samples within the rumen according to a completely randomized

block design in two separate stages. In order to determine the effect of processing on the gas production potential and inactivation of phenolic compounds and tannins, *in vitro* gas production was measured according to the method of Menke and Steingass (1988) in three separate runs and three replications in each run. Rumen fluid was prepared from the same three fistulated Holstein steers prior to morning meal. The degradability coefficients of dry matter and crude protein were also determined. Two bags for each sample were incubated in the rumen of each cow for 2, 4, 8, 12, 24, 48, 72, and 96 hours. To estimate the amount of disappearance at time zero, the bags containing the feed sample were washed with only cold tap water. Rumen incubated nylon bags were washed and rinsed until the effluent was clear, using a washing machine. The bags were oven dried at 60 °C for 48 hours. quantifying The NLIN procedure of SAS (statistical software, version 9.1) and Ørskov and McDonald (1979) proposed model were used to determine the degradability parameters of dry matter and crude protein.

Results and discussion: Irradiation with microwave increased the amount of crude protein, dry matter, ash and insoluble fiber in neutral detergent. Significant decrease was observed in the total amount of phenolic compounds, total tannin, free condensed tannin and protein and fiber bound condensed tannins. In addition, the biological activity of phenolic compounds in protein deposition was also reduced. The highest reduction was seen in treatment of 6 minutes. The highest reduction was seen in 6-min treated samples. Irradiation with microwave irradiation increased the degradability of dry matter of red grapes and the quantities of produced gas at all incubation times in 4 minutes, but reduced the dry matter degradability in the treatment of 6 minutes compared with the control group. Irradiation reduced the protein degradation in all treatments compared with the control group. Irradiation also increased gas production. The highest gas production was observed in 2 minutes treatment with 120 h incubation (71.98 vs. 55.07 mL per 500 mg of dry matter). Also, section b showed a significant increase compared with control in treatments 2 and 6 minutes. The results of this study showed that microwave irradiation increases the nutritional value of red grape pomace by disabling a large part of the anti-nutrient contents and their activities. The effect of microwaves irradiation on the kinetics of crude protein degradability was significant at all of the processing times ($P < 0.05$). Microwave irradiation significantly increased potentially degradable rotein, so it can be expected to change protein degradation in the rumen (NRC, 2001). Decreased protein degradation can be explained by cross-linking, breaking of hydrogen bonds and other weak non-covalent bonds, changing the position of amino acids, and ultimately increasing hydrophobicity of protein levels (Mora et al., 2003, VanSoet, 1994). Based on the results, it can be concluded that microwave irradiation can improve the nutritional value of red grape pomace, due to inactivation of condensed tannins.

Keywords: Condensed tannins, Irradiation, *In vitro* gas production, Rumen degradability