""گزارش طرح پژوهشی کاربردی""

بررسی ویژگی های شیمیایی و تغذیه ای سیلاژهای تونلی (silage bags) صنایع تبدیلی غلامحسین تنها

گزارش مرحله چهارم: ویژگیهای تخمیرو ترکیب شیمیایی نمونه های سیلاژهای پاییزه

مجری:

محسن دانش مسگران

استاد دانشگاه فردوسی مشهد

همکار طرح:

امیر هنرمند و الناز کمی– دانشجویان دکتری تغذیه نشخوارکنندگان

شرکت سفارش دهنده:

صنایع تبدیلی کشاورزی غلامحسین تنها

دی ماه ۱۴۰۱

مقدمه

شناخت خوراک ها و تأمین احتیاجات مواد مغذی حیوان به وسیله آنها به منظور دستیابی به حداکثر بازده بیولوژیک و تغذیه ای، از اصلی ترین فعالیت های دامپروری محسوب می شود. امروزه، کمبود منابع خوراکی (انرژی زا و پروتئینی) به عنوان مهم ترین عامل محدود کننده در توسعه دامپروری بسیاری از کشورها و از جمله ایران، به شمار می رود. از این رو ارزشیابی مواد خوراکی قابل استفاده در تغذیه حیوانی، به عنوان یک رشته اساسی، نقش بسیار مهمی در توسعه دامپروری دارد. گیاهان علوفه ای و مراتع از منابع اصلی تامین مواد مغذی برای نشخوار کنندگان به شمار می روند. اگر علوفه دارای کیفیت مناسب باشد، می تواند بخش عمده نیاز این حیوانات به مواد مغذی را تامین نماید (لانکفید و همکاران،۲۰۰۹). تنوع شرایط آب و هوایی در کشور موجب گشته تا در بعضی نواحی به علت وجود فصول نامساعد و طولانی، استفاده از علوفه سبز و تازه محدود گردد. به طوری که به منظور جبران این کمبود و ذخیره علوفه، روش هایی نظیر خشک کردن و سیلو کردن متداول گشته است . در بین روش های ذکر شده، استفاده از علوفه سیلو شده به دلیل کیفیت بالا، تنوع ویتامین ها و ارزش غذایی برتر نسبت به روش خشک کردن، که سبب تلفات مواد غذایی به ویژه پروتئین آن است، ارجحیت داشته و به همین دلیل در سال های اخیر سطح زیر کشت ذرت علوفه ای با توجه به ارزش غذایی آن، سازگاری با شرایط اقلیمی متفاوت و عملکرد بالای آن در واحد سطح افزایش چشمگیری داشته و امروزه یکی از رقم های بالای جیره غذایی دام ها را تشکیل می دهد. یکی از روش ذخیره سازی علوفه، که تا حدودی وابستگی کمتری به شرایط جوی دارد و توسط دامداران برای نگهداری گیاهان به کار می رود استفاده از فرآیند تخمیر طبیعی (سیلو کردن) علوفه است (مکدونالد و همکاران، ۲۰۱۱). سیلاژ یا ماده ی سیلویی، هر ماده ی گیاهی که تحت تخمیر یا ترش شدن در سیلو قرار گرفته است، تعریف می شود و سیلو به هرگونه ساختار ذخیره سازی علوفه ی سبز مرطوب گفته می شود (استوارت، ۲۰۱۱). سیلو کردن بهترین روش برای ذخیره

سازی علوفه تازه با حداقل اتلاف است. کیفیت ماده ی سیلویی و ارزش تغذیه ای آن تحت تاثیر عوامل بیولوژیک و تکنولوژیک متعددی قرار می گیرد (سارسیک و کلیک، ۲۰۱۱). سیلو کردن در مقایسه با تولید علوفه خشک تولید بالقوه مواد مغذی از مزارع در دسترس را افزایش می دهد، هزینه تغذیه را کاهش می دهد، اتلاف در هنگام برداشت را کاهش داده و در بیشتر موارد کیفیت علوفه را افزایش می دهد (مکدونالد و همکاران، ۲۰۱۱). با سیلو کردن علوفه می توان از ریزش برگ های یونجه (۲ تا ۱۰ درصد) که در روش تهیه علوفه خشک یونجه اجتناب ناپذیر است، جلوگیری کرد. همچنین درصد پروتئین با برداشت یونجه جهت تهیه سیلاژ نسبت به علوفه خشک افزایش می یابد

فرآیند سیلو کردن شامل موارد ذیل می باشد: برداشت علوفه در مرحله مناسب بلوغ، خرد کردن، وارد کردن به سیلو، فشرده سازی برای خروج هوا و پوشاندن سیلو، نگهداری و نهایتا باز کردن سیلو به منظور مصرف دام، چهار مرحله این فرآیند که در آن رخدادهای بیوشیمیایی و میکروبیولوژیکی رخ میدهد و عبارتند از مرحله هوازی، مرحله تخمیر، مرحله نگهداری و مرحله باز کردن سیلو. هدف اساسی در هنگام سیلو کردن ذرت علوفه ای کاهش اکسیژن و کاهش pH است تا باکتری های اسید لاکتیک به سمت تثبیت و حفظ سیلاژ بروند. با بستن و کوبیدن سیلو، اکسیژن تا حد ممکن باید از سیلاژ خارج شود. میزان اکسیژن باقیمانده به میزان رطوبت، زمان پر شدن سیلو، بستن سیلو و طول خرد شدن سیلاژ بستگی دارد. حتی با بهترین مدیریت برداشت، مقداری اکسیژن در سیلاژ باقی خواهد ماند. در طی این مرحله اولیه، اکسیژن باقیمانده مصرف خواهد شد. باکتری های هوازی همچنین از اکسیژن باقیمانده در این مرحله، همراه با قندهای گیاهی، برای ایجاد دی اکسید کربن، آب و گرما استفاده می کنند.

پنج عامل اصلی و موثر بر کیفیت سیلاژ عبارت است از:

۱- مقدار رطوبت علوفه

۲- میزان خردکردن علوفه

۳- جلوگیری از ورود هوا

٤- - مقدار کربوهیدرات های (قند) علوفه ای

٥- جمعیت باکتریایی شامل جمعیت طبیعی و مکمل های میکروبی

سیلاژ ذرت عمده ترین منبع علوفه ای برای نشخوار کنندگان است. این خوراک از احاظ انرژی قابل توجه اما از نظر پروتئین فقیر است. مزیت اصلی سیلاژ ذرت علوفه ای، میزان بالای تولید ماده خشک علوفه در هکتار است. سیلاژ ذرت نسبت به دیگر انواع علوفه به ازای هر واحد زمین انرژی قابل هضم بیشتری تولید می کند. سازگاری آن با مکانیزاسیون طی مراحل کاشت، داشت و برداشت، به ویژه سهولت تهیه و کاربرد آن در جیره های کاملا مخلوط(TMR)، جایگاه آن را در جیره غذایی گاوهای شیری تثبیت کرده است و سهم آن در جیره های خوراکی روند افزایشی را نشان می دهد. قابلیت هضم ذرت سیلو شده با طول زمان نگهداری افزایش می یابد و اگر به درستی ساخته و ذخیره شده باشد، این علوفه بسیار خوش خوراک خواهد شد. از مزایای استفاده از ذرت سیلو شده در جیره های خوراکی می توان به ضد نفخ بودن آن در مقایسه با جیره های حاوی یونجه خشک و یونجه سیلو شده و داشتن بازده ماده خشک که اغلب بالاتر از بسیاری از انواع دیگر علوفه جایگزین در فصل سرد است اشاره نمود. بازده بالای محصول، سطح مورد نیاز برای تولید علوفه را کاهش داده و اجازه می دهد محصولات جایگزین، رشد مناسب تری کرده و تعداد بیشتری از دام ها تغذیه شوند. دو دلیل اصلی استفاده بیشتر ذرت سیلو شده در تغذیه نشخوار کنندگان میزان نشاسته بالا و کیفیت بخش الیافی آن است. از معایب ذرت سیلو شده می توان به کمبود پروتئین و برخی مواد معدنی آن اشاره نمود، که در صورت استفاده از ذرت سیلو شده در جیره غذایی گاوهای شیری نیاز به تامین این مواد ضروری است سیلاژ ذرت معمولا به صورت مکمل انرژی در ترکیب با مکمل های علوفه ای با پروتئین بالا مانند یونجه برای گاوهای شیری استفاده می شود و بخش عمده ای از بخش علوفه ای جیره را در دامداری های صنعتی ایران تشکیل می دهد. سیلاژ ذرت به دلیل داشتن جمعیت باکتری های اپی فایتیک در سطح و کربوهیدرات های محلول در آب بالا و قدرت

بافری و احتمال کپک زدگی پایین به بهترین نوع سیلاژ تبدیل شده است. سیلاژ ذرت در تغذیه گاوهای شیری ۴۰ تا ۵۰ درصد خوراکی(As-fed) را شامل می شود و یک منبع مطمئن و غنی از انرژی و الیاف قابل هضم و مهم ترین عامل خوراکی مؤثر بر مصرف ماده خشک می باشد. همچنین سیلاژ ذرت منبع مهم الیاف مؤثر قابل هضم است و می تواند برشرایط اقتصادی (ارزان قیمت) جیره گاوهای شیر ی موثرباشد. با این حال تنوع در غلظت و ویژگی های هضم NDF و نشاسته می تواند مصرف انرژی و عملکرد حیوان را تحت تأثیر قرار دهد (هیرستو و همکاران،۲۰۲۰). سیلاژ ذرت حاوی ۷۰ درصد کربوهیدرات شامل NDF و نشاسته است. قابلیت هضم NDF و نشاسته سیلاژ ذرت بسیار متغیر و وابسته به ژنتیک و همچنین عوامل محیطی و مدیریتی است. تنوع در غلظت و قابلیت هضم NDF و نشاسته سیلاژ ذرت، چالش هایی را برای به حداکثر رساندن مصرف انرژی و تولید ایجاد می کند. کربوهیدراتهای اصلی سیلاژ ذرت، نشاسته و کربوهیدرات های NDF (سلولز و همی سلولز) هستند(گرانت و فرارتو،۲۰۱۸). غلظت دانه سیلاژ ذرت، باعث رقیق شدن بخشNDF ، که دامنه ای کمتر از ۳۵ درصد تا بیشتر از ۵۰ درصد است. همچنین غلظت نشاسته با غلظت NDF رابطه عکس دارد و دامنه ای کمتر از ۵ درصد تا بیشتر از ۴۰ درصد از ماده خشک سیلاژ ذرت را تشکیل می دهد. عوامل اصلی مؤثر بر غلظت NDF و نشاسته در سیلاژ ذرت، ژنتیک گیاه و بلوغ در هنگام برداشت است هیبریدهای ذرت دامنهای کمتر از ۳۸ درصد تا بیش از ۵۲ درصد NDF دارند. دیگر عوامل موثر بر غلظتNDF و نشاسته سیلاژ ذرت شامل محیط، تراکم، ارتفاع برداشت و باروری است.دانه نسبت به ذرت بدون بلال(Stover) قابل هضم تر است، بنابراین قابلیت هضم سیلاژ ذرت رابطه مثبتی با غلطت دانه آن دارد(فرارتو وهمکاران، ۲۰۱۵).

در مقایسه با ذرت، سیلو کردن یونجه به طور مشخص مشکل تر است. یونجه نه تنها کربوهیدرات های محلول کافی ندارد، بلکه به دلیل ظرفیت بافری بالا، قندهای آن نمی توانند به طور موثری مورد استفاده قرار گیرند. بنابراین، تخمیر لاکتیکی جهت تولید توده سیلو شده پایدار کافی نیست. در حالی که براساس ماده خشک به طور تقریبی سه درصد اسید لاکتیک جهت ایجاد یک گرامینه سیلو شده خوب کافی است، اما حدود دو برابر

این مقدار جهت سیلو شدن یونجه نیاز است(کلمز و چرچ، ۲۰۰۹). با وجود این که در ظاهر رابطه ای بین ظرفیت بافری و پروتئین خام وجود دارد، اما پروتئین به هیچ وجه دلیل اصلی مشکلات مربوط به سیلو کردن یونجه نمی باشد.

با توجه به مطالب بیان شده تجزیه مواد خوراکی بر اساس مقدار موادمغذی و مواد فعال بیولوژیکی آنها برای تعیین ارزش خوراک مربوطه لازم و ضروری می باشد. مواد مغذی موجود در هر ماده خوراکی بیانگر چگونگی تاثیر آن ماده خوراکی بر ویژگ‌یهای تولیدی و سلامت حیوانات است. لذا اولین گام در ارزشیابی ارزش خوراکی هر ماده خوراکی تعیین ترکیب شیمیایی آن بر اساس نیازهای حیوان مصرف کننده می‌باشد. بیش از صد سال است که تعیین ترکیب شیمیایی مواد خوراکی در دستورکار سامانه های تعیین احتیاجات مواد مغذی برای نشخوارکنندگان قرار گرفته است. اهمیت این موضوع نه تنها به لحاظ تاثیر بر تولید حیوان (دانش مسگران و همکاران، ۲۰۱۳)، بلکه از لحاظ سلامت حیوان نیز حائز اهمیت است (فلیزر و همکاران، ۲۰۱۸). از سوی دیگر تعیین ترکیب شیمیایی مواد خوراکی به لحاظ هضم روده ای مواد مغذی (تقی زاده و همکاران، ۲۰۰۵؛ دهقان و همکاران، ۲۰۱۱) نیز جایگاه ویژه ای در سامانه های نوین بیان احتیاجات نشخوارکنندگن دارد (پرند و همکاران، ۲۰۱۵؛ دانش مسگران و همکاران، ۲۰۱۵). مباحث اخیر مربوط به چگونگی تأمین هم وزن و هم زمان مواد مغذی برای تولید بیشینه پروتئین میکروبی در داخل شکمبه مرهون تعیین دقیق ترکیب شیمیایی جیره مورد استفاده در گاوهای شیری است (ملک جهانی و همکاران، ۲۰۱۷). بدین لحاظ در ارزیابی هر ماده خوراکی به لحاظ ارزشیابی آن در تولید حیوان در گام نخست می باید علاوه بر تعیین ماده خشک آن غلظت مواد مغذی عمده شامل پروتئین، الیاف، چربی خام، خاکستر و کربوهیدرات های غیذ الیافی تعیین گردند (ملک جهانی و همکاران، ۲۰۱۷).

مواد و روش‌ها:

نمونه ها:

در این مرحله از آزمایش تعداد ۴ نمونه از گاوداریهای سازمان موقوفات ملک-خراسان رضوی، دشت- نیشابور و خرمدره- زنجان تهیه شد. نمونه ها بر اساس کدهای منظور شده در این گزارش آورده شده اند.

روش های مورد استفاده برای تعیین ترکیب شیمیایی براساس پیشنهادهای منتشر شده در مقالات علمی و پژوهشی انجام شد (دانش مسگران و استرن، ۲۰۰۵؛ عینی و همکاران، ۲۰۱۸؛ فلاحتی زو همکاران، ۲۰۱۹).

اندازه گیری ترکیب شیمیایی

ماده خشک

برای تعیین ماده خشک، پس از وزن کردن نمونه‌ها در ظروف مخصوص با وزن مشخص، نمونه‌ها در آون (مدل Memmert ۸۵۴، شرکت Schwabch کشور آلمان) در دمای ۵۵ تا ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند و پس از رسیدن نمونه‌ها به وزن ثابت به دسیکاتور منتقل شدند و پس از سرد شدن آن‌ها، اختلاف وزن اولین و دومین وزن گیری، مقدار رطوبت آنها حساب شد و ماده خشک آنها طبق فرمول زیر محاسبه شد:

درصد رطوبت $= \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100 = A\%$

W_1= وزن نمونه قبل از آون

W_2= وزن نمونه بعد از آون

درصد ماده خشک نمونه =100-A%

پروتئین خام

ابتدا تمامی نمونه‌ها با آسیاب به قطر دو میلی‌متر آسیاب شد و سپس به مدات ۲۴ ساعت در آون دمای ۹۵ درجه سانتی گراد خشک شد. برای آزمایش های بعدی به کار رفت. حداکثر نیم گرم نمونه به همراه ۰.۵ گرم سولفات مس و ۳.۵ گرم سولفات پتاسیم و ۱۵ میلی لیتر اسید سولفوریک در لوله هضم قرار داده شد و لوله‌ها به مدت ۴ ساعت در دستگاه هضم با دمای ۴۲۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت. رنگ سبز روشن نشان‌دهنده هضم کامل بود.

سپس ارلن حاوی ۲۵ میلی لیتر اسید بوریک ۴ درصد و ۳ قطره معرف کجلدال به همراه لوله هضم حاوی نمونه هضم شده در دستگاه کجلدال (Kjeltic 2100 Distillation Unit, Foss tecator, Sweden) قرار داده شد. در دستگاه کجلدال به طور اتومات ۶۰ میلی لیتر سود ۴۰ درصد اضافه شده و به مدت ۶ دقیقه عملیات تقطیر انجام شد.

تیتراسیون ارلن با اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال صورت گرفت. با توجه به اینکه تیتراسیون از نوع مستقیم بود، درصد پروتئین خام با کمک رابطه زیر محاسبه شد:

$$\text{پروتئین‌خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک)} = \frac{\text{۶/۲۵ × ۱۴× ۰.۲ × میلی لیتر اسید مصرف شده}}{\text{وزن نمونه اولیه(گرم به ازای ماده خشک)}} \times ۱۰۰۰$$

الیاف نامحلول در شوینده‌ی خنثی

الیاف نامحلول در شوینده خنثی با روش آنکوم اندازه‌گیری شد. برای این منظور ابتدا ۰.۴ گرم نمونه در داخل کیسه‌های نایلونی (با ابعاد ۷×۵ سانتیمتر و اندازه منافذ ۲۵ میکرومتر) که از قبل خشک (به مدت ۱/۵ ساعت

در آون ۱۰۵ درجه) و توزین شده بود، ریخته شد و درب کیسه‌ها پرس گردید حدود ۶۰ سی‌سی محلول شوینده خنثی درون بطری‌های مخصوص ریخته شد و کیسه‌ها در این محلول قرار داده شد و در دستگاه اتوکلاو گذاشته شد. پس از اطمینان از بسته بودن شیرهای دستگاه، و درب دستگاه بسته شد. پس از رسیدن دمای محلول به ۱۰۰ درجه سانتیگراد، به مدت ۶۰ دقیقه عمل جوشاندن انجام شد. سرانجام نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۶۵ درجه سانتیگراد قرار داده شدند و درصد الیاف نامحلول در شوینده خنثی با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

مواد شیمیایی مورد استفاده:

۱. سدیم لوریل سولفات، ۳۰ گرم

۲. EDTA، ۱۸/۶۱ گرم

۳. بورات سدیم ۱۰ آبه، ۶/۸ گرم

۴. دی سدیم هیدروژن فسفات بدون آب، ۴/۵۶ گرم

۵. اتوکسی اتانول، ۱۰ میلی لیتر

الیاف نامحلول در شوینده اسیدی

الیاف نامحلول در شوینده خنثی براساس روش ون سوست و همکاران(۱۹۹۱) تعیین گردید. برای این منظور ۰.۴ گرم نمونه در بالن شیشه‌ای توزین و با ۱۰۰ میلی لیتر شوینده اسیدی به مدت یک ساعت ریفلاکس گردید. آنگاه با استفاده از کاغذ صافی واتمن ۵۴ صاف شده و با آب داغ ۴ مرتبه شستشو داده‌شد. سپس همه نمونه‌ها به مدت ۱۲ ساعت در یک لیتر آب مقطر قرار گرفتند. در نهایت در آون $55^{o}c$ به مدت ۴۸ ساعت خشک گردید. میزان الیاف نامحلول در شوینده اسیدی از طریق اختلاف وزن محاسبه گردید.

میزان الیاف نامحلول در شوینده اسیدی از طریق اختلاف وزن محاسبه گردید.

مواد شیمیایی مورد استفاده:

۲۰ گرم ستابان توسط اسید سولفوریک ۱ نرمال(۲۷/۸۴ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ به حجم ۱ لیتر رسانده می‌شود) به حجم ۱ لیتر رسانده می‌شود.

$$\text{الیاف نامحلول در شوینده‌ی اسیدی (گرم در کیلوگرم ماده خشک)} = \frac{\text{وزن اولیه کیسه– وزن کیسه و نمونه پس از آون}}{\text{وزن نمونه اولیه (گرم در کیلوگرم ماده خشک)}} \times ۱۰۰۰$$

چربی خام

چربی خام نمونه‌ها با استفاده از دستگاه سوکسله اندازه‌گیری شد. برای این منظور ابتدا کاغذ صافی‌ها توزین شده سپس مقدار ۰.۴ گرم نمونه خوراکی درون آنها ریخته شده و درون سوکسله میزان کافی هگزان ریخته و نمونه همراه با کاغذ صافی درون آن قرار داده می شود. بعد از پایان کار دستگاه، کاغذ صافی ها به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۶۵ درجه سانتی گراد قرار داده شده و پس از آن توزین میگردند. چربی خام از فرمول زیر محاسبه میگردد:

$$\text{چربی خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک)} = \frac{\text{وزن نمونه بعد سوکسله –وزن نمونه قبل سوکسله}}{\text{وزن نمونه اولیه (گرم به ازای ماده خشک)}} \times ۱۰۰۰$$

خاکستر

برای تعیین خاکستر نمونه‌ها از کوره الکتریکی با دمای ۵۵۰ درجه سانتیگراد استفاده شد. برای این منظور چند کروزه تمیز به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۱۰۵ قرار گرفت. ۲ گرم نمونه داخل کروزه ریخته شده و روی شعله قرار داده شد تا بسوزد و دیگر دودی از نمونه متصاعد نشود. سپس کروزه به مدت ۵ ساعت در کوره الکتریکی قرار داده شد. با مشاهده خاکستر سفید رنگ از سوختن کامل نمونه اطمینان حاصل شد. پس از سرد

شدن کوره، کروزه خارج شده و بعد از رسیدن به وزن ثابت، توزین شد. درصد خاکستر نمونه‌ها طبق رابطه زیر محاسبه گردید:

$$\text{خاکستر (گرم در کیلوگرم ماده خشک)} = \frac{\text{وزن اولیه کروزه- وزن کروزه و نمونه پس از خاکسترگیری}}{\text{وزن نمونه اولیه (گرم ماده خشک)}} \times ۱۰۰۰$$

کربوهیدرات غیر الیافی

به منظور تعیین کربوهیدرات غیرالیافی از معادله ذیل استفاده شد.

کربوهیدرات غیرالیافی= ۱۰۰۰ - (CP + EE + Ash + NDF) ;

CP = پروتئین خام (گرم بر کیلوگرم ماده خشک)

EE = چربی خام (گرم بر کیلوگرم ماده خشک)

Ash = خاکستر خام (گرم بر کیلوگرم ماده خشک)

NDF = الیاف نامحلول در شوینده خنثی (گرم بر کیلوگرم ماده خشک)

pH و نیتروژن آمونیاکی

جهت تعیین میزان pH عصاره و نیتروژن آمونیاکی ۵۰ گرم سیلاژ را با ۴۵۰ میلی لیتر آب مقطر دو بار تقطیر شده به منظور تهیه عصاره آبی توسط مخلوط کن با سرعت بالا هموژنیزه کرده و pH آن توسط دستگاه pH متر اندازه گیری شد. سپس ۵ میلی لیتر از عصاره تهیه شده با پارچه متقال صاف گردیده و با محلول اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال مخلوط کرده و برای اندازه گیری آمونیاک، داخل ظروف سر بسته، در داخل یخچال ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد و در نهایت غلظت نیتروژن آمونیاکی با استفاده از روش فنل- هیپوکلریت توسط دستگاه اسپکتوفتومتر در ناحیه طول موج مرئی تعیین شد. مواد شیمیایی مورد نیاز شامل فنول خالص جامد

با خلوص ۹۹٪، سدیم نیتروپروساید هیدروکسید سدیم، سدیم هایپو کلرید، سولفات آمونیوم و آب مقطر دو بار تقطیر شده بودند.

برای اندازه گیری نیتروژن آمونیاکی به روش اسپکترومتریک، از دستورالعمل ویدربرن (۱۹۶۷) استفاده شد.

ابتدا در محلول او ۲ به این ترتیب آماده شد:

محلول فنولی: ۵ گرم فتول بعلاوه ی ۲۵ میلی گرم سدیم نیتروپروساید به حجم ۵۰۰ میلی لیتر رسید. برای این کار از آب مقطر دو بار تقطیر استفاده شد.

محلول قلیایی:۵/۲ گرم هیدروکسید سدیم بعلاوه ی ۲/۴میلی لیتر سدیم هایپوکلرید با آب مقطر دو بار تقطیر به حجم۵۰۰ میلی لیتر رسید.

سپس یک سری محلول استاندارد با غلظتهای به ترتیب از ۱۰ میلی گرم در دسی لیتر تا ۱۵۰ میلی گرم در دسی لیتر سولفات آمونیوم آماده شد. در لوله های آزمایش ابتدا ۵ میلی لیتر از محلول یک ریخته شد و سپس ۲۰ میکرو لیتر از هر کدام از محلول های استاندارد به لوله های آزمایش افزوده شد. سپس در لوله ها با پارافیلم پوشانیده و محکم تکان داده

شد. بعد از این کار، ۵ میلی لیتر محلول دو به لوله ها اضافه شد و مجددا تکان داده شد. لوله ها در جا لوله ای فلزی قرار

داده شدند و به مدت ۲۰ دقیقه در داخل بن ماری ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. سپس لوله ها از بن ماری خارج شدند و میزان جذب نور محتویات داخل آنها در طول موج ۶۲۵ نانومتر اندازه گیری و ثبت شد. از رگرسیون خطی میان غلظت سولفات آمونیوم (نیتروژن آمونیاکی موجود در آن) و جذب نور مربوط به هر یک از محلول های استاندارد یک معادله ی خطی درجه ی اول بدست آمد. سپس جذب نور تک تک نمونه های نیتروژن آمونیاکی به همین ترتیب اندازه گیری شد و در معادله قرار گرفت و غلظت نیتروژن آمونیاکی موجود در آنها محاسبه شد:

$$Y = ax + b$$

که

Y: جذب نور در طول موج ۶۲۵ نانومتر ، a: شیب نمودار، x: غلظت نیتروژن آمونیاکی و b: عرض از مبدأ نمودار

نتایج

نتایج مربوط ماده خشک (گرم در کیلوگرم سیلاژ مرطوب) و غلظت مواد مغذی (گرم در کیلوگرم ماده خشک) نمونه های A۱ تا A۴ به ترتیب در جدول های ۱تا ۴ نشان داده شده است.

نتایج مربوط به pH و غلظت نیتروژن آمونیاکی (میلی گرم در ۱۰۰ گرم سیلاژ مرطوب) نمونه های A۱ تا A۴ به ترتیب در جدول های ۵ تا ۸ نشان داده شده است.

جدول ۱- ماده خشک (گرم در کیلوگرم سیلاژ مرطوب) و غلظت مواد مغذی (گرم در کیلوگرم ماده خشک) نمونه A۱

نمونه مورد آزمایش	ماده خشک (گرم در کیلوگرم)		پروتئین خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک)		الیاف نامحلول در شوینده خنثی (گرم در کیلوگرم ماده خشک)		الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (گرم در کیلوگرم ماده خشک)		چربی خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک)		خاکستر (گرم در کیلوگرم ماده خشک)		کربوهیدراتهای غیر الیافی (گرم در کیلوگرم ماده خشک)	
	تکرار	میانگین ± انحراف معیار	تکرار	میانگین ± انحراف معیار	تکرار	میانگین ± انحراف معیار	تکرار	میانگین ± انحراف معیار	تکرار	میانگین ± انحراف معیار	تکرار	میانگین ± انحراف معیار	تکرار	میانگین ± انحراف معیار
A۱	۲۱۴/۹	۲۲۰/۳± ۷/۷۶	۸۷/۵	۸۵/۸± ۲/۰۲	۵۸۴	۵۸۹± ۳/۸۲	۲۹۸	۲۹۶/۵± ۵/۷۴	۵۴	۵۱± ۳/۴۶	۵۸/۶	۵۹/۱۳± ۰/۴۳	۲۱۵/۸	۲۱۵/۱± ۱/۴۶
			۸۷/۵		۵۸۸		۳۰۰		۴۶		۵۹/۳		۲۱۵/۱	
	۲۲۵/۸		۸۴		۵۹۲		۳۰۰		۵۲		۵۹		۲۱۳	
			۸۴		۵۹۲		۲۸۸		۵۲		۵۹/۷		۲۱۶/۳	

جدول ۲- ماده خشک (گرم در کیلوگرم سیلاژ مرطوب) و غلظت مواد مغذی (گرم در کیلوگرم ماده خشک) نمونه A۲

نمونه مورد آزمایش	ماده خشک (گرم در کیلوگرم)		پروتئین خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک)		الیاف نامحلول در شوینده خنثی (گرم در کیلوگرم ماده خشک)		الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (گرم در کیلوگرم ماده خشک)		چربی خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک)		خاکستر (گرم در کیلوگرم ماده خشک)		کربوهیدراتهای غیر الیافی (گرم در کیلوگرم ماده خشک)	
	تکرار	میانگین ± انحراف معیار	تکرار	میانگین ± انحراف معیار	تکرار	میانگین ± انحراف معیار	تکرار	میانگین ± انحراف معیار	تکرار	میانگین ± انحراف معیار	تکرار	میانگین ± انحراف معیار	تکرار	میانگین ± انحراف معیار
A۲	۲۰۱/۳	۲۰۰± ۱/۷۹	۱۰۲/۹	۱۰۵/۳± ۱/۵۷	۵۵۸	۵۵۴± ۴/۳۲	۲۶۰	۲۶۲/۵± ۵/۹۷	۵۶	۶۱/۵± ۵/۵	۷۵/۹۴	۷۱/۵۴± ۴/۵۱	۲۰۷/۱	۲۰۷/۶± ۶/۲۵
			۱۰۶/۱		۵۴۸		۲۶۴		۵۸		۷۳/۹۵		۲۱۳/۹	
	۱۹۸/۸		۱۰۶/۱		۵۵۴		۲۷۰		۶۴		۶۵/۶۲		۲۱۰/۳	
			۱۰۶/۱		۵۵۶		۲۵۶		۶۸		۷۰/۶۴		۱۹۹/۲	

جدول ۳- ماده خشک (گرم در کیلوگرم سیلاژ مرطوب) و غلظت مواد مغذی (گرم در کیلوگرم ماده خشک) نمونه A۳

نمونه مورد آزمایش	ماده خشک (گرم در کیلوگرم)		پروتئین خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک)		الیاف نامحلول در شوینده خنثی (گرم در کیلوگرم ماده خشک)		الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (گرم در کیلوگرم ماده خشک)		چربی خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک)		خاکستر (گرم در کیلوگرم ماده خشک)		کربوهیدراتهای غیر الیافی (گرم در کیلوگرم ماده خشک)	
	تکرار	میانگین ± انحراف معیار	تکرار	میانگین ± انحراف معیار	تکرار	میانگین ± انحراف معیار	تکرار	میانگین ± انحراف معیار	تکرار	میانگین ± انحراف معیار	تکرار	میانگین ± انحراف معیار	تکرار	میانگین ± انحراف معیار
A۳	۳۱۴/۸	۳۱۲/۳± ۳/۵۵	۱۱۸/۳	۱۲۰/۷± ۳/۰۱	۴۰۴	۴۱۱/۵± ۷/۷۲	۱۷۸	۱۸۱± ۲/۵۸	۳۲	۴۵/۵± ۹/۱۴	۵۲/۹۸	۵۳/۲۲± ۰/۴۹	۳۹۲/۶	۳۶۹± ۱۶/۲۶
			۱۱۸/۳		۴۲۲		۱۸۰		۵۰		۵۳/۹۶		۳۵۵/۷	
	۳۰۹/۸		۱۲۱/۵		۴۰۸		۱۸۴		۵۲		۵۲/۹۸		۳۶۵/۵	
			۱۲۴/۶		۴۱۲		۱۸۲		۴۸		۵۲/۹۸		۳۶۲/۳	

جدول ۴- ماده خشک (گرم در کیلوگرم سیلاژ مرطوب) و غلظت مواد مغذی (گرم در کیلوگرم ماده خشک) نمونه A۴

نمونه مورد آزمایش	ماده خشک (گرم در کیلوگرم)		پروتئین خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک)		الیاف نامحلول در شوینده خنثی (گرم در کیلوگرم ماده خشک)		الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (گرم در کیلوگرم ماده خشک)		چربی خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک)		خاکستر (گرم در کیلوگرم ماده خشک)		کربوهیدراتهای غیر الیافی (گرم در کیلوگرم ماده خشک)	
	تکرار	میانگین ± انحراف معیار	تکرار	میانگین ± انحراف معیار	تکرار	میانگین ± انحراف معیار	تکرار	میانگین ± انحراف معیار	تکرار	میانگین ± انحراف معیار	تکرار	میانگین ± انحراف معیار	تکرار	میانگین ± انحراف معیار
A۴	۲۹۰/۲	۲۹۴/۴± ۶/۰۳	۱۹۰/۱	۱۹۱/۸± ۱/۸۱	۳۵۴	۳۶۳± ۱۰/۵۱	۲۳۴	۲۳۰± ۷/۱۱	۳۴	۳۲± ۹/۶۶	۸۸/۶۳	۹۱/۵۶± ۲/۱۰	۳۳۳/۲	۳۲۱/۷± ۸/۵۷
			۱۹۰/۱		۳۷۸		۲۳۶		۱۸		۹۱/۹۳		۳۲۱/۹	
	۲۹۸/۷		۱۹۳/۳		۳۵۸		۲۳۰		۳۶		۹۳/۶۶		۳۱۹	
			۱۹۳/۳		۳۶۲		۲۲۰		۴۰		۹۲		۳۱۲/۷	

جدول ۵- pH و غلظت نیتروژن آمونیاکی($N-NH_3$) نمونه A۱

نمونه مورد آزمایش	pH عصاره سیلاژ		نیتروژن آمونیاکی (میلی گرم در ۱۰۰ گرم سیلاژ مرطوب)	
	تکرار	میانگین± انحراف معیار	تکرار	میانگین ± انحراف معیار
A۱	۳/۴۷ ۳/۴۵ ۳/۳۸ ۳/۴۱	۳/۴۲± ۰/۰۴	۰/۰۵۸ ۰/۰۴۵ ۰/۰۳۵ ۰/۰۲۵	۰/۰۴۱± ۰/۰۱۴

جدول ۶- pH و غلظت نیتروژن آمونیاکی($N-NH_3$) نمونه A۲

نمونه مورد آزمایش	pH سیلاژ		نیتروژن آمونیاکی (میلی گرم در ۱۰۰ گرم سیلاژ مرطوب)	
	تکرار	میانگین± انحراف معیار	تکرار	میانگین ± انحراف معیار
A۲	۳/۸۷ ۳/۹۱ ۳/۸ ۳/۷۶	۳/۸۳± ۰/۰۶۷	۰/۰۷۳ ۰/۰۵۵ ۰/۰۷۶ ۰/۰۷۱	۰/۰۶۸±۰/۰۰۸

جدول ۷- pH و غلظت نیتروژن آمونیاکی($N-NH_3$) نمونه A۳

نمونه مورد آزمایش	pH سیلاژ		نیتروژن آمونیاکی (میلی گرم در ۱۰۰ گرم سیلاژ مرطوب)	
	تکرار	میانگین± انحراف معیار	تکرار	میانگین ± انحراف معیار
A۳	۴/۰۶ ۴/۰۲ ۴/۲۱ ۴/۰۹	۴/۰۹± ۰/۰۸۱	۰/۳۳۱ ۰/۳۷۴ ۰/۳۷۶ ۰/۳۸۴.	۰/۳۶۶± ۰/۰۲۴

جدول ۸- pH و غلظت نیتروژن آمونیاکی($N-NH_3$) نمونه A۴

نمونه مورد آزمایش	pH سیلاژ		نیتروژن آمونیاکی (میلی گرم در ۱۰۰ گرم سیلاژ مرطوب)	
	تکرار	میانگین± انحراف معیار	تکرار	میانگین ± انحراف معیار
A۴	۴/۴۸	۴/۴۸± ۰/۰۷۴	۰/۶۸	۰/۶۵± ۰/۰۴۱
	۴/۴۲		۰/۶	
	۴/۵۹		۰/۶۳	
	۴/۴۵		۰/۶۹	

منابع

1. Danesh Mesgaran, M. and M. D. Stern. 2005. Ruminal and post-ruminal protein disappearance of various feeds originating from Iranian plats varieties determined by the in situ mobile bag technique and alternative methods. Anim Feed Sci Technol. 18:31–46.
2. Danesh Mesgaran, M. J. R. Jafari, and S. Danesh Mesgaran. 2013. Milk production, milk fatty acid composition, and blood biochemical parameters of Holstein dairy cows fed whole or ground flaxseed instead of extruded soybeans in the first. Iran J Vet Res.13:340, 203-209.
3. Danesh Mesgaran, M. P. Kheirandish, E. Parand, and A. R. Vakili. 2015. Using DVE/OEB System to Predict Protein Value of Soybean Meal, Yasmino Max® and Fishmeal for Ruminants. The 16 th AAAP Congeress.
4. Dehghan-Banadaky, M. H. Amanlo, A. Nikkhah, and M. Danesh-Mesgaran. 2011. Rumen and post-abomasal disappearance in lactating cows of amino acids and other components of barley grain treated with sodium hydroxide, formaldehyde or urea. Anim Feed Sci Tech. 142:3-4, 306-316.
5. Eyni, B. M. Danesh Mesgaran, A. R. Vakili, and R. Valizadeh. 2018b. Effect of varying sources of energy and protein in glucogenic and lipogenic dairy diets on in vitro rumen microbial nitrogen yield and duodenal utilizable crude protein. Transylvanian Review 26:28.
6. Falahatizow, J. M. Danesh Mesgaran, A. R. Vakili, M. Kafi, and M. D. Stern. 2019. In vitro Utilizable Crude Protein at the Duodenum of Dairy Cows of Various Ecotypes of Kochia scoparia Fertilized with Nitrogen. Iran J Appl Anim Sci. 9:3, 409-418.
7. Ferraretto, L. F., R. D. Shaver, S. Massie, R. Singo, D. M. Taysom, and J. P. Brouillette. 2015. Effect of ensiling time and hybrid type on fermentation profile, nitrogen fractions, and ruminal in vitro starch and neutral detergent fiber digestibility in whole-plant corn silage. Prof. Anim. Sci. 31:146–152.
8. Grant, R. J., & Ferraretto, L. F. (2018). Silage review: Silage feeding management: Silage characteristics and dairy cow feeding behavior. Journal of Dairy Science, 101(5), 4111-4121.
9. Hristov, A. N., Harper, M. T., Roth, G., Canale, C., Huhtanen, P., Richard, T. L., & DiMarco, K. (2020). Effects of ensiling time on corn silage neutral detergent fiber degradability and relationship between laboratory fiber analyses and in vivo digestibility. Journal of dairy science, 103(3), 2333-2346.

10. Kellems, R. O. and Church, D. C. 2009. Livestock feeds and feeding (6th ed.). Prentice Hall. Boston.
11. Lancefield, G. D., Ball D. M., Hannock, D., Andrae, J. and Smith R. 2009. Growing Alfalfa in the South. National Alfalfa and Forage Alliance 2009. On line at http://www.alfalfa.org/pdf/alfalfainthesouth.pdf (accessed 211/11/2011).
12. Malekjahani F. M. Danesh Mesgaran , A. Vakili, M. Sadeghi, and P. Yu. 2017. A novel approach to determine synchronization index of lactating dairy cow diets with minimal sensitivity to random variations. Anim. Feed Sci. Technol. 225, 143-156.
13. Mcdonald, P.,Edwards, R.A., Greenhalgh, J.F.D., Morgan, C.A., Sinclair, L.A., and Wilkinson, R.G. 2011. Animal Nutrition. Person Education limited. Seven edition. P685.
14. Parand, E. A. R. Vakili, M. Danesh Mesgaran, G. Duinkerken, and P. Yu. 2015. Truly Absorbed Microbial Protein Synthesis, Rumen Bypass Protein, Endogenous Protein, and Total Metabolizable Protein from Starchy and Protein-Rich Raw Materials: Model Comparison and Predictions. J. Agric. Food Chem. 63:6518−6524.
15. Plaizier, J. C, M. DaneshMesgaran, H. Derakhshani, H. Golder, E. Khafipour, J.L. Kleen, I. Lean, J. Loor, G. Penner, and Q. Zebeli. 2018. Review: enhancing gastrointestinal health in dairy cows. Animal. 12:399–418.
16. Saricicek, B.Z. and Kilic, U. 2011. Effect of different additive on the nutrient composition, invitro gas production and silage quality of alfalfa silage. Asian J. Anim. Vet. Adv., 6: 618-626.
17. Stewart, W.M. 2011. Plant Nutrition Today. From Scientific Staff of the International Plant Nutrition Institute (IPNI), Norcross, Georgia.
18. Taghizadeh, A. M. Danesh Mesgaran, R. Valizadeh, and F. Eftekhar Shahroodi, F. Stanford. 2005. Digestion of feed amino acids in the rumen and intestine of steers measured using a mobile nylon bag technique. J. Dairy Sci., 88:1807-1814.