نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 8، شماره 2، تابستان 1395، ص. 237-227

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 8, No. 2, Summer 2016, p. 227-237

تعیین ارزش غذایی، ترکیبات فنلی و فراسنجه‌های هضم برون تنی شاخ و برگ حاصل از برداشت زرشک

سید جلال مدرسی*[1]- رضا ولی زاده[2]- محمد حسن فتحی نسری[3]- علیرضا هروی موسوی[2]- محسن دانش مسگران[2]- فاطمه خسروی[4]

تاریخ دریافت: 1392/05/29
تاریخ پذیرش: 1393/12/26

چکیده

این آزمایش به منظور تعیین ارزش غذایی، ترکیبات فنلی و ضرایب هضمی شاخ و برگ زرشک انجام شد. نمونه‌ها پس از خشک شدن با محلول‌های اوره، پلی اتیلن گلیکول، هیدروکسید سدیم و هیدروکسید کلسیم به میزان 5 درصد وزنی آغشته شد. تیمارهای آزمایشی شامل: 1) نمونه شاهد، 2) شاخ و برگ همراه با 5 درصد اوره، 3) شاخ و برگ همراه با 5 درصد پلی اتیلن گلیکول، 4) شاخ و برگ همراه با 5 درصد هیدروکسید سدیم و 5) شاخ و برگ همراه با 5 درصد هیدروکسید کلسیم بود. برای تهیه محلول‌ها دو برابر مقدار مواد افزودنی، آب به نمونه‌ها افزوده شد. نمونه‌ها به مدت سه روز در ظروف نفوذ ناپذیر به هوا نگهداری و سپس در مجاورت هوای اتاق خشک شد. مقدار پروتئین خام، فیبر نامحلول در شوینده خنثی، فیبر نامحلول در شوینده اسیدی، عصاره اتری، کل تانن، تانن متراکم، تانن قابل هیدرولیز و تعدادی عناصر معدنی در هر یک از تیمارها اندازه گیری شد. برای تعیین ضرایب هضمی و فراسنجه‌های تخمیری از روش آزمایشگاهی تولید گاز استفاده شد. براساس نتایج، کل ترکیبات فنلی و تانن در اثر افزودن اوره، هیدروکسید سدیم و هیدروکسید کلسیم به طور معنی‌داری کاهش یافته و فراسنجه‌های هضم شکمبه‌ای و تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی بهبود یافت و استفاده از اوره به منظور کاهش ترکیبات فنلی و بهبود فراسنجه‌های هضمی در مقایسه با سایر افزودنی‌های مورد استفاده در مطالعه حاضر مناسب‌تر بود.

واژه‌های کلیدی: تانن، تولید گاز، شاخ و برگ زرشک، هضم شکمبه ای.

مقدمه

گیاه زرشک (*Berberis vulgaris*) از خانواده *Berberidaceae* بوده و در عرض‌های جغرافیایی 37/5 تا 34/5 درجه شمالی کشت می‌گردد (5). بیش از 660 گونه مختلف در این جنس قرار گرفته است که فقط گونه زرشک بی‌دانه به عنوان محصول باغی پرورش می‌یابد. زرشک بی‌دانه یکی از محصولات عمده کشاورزی در استان خراسان است. این استان بیش از 70 درصد سطح زیر کشت زرشک کشور و 95 درصد کل تولید زرشک دنیا را به خود اختصاص داده است (3). برداشت زرشک به روش شاخه چینی یکی از روش‌های متداول برداشت محصول است. در این روش محصول همراه با شاخه و برگ برداشت شده و پس از خشک شدن طی 2 مرحله بوجاری، محصول زرشک حاصل می‌شود (6). در اولین مرحله بوجاری که معمولاً توسط نیروی انسانی انجام می‌شود، خوشه‌های زرشک از شاخ و برگ جدامی‌شود. مرحله دوم بوجاری در کارگاه‌های کوچک واقع در حاشیه شهرها انجام می‌شود. در این مرحله زرشک به طور کامل پاک شده و دمبرگ، برگ‌ها، زرشک‌های صدمه دیده و یا بیش از حد رسیده و سایر ذرات خارجی از زرشک جدا می‌شود (8). ضایعات و شاخ و برگ حاصل از برداشت زرشک به صورت سنتی مورد تغذیه دام‌ها قرار می‌گیرد، ولی بر اساس منابع تاکنون مطالعه‌ای در خصوص تعیین ترکیبات مغذی، میزان تانن و برآورد فراسنجه‌های تجزیه پذیری آن انجام نگرفته است.

غلظت‌های بیشتر از 3 تا 4 درصد تانن در مواد خوراکی، می‌تواند اثرات منفی بر قابلیت هضم در نشخوارکنندگان داشته باشد و خصوصاً

1- دانشجوی دوره دکتری تغذیه نشخوارکنندگان، گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد،
2- عضو هیئت علمی گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد،
3- عضو هیئت علمی گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند،
4- دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند.
(*-نویسنده مسئول: Email: jalalmodaresi@gmail.com)

میزان جذب پروتئین جیره را کاهش دهد (24). بنابراین می‌توان انتظار داشت که وجود مقادیر بالای تانن در ضایعات شاخ و برگ زرشک موجب کاهش بازدهی مصرف آن در تغذیه نشخوار کنندگان شود. مطالعات متعددی نشان داده است که افزودن برخی ترکیبات از جمله اوره، پلی اتیلن گلیکول، هیدروکسید سدیم و یا هیدروکسید کلسیم می‌تواند موجب کاهش سطح تانن شود (24). میزان شاخه و برگ خشک که در زمان برداشت محصول از هر اصله درخت زرشک بدست می‌آید، بین 3 تا 5 کیلوگرم گزارش شده است (6). با توجه به حجم زیاد شاخ و برگ زرشک که پس از برداشت محصول باقی می‌ماند و امکان استفاده از آن در تغذیه دام، مطالعه حاضر به منظور تعیین برخی ترکیبات مغذی، ترکیبات فنلی و فرآسنجه‌های تجزیه پذیری شاخ و برگ زرشک انجام شد. علاوه براین در این مطالعه به منظور بررسی بهترین افزودنی موثر در کاهش غلظت تانن‌ها و ترکیبات فنلی، اوره، پلی اتیلن گلیکول، هیدروکسید سدیم و هیدروکسید کلسیم مورد مقایسه قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

شاخ و برگ زرشک مورد استفاده در این مطالعه، از مزارع جنوب شهرستان قاین و پس از برداشت محصول به روش شاخه چینی، تهیه گردید. نمونه‌ها با قرار گرفتن در معرض نور خورشید به مدت 6 روز خشک شد. مقدار 5 درصد وزنی (براساس ماده خشک) اوره، پلی اتیلن گلیکول، هیدروکسید سدیم و یا هیدروکسید کلسیم که قبلاً با آب مقطر به صورت محلول 5 درصد آماده شده بود، بر روی 5 کیلوگرم از نمونه‌ها افشانده شده و به طور کامل مخلوط شد (13). هر یک از تیمارهای آزمایشی در سه تکرار آماده شدند. تیمارهای آزمایشی شامل: 1) نمونه شاهد(شاخ و برگ بدون افزودنی)، 2) شاخ و برگ همراه با 5 درصد محلول اوره، 3) شاخ و برگ همراه با 5 درصد پلی اتیلن گلیکول، 4) شاخ و برگ همراه با 5 درصد هیدروکسید سدیم، 5) شاخ و برگ همراه با 5 درصد هیدروکسید کلسیم بود.

هر یک از تیمارها پس از مخلوط شدن کامل به ظروف 5 لیتری منتقل شد. هوای داخل ظروف به وسیله فشردن تخلیه شده و درب ظروف به گونه‌ای که هوا وارد نشود، بسته شد. نمونه‌ها به مدت سه روز نگهداری شده و پس از باز کردن درب ظروف در دمای اتاق خشک شد. نمونه‌ها آسیاب شده (یک میلی‌متر) و درصد ماده خشک، پروتئین خام، عصاره اتری، خاکستر طبق روش AOAC (10) تعیین گردید. مقدار مواد معدنی موجود در نمونه‌های شاخ و برگ زرشک شامل: کلسیم، فسفر، کلر، سدیم، پتاسیم با استفاده از اتوآنالایزر مواد معدنی (*AUDICOM*، مدل 9801، چین) تعیین گردید. مقدار فیبر نامحلول در شوینده خنثی (*NDF*) و فیبر نامحلول در شوینده اسیدی (*ADF*) براساس روش ون سوئست (40) اندازه گیری شد. کل ترکیبات فنلی با استفاده از معرف فولین شیکالتو (26) و بر حسب گرم بر کیلوگرم ماده خشک معادل اسید تانیک بیان شد. مقدار تانن کل از اختلاف کل ترکیبات فنلی قبل و بعد از افزودن پلی ونیل پیرولیدون نامحلول[1] (23) تعیین شد. تانن متراکم با استفاده از روش پلیمریزاسیون اکسیداتیو (22) اندازه گیری شد. در این روش تانن متراکم موجود در 0/5 میلی لیتر عصاره استونی با استفاده از 3 میلی لیتر بوتانول اسیدی (95 درصد) در حضور سولفات آمونیوم فریک جداسازی و سپس میزان جذب در طول موج 550 نانومتر با استفاده از اسپکتوفتومتر قرائت و بر حسب معادل لوکوسیانیدین تعیین شد. برای تعیین فراسنجه‌های تجزیه پذیری، نمونه‌های شاخ و برگ زرشک همراه با مایع بافری شده شکمبه در سرنگ‌های شیشه‌ای مدرج انکوباسیون شدند و میزان تولید گاز در زمان‌های مختلف انکوباسیون قرائت شد (30). مایع شکمبه از گاوهای تغذیه شده با جیره‌ای حاوی 40 درصد علوفه و 60 درصد کنسانتره با 135 گرم پروتئین در هرکیلوگرم ماده خشک بلافاصله پس از کشتار اخذ گردید و با استفاده از فلاکس‌هایی با دمای 35 درجه و حاوی گاز دی اکسید کربن به آزمایشگاه منتقل گردید. مایع شکمبه پس از صاف کردن به وسیله پارچه متقال، به نسبت 1 به 2 با محلول بافر و محلول مواد معدنی (24) مخلوط شد. این مخلوط همراه با 200 میلی‌گرم از نمونه‌های آسیاب شده شاخ و برگ زرشک وارد سرنگ‌ها که قبلاً تا دمای 35 درجه سانتی گراد گرم شده بودند، شد و در بن ماری با دمای 39 درجه سانتی گراد قرار گرفت. مقدار تولید گاز پس از 2، 4، 8، 12، 24، 48، 72 و 96 ساعت اندازه گیری و ثبت شد. برای تصحیح مقدار گاز تولیدی از سه سرنگ که فقط با مخلوط مایع شکمبه، بافر و محلول مواد معدنی پر شده بودند، استفاده شد. تمام مراحل آزمایش در سه مرتبه انکوباسیون جداگانه تکرار شد. مقدار گاز تولیدی بر حسب میلی لیتر به ازاء 200 میلی گرم ماده خشک و بر اساس مدل اورسکوف و مک دونالد (30) بیان شد:

$$Y=a+b\ (1- e^{-ct})$$

در این معادله: Y میلی لیتر گاز تولید شده به ازاء 200 میلی گرم ماده خشک نمونه در زمان t، b میلی لیتر گاز تولید شده توسط بخش نامحلول به ازاء 200 میلی گرم ماده خشک، C نرخ تولید گاز در ساعت و t مدت زمان انکوباسیون است. بدلیل عدم تولید گاز در زمان صفر، فراسنجه a عملاً از معادله حذف می‌گردد.

مقدار انرژی قابل متابولیسم (*ME*، مگا ژول در کیلوگرم ماده خشک) موجود در نمونه‌ها با استفاده از معادله ارائه شده توسط منک و همکاران (30) برآورد گردید:

$$ME\ (MJ/kg\ DM) = 2.20 + (0.136 \times GP) + (0.0057 \times CP)$$

در این معادله: GP میلی لیتر گاز تولید شده حاصل از

1- Insoluble Polyvinylpyrrolidone

انکوباسیون 200 میلی گرم ماده خشک نمونه پس از 24 ساعت انکوباسیون، CP گرم پروتئین خام در 100 گرم ماده خشک نمونه است.

انرژی خالص شیرواری (NEL، مگا ژول در کیلوگرم ماده خشک) بر اساس رابطه زیر محاسبه شد (29):

$$NEL\ (MJ/kg\ DM) = (0.115 \times GP) + (0.0054 \times CP) + (0.014 \times EE) - (0.0054 \times CA) - 0.36$$

در این معادله: GPمیلی لیتر گاز تولید شده حاصل از انکوباسیون 200 میلی گرم ماده خشک نمونه پس از 24 ساعت انکوباسیون، CP گرم پروتئین خام در 100 گرم ماده خشک نمونه، EE گرم عصاره اتری در 100 گرم ماده خشک نمونه، CA گرم خاکستر موجود در 100 گرم ماده خشک نمونه می‌باشد.

قابلیت هضم ماده آلی (درصد ماده خشک) بر اساس معادله منک و همکاران (30) و به شرح ذیل برآورد گردید:

$$OMD\ (\%DM) = 14.88 + (0.889 \times GP) + (0.0448 \times CP) + (0.0651 \times CA)$$

در این معادله: GP میلی لیتر گاز تولید شده حاصل از انکوباسیون 200 میلی گرم ماده خشک نمونه پس از 24 ساعت انکوباسیون، CP گرم پروتئین خام در 100 گرم ماده خشک نمونه، CA گرم خاکستر موجود در 100 گرم ماده خشک نمونه می‌باشد. پس از انکوباسیون به منظور قطع سریع عمل تخمیر، سرنگ‌ها در آب یخ قرار داده شدند و پس از فیلتر شدن با استفاده از پارچه با قطر منافذ 50 میکرومتر در آون با دمای 70 درجه سانتی گراد به مدت 48 ساعت برای تعیین ماده خشک قرار داده شد. مقدار ناپدید شدن ماده خشک در طی انکوباسیون از اختلاف بین ماده خشک نمونه قبل و بعد از انکوباسیون محاسبه گردید و بازدهی تخمیر خوراک با استفاده از رابطه زیر تعیین شد (18):

$$FFE = \text{(میلی لیتر گاز تولید شده پس از 24 ساعت انکوباسیون)} / \text{(میلی گرم ماده خشک ناپدید شده در طی انکوباسیون)} \times 100$$

که در این رابطه FFE بازدهی تخمیر خوراک پس از 24 ساعت انکوباسیون نمونه‌ها است.

آنالیز آماری داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و رویه GLM نرم افزار آماری SAS (38) با 5 تیمار و 3 تکرار برای هر تیمار با استفاده از مدل زیر انجام شد:

$$y = \mu + Ti + eij$$

در این مدل Y متغییر وابسته، μ میانگین کل، T_i اثرات افزودن اوره، PVP، هیدروکسید سدیم و هیدروکسید پتاسیم و e_{ij} خطای باقی مانده می‌باشد. به منظور مقایسه میانگین داده‌های پارامترهای تخمیر، ترکیبات شیمیایی و مقدار تانن از آزمون توکی کرامر استفاده شد. سطح معنی داری ($P<0/05$) در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی شاخ و برگ زرشک (جدول 1)تقریباً مشابه با معدود مطالعات انجام شده در این خصوص است (7). تفاوت‌های جزئی موجود بین نتایج مطالعه حاضر و نتایج مختارپور و همکاران (7) را می‌توان به دلیل تفاوت‌های موجود در شرایط آب و هوایی و محیطی، شرایط و ویژگی‌های فیزیولوژیکی و ژنتیکی گیاه دانست. همچنین اختلاف بین مطالعه حاضر و نتایج مطالعه مختارپور و همکاران (7) در میزان فیبر نامحلول در شوینده خنثی (به ترتیب 44/70 و 34/44 درصد ماده خشک) و فیبر نامحلول در شوینده اسیدی (به ترتیب 28/99 و 18/13 درصد ماده خشک) می‌تواند به دلیل وجود شاخه‌های زرشک در این مطالعه باشد، درحالی که در مطالعه مختارپور و همکاران (7) از برگ بدون شاخه زرشک استفاده شده بود. از آنجا که در زمان برداشت زرشک در شرایط مزرعه‌ای ساقه‌های جوان همراه با برگ‌ها از گیاه جدا می‌شوند، در مطالعه حاضر از نمونه‌های واقعی همراه با ساقه، استفاده شد.

افزودن پلی اتیلن گلیکول، هیدروکسید سدیم و هیدروکسید کلسیم به ضایعات شاخ و برگ زرشک موجب کاهش معنی دار ($P<0/001$) غلظت فیبر نامحلول در شوینده خنثی گردید (جدول 1). مطابق با نتایج مطالعه حاضر، خلیلوندی و همکاران (2) نشان دادند که افزودن پلی اتیلن گلیکول به سیلاژ علوفه اسپرس میزان فیبر نامحلول در شوینده خنثی را کاهش داد. این محققین دلیل کاهش فیبر نامحلول در شوینده خنثی را وجود اتم‌های اکسیژن فراوان در ملکول پلی اتیلن گلیکول دانستند که قادر به شکستن پیوندهای بین سلولز و لیگنین است. افزودنی‌های قلیایی از جمله هیدروکسید سدیم و هیدروکسید کلسیم نیز به دلیل شکستن پیوندهای استری موجود در لیگنین، همی‌سلولز و سلولز موجب کاهش غلظت فیبر نامحلول در شوینده خنثی می‌شود (26). مطابق با نتایج مطالعه حاضر، افزودن هیدروکسید کلسیم به کاه برنج (37) و کاه گندم (14) نیز میزان فیبر نامحلول در شوینده خنثی را کاهش داد. افزودن اوره به ضایعات شاخ و برگ زرشک موجب افزایش معنی‌دار ($P<0/0001$) مقدار پروتئین خام در مقایسه با سایر تیمارها شد (جدول 1) که به دلیل ازت موجود در اوره بود. مطابق با نتایج مطالعه حاضر، افزودن اوره به برگ اقاقیا (20)، پوست پسته (1 و 39) و پوست بادام (17) نیز موجب افزایش پروتئین خام گردید. همچنان که انتظار می‌رفت، افزودن هیدروکسید سدیم و هیدروکسید کلسیم موجب افزایش معنی داری به ترتیب در غلظت سدیم و کلسیم شد که طبعاً به دلیل وجود این عناصر در ترکیبات مذکور است (جدول 1). علاوه بر این افزایش سدیم و کلسیم به ترتیب در تیمارهای آزمایشی حاوی هیدروکسید سدیم و هیدروکسید کلسیم موجب افزایش معنی دار خاکستر در این تیمارهای آزمایشی شد. غلظت چربی خام، فیبر نامحلول در شوینده‌ی اسیدی، فسفر، کلر و پتاسیم تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (جدول 1).

جدول1- اثر افزودن اوره، پلی اتیلن گلیکول، هیدروکسید سدیم و یا هیدروکسید کلسیم بر مقدار ترکیب شیمیایی نمونه‌های شاخ و برگ زرشک[1]

Table1- The effect of adding urea, polyethylene glycol, sodium hydroxide or calcium hydroxide on the chemical composition of branches and leaves of Barberry[1]

ترکیب شیمیایی (% ماده خشک) Chemical compounds (%DM)	Treatment					SEM	P-value
	Foliage without additives	Foliage and 5% urea	Foliage and 5% PEG	Foliage and 5% NAOH	Foliage and 5% Ca (OH) 2		
پروتئین خام CP	5.98[b]	12.04[a]	5.88[b]	5.57[b]	6.43[b]	0.188	<0.0001
عصاره اتری EE	1.18	1.17	1.14	1.08	1.19	0.062	NS[2]
خاکستر Ash	3.46[b]	3.06[b]	3.53[b]	5.43[a]	6.07[a]	0.272	<0.0001
فیبر نامحلول در شوینده خنثی NDF	44.70[a]	45.38[a]	35.31[b]	34.77[b]	35.77[b]	1.308	<0.0002
فیبر نامحلول در شوینده اسیدی ADF	28.99	26.80	26.86	26.43	28.73	0.663	NS
کلسیم Ca	0.006[b]	0.006[b]	0.006[b]	0.006[b]	0.019[a]	0.0007	<0.0002
فسفر P	0.017	0.018	0.017	0.018	0.018	0.0004	NS
کلر Cl	1.005	0.909	1.050	0.985	1.075	0.0756	NS
سدیم Na	1.01[b]	0.88[b]	0.92[b]	1.685[a]	0.93[b]	0.420	<0.0047
پتاسیم K	1.16	1.15	1.19	1.16	1.16	0.014	NS

[1] میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P< 0/05).

[1]Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).
[2]NS: not significant

تانن‌ها قادر به ایجاد پیوند با ماکرومولکول‌های خوراک از جمله پروتئین‌ها، نشاسته و سلولز هستند و آنها را از دسترس میکروارگانیسم‌های شکمبه خارج می‌کنند. این ویژگی تانن‌ها کاهش قابلیت هضم خوراک را در پی دارد (4 و 16). بیشترین اثر منفی تانن‌ها در تغذیه نشخوارکنندگان کاهش قابلیت هضم پروتئین خام، اسیدهای آمینه و تا حدودی انرژی گزارش شده است (19). تانن‌ها به دلیل واکنش با موکوپروتئین‌های بزاق و همچنین اثر مستقیم بر گیرنده‌های چشایی موجب کاهش خوش خوراکی و در نهایت کاهش مصرف ماده خشک نیز می‌شود (34). مصرف مقادیر زیاد خوراک‌های حاوی تانن در گوسفند و گاو موجب آسیب به کبد و کلیه شد و بعد از 5 تا 10 روز بیش از نیمی از حیوانات تلف شدند (11). اسید گالیک که جزء تانن‌های قابل هیدرولیزاست، می‌تواند توسط باکتری‌های شکمبه به پیروگالول دکربوکسیله شده و در شکمبه تولید ترکیبات سمی برای میکروارگانیسم‌های شکمبه و حیوان نماید. بنابراین تانن‌ها هضم فیبر در شکمبه را مختل کرده و حذف آنها از جیره نشخوارکنندگان موجب افزایش بازدهی تولید می‌شود (33). به منظور حذف اثرات نامطلوب تانن‌ها در خوراک‌هایی که دارای غلظت‌های بالای تانن هستند، روش‌های متعددی مورد استفاده قرار گرفته است. یکی از این روش‌ها استفاده از پلی اتیلن گلیکول و سایر ترکیباتی است که قادر به ایجاد پیوند با تانن‌ها هستند. این ترکیبات شیمیایی ضمن ایجاد پیوند با تانن‌ها و جلوگیری از باند شدن آنها با ترکیبات مغذی خوراک، موجب شکسته شدن کمپلکس‌های تانن-پروتئین نیز می‌شوند (41). در این مطالعه به منظور کاهش اثرات منفی تانن‌ها از اوره، پلی اتیلن گلیکول، هیدروکسید سدیم و هیدروکسید کلسیم که توانایی تشکیل پیوند پایدار با تانن‌ها را دارند (11 و 26)، استفاده شد. تاثیر هر یک از این افزودنی‌ها بر غلظت کل ترکیبات فنلی، تانن کل، تانن متراکم و تانن قابل هیدرولیز در جدول 2 ارائه شده است. مطالعات نشان می‌دهد که اوره، هیدروکسید سدیم و هیدروکسید کلسیم به دلیل ایجاد پیوند با تانن‌ها و سایر ترکیبات فنلی سبب رسوب و کاهش غلظت آنها می‌شود (26) که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. میزان کاهش ترکیبات فنلی در اثر افزودن این ترکیبات علاوه بر غلظت ماده افزودنی به ویژگی‌های خوراک نیز وابسته است (9).

غلظت پروتئین، فیبر نامحلول در شوینده خنثی و فیبر نامحلول در شوینده اسیدی در ماده خوراکی می‌تواند بر بازدهی کاهش تانن‌ها موثر باشد. همچنین ساختمان ترکیبات فنلی و نسبت تانن‌های متراکم و تانن‌های قابل هیدرولیز در گیاه نیز می‌تواند بر مقدار حذف تانن‌ها موثر باشد (25).اتم‌های اکسیژن موجود در پلی اتیلن گلیکول با ایجاد پیوند هیدروژنی با گروه‌های فنلی تانن‌ها، سبب تشکیل کمپلکس پلی اتیلن گلیکول- تانن و رسوب آنها می‌شود (24). مختارپور و همکاران (7) مقدار کل تانن‌های موجود در برگ زرشک را 6/07 درصد ماده خشک گزارش کردند که از مقدار مشاهده شده در مطالعه حاضر (7/14 درصد ماده خشک) کمتر است. مقدار تانن‌ها در گیاهان بسته به میزان حاصلخیزی خاک، مقدار تأمین آب، گونه گیاهی و تغییرات فیزیولوژیکی گیاه متغییر است (26). اختلاف مشاهده شده می‌تواند به دلیل تفاوت در شرایط اقلیمی و یا تفاوت در روش‌های اندازه گیری باشد. از آنجا که در زمان برداشت زرشک در شرایط مزرعه‌ای، علاوه بر برگ، ساقه‌های جوان نیز از گیاه جدا می‌شوند، در این مطالعه از نمونه‌های واقعی که همراه با مقداری ساقه بود، استفاده شد. کل ترکیبات فنلی موجود در مطالعه حاضر نیز کمتر از مقدار گزارش شده توسط مختارپور و همکاران (7) بود (13/14 درصد در برابر 14/89 درصد ماده خشک) که می‌تواند به دلیل وجود تفاوت‌های محیطی در کیفیت خاک، آب و شرایط فیزیولوژیکی گیاه باشد.

تمام افزودنی‌های مورد استفاده در مطالعه حاضر به استثناء پلی اتیلن گلیکول به طور معنی‌داری موجب کاهش مقدار کل ترکیبات فنلی، تانن کل و تانن قابل هیدرولیز موجود در ضایعات شاخ و برگ زرشک گردیدند (جدول 2). در مورد تانن متراکم شرایط برعکس بود و بیشترین کاهش غلظت تانن‌های متراکم در گروه محلول پاشی شده با پلی اتیلن گلیکول مشاهده شد ($P<0/001$).دلیل اینکه پلی اتیلن گلیکول برخلاف سایر افزودنی‌های مورد استفاده در مطالعه حاضر، تاثیر معنی داری در کاهش غلظت تانن قابل هیدرولیز نداشت را می‌توان تمایل بیشترپلی اتیلن گلیکول به تشکیل پیوند با تانن‌های متراکم در مقایسه با تانن‌های قابل هیدرولیز دانست (24). با توجه به اینکه بخش عمده‌ای از تانن‌های موجود در ضایعات شاخ و برگ زرشک عمدتاً از نوع تانن‌های قابل هیدرولیز است (6/91 درصد تانن قابل هیدرولیز در برابر 1/23 درصد تانن متراکم در نمونه شاهد)، بنابراین در این مطالعه پلی اتیلن گلیکول در کاهش غلظت ترکیبات فنلی و تانن کل تأثیر کمتری داشت (جدول 2) ولی موجب کاهش بیشتری در غلظت تانن‌های متراکم گردید ($P<0/05$). پلی اتیلن گلایکول تاثیری بر آنزیم‌های هضمی و میکروبی شکمبه موثر در حذف تانن‌ها ندارد، ولی با ایجاد پیوند با ترکیبات فنلی مستقیماً موجب غیرفعال شدن آنها می‌شود (26). وینا و همکاران (41) گزارش کردند که خیساندن برگ‌های اقاقیا با محلول 2 درصد هیدروکسید کلسیم میزان کل ترکیبات فنلی و کل تانن را به ترتیب 74 و 75 درصد کاهش داد. همچنین ماکار و همکاران (23) نیز نشان دادند که خیساندن چوب گردو با محلول 5 و 50 گرم هیدروکسید کلسیم در لیتر به ترتیب موجب کاهش 69 و 92 درصدی در میزان کل تانن آن شد. در مطالعه حاضر نیز محلول پاشی با محلول 5 درصد هیدروکسید کلسیم موجب کاهش 71/5 درصدی کل ترکیبات فنلی و 65/9 درصدی کل تانن در مقایسه با گروه شاهد شد (جدول 2). ماکار (26) اثر مواد قلیایی بر کاهش غلظت تانن‌ها را تاثیر این ترکیبات بر افزایش مقدار pH خوراک می‌داند. با افزایش pH خوراک، ترکیبات فنولی اکسید شده و غیرفعال می‌شوند. کمتر بودن درصد کاهش غلظت کل ترکیبات فنلی و تانن کل در مطالعه حاضر در مقایسه با مطالعات قبلی، می‌تواند به دلیل محلول پاشی در مقایسه با خیساندن و همچنین نوع تانن‌های موجود در شاخ و برگ زرشک در مقایسه با برگ اقاقیا (41) و چوب گردو (23) باشد. هرچند که اثرات هر یک از افزودنی‌های مورد استفاده در مطالعه حاضر بر غلظت تانن‌های قابل هیدرولیز متفاوت بود (جدول 2)، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که محلول پاشی ضایعات شاخ و برگ زرشک با محلول اوره در مقایسه با سایر افزودنی‌ها، بیشترین تاثیر را در کاهش غلظت ترکیبات فنلی، کل تانن و تانن‌های قابل هیدرولیز داشت. مطابق با نتایج مطالعه حاضر کربس و همکاران (20) و همچنین ولی زاده و همکاران (39) نشان دادند که افزودن اوره به سیلوی برگ و سیلوی پوست پسته موجب کاهش میزان کل ترکیبات فنلی، کل تانن و تانن‌های قابل هیدرولیز شد.

حجم گاز تولیدی ضایعات شاخ و برگ زرشک که با استفاده از محلول 5 درصد اوره، پلی اتیلن گلایکول، هیدروکسید سدیم و هیدروکسید کلسیم محلول پاشی شده و همچنین حجم گاز تولیدی نمونه شاهد در زمان‌های انکوباسیون 12، 24، 48، 72 و 96 ساعت در جدول 3 ارائه شده است. با افزایش مدت زمان انکوباسیون میزان تولید گاز در تمامی تیمارهای آزمایشی افزایش یافت. هرچند مطالعات انجام شده در خصوص ارزیابی فراسنجه های هضمی ضایعات شاخ و برگ زرشک بسیار کم است، ولی میزان گاز تولید شده در مطالعه حاضر با نتایج مطالعه مختارپور و همکاران (7) مطابقت دارد. استفاده از اوره، هیدروکسید سدیم و هیدروکسید کلسیم موجب افزایش معنی دار حجم گاز تولیدی پس از 24، 48، 72 و 96 ساعت انکوباسیون گردید (جدول 3)، که می‌تواند به دلیل اثر این ترکیبات بر کاهش فعالیت تانن‌ها دانست.

جدول2- اثر افزودن اوره، پلی اتیلن گلیکول، هیدروکسید سدیم و یا هیدروکسید کلسیم بر مقدار ترکیبات فنلی و تانن موجود در نمونه‌های شاخ و برگ زرشک[1]

Table 2- Effect of urea, polyethylene glycol, sodium hydroxide or calcium hydroxide on the amount of phenolics and tannins in samples branches and leaves of Barberry[1]

فراسنجه (% ماده خشک) Parameters (% dry matter)	Treatment					SEM	*P-value*
	Foliage without additives	Foliage and 5% urea	Foliage and 5% PEG	Foliage and 5% NAOH	Foliage and 5% Ca (OH) 2		
کل ترکیباتفنلی Total phenolic compound	13.14[a]	9.09[b]	12.23[a]	9.78[b]	9.40[b]	0.417	0.0031
تانن کل Total tannins	7.14[a]	4.17[a]	6.78[a]	4.86[b]	4.71[b]	0.222	0.0007
تانن متراکم Condensed tannin	1.23[a]	0.88[b]	0.29[c]	0.89[b]	0.89[b]	0.043	0.0002
تانن قابل هیدرولیز Hydrolysable tannin	6.91	3.29[c]	5.49[b]	3.97[d]	3.82[d]	0.065	<0.0001

[1]میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P< 0/05).

[1]Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).

تانن‌ها با مهار آنزیم‌های هضمی و یا جلوگیری از اتصال میکروارگانیسم‌های شکمبه به ذرات مواد غذایی موجب کاهش تجزیه پذیری خوراک در شکمبه می‌شوند. غیرفعال کردن تانن‌ها با استفاده از افزودنی‌هایی مثل پلی اتیلن گلیکول، اوره، هیدروکسید سدیم و هیدروکسید کلسیم موجب افزایش قابلیت دسترسی میکروارگانیسم‌ها به ذرات خوراک شده و تجزیه پذیری و تولید گاز افزایش می‌یابد (1 و 26). مطابق با نتایج مطالعه حاضر، افزودن هیدروکسید کلسیم و اوره به علوفه‌های غنی از تانن موجب افزایش تولید گاز گردید (12، 36). با این وجود استفاده از پلی اتیلن گلیکول تاثیر معنی داری بر میزان گاز تولیدی در ساعات مختلف انکوباسیون نداشت که مهمترین دلیل آن را می‌توان تاثیر کمتر پلی اتیلن گلیکول بر کاهش غلظت ترکیبات فنلی دانست.

جدول 3- اثر افزودن اوره، پلی اتیلن گلیکول، هیدروکسید سدیم و یا هیدروکسید کلسیم بر مقدار تولید گاز در شرایط برون تنی در نمونه‌های شاخ و برگ زرشک[1]

Table 3- The effect of adding urea, polyethylene glycol, sodium hydroxide or calcium hydroxide on the amount of gas production in vitro samples branches and leaves of Barberry[1]

مدت زمان انکوباسیون (ساعت) Incubation time (h)	Treatment					SEM	*P-value*
	Foliage without additives	Foliage and 5% urea	Foliage and 5% PEG	Foliage and 5% NAOH	Foliage and 5% Ca (OH) 2		
	مقدار تولید گاز (میلی لیتر به ازاء 200 میلی گرم ماده خشک) The amount of gas produced (ml per 200 mg of dry matter						
12	33.50	35.32	34.90	36.13	35.93	1.477	NS[2]
24	55.21[b]	72.29[a]	56.54[b]	68.30[a]	70.39[a]	2.130	0.006
48	70.70[b]	100.19[a]	72.83[b]	87.58[b]	83.88[b]	3.302	0.0073
72	73.80[c]	110.01[a]	74.79[c]	90.24[b]	89.26[b]	2.673	0.0011
96	80.24[c]	112.83[a]	81.11[c]	93.66[b]	94.29[b]	0.595	<0.0001

[1]میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P< 0/05).

[1]Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).
[2]NS: not significant

در جدول 4 میزان گاز تولیدی حاصل از بخش نامحلول ولی قابل تجزیه در شکمبه (فراسنجه b) و همچنین ثابت نرخ تولید گاز در طی انکوباسیون (فراسنجه c) ارائه شده است. استفاده از اوره، پلی اتیلن گلایکول، و هیدروکسید کلسیم تاثیر معنی داری بر میزان گاز تولیدی حاصل از بخش b نداشت، ولی افزودن هیدروکسید سدیم موجب افزایش فراسنجه b شد (P<0/05) که احتمالاً به دلیل اثرات آن بر حلالیت برخی ترکیبات بخش‌های محلول و نامحلول ولی قابل تجزیه در شکمبه است (21).

محلول پاشی شاخ و برگ زرشک با محلول هیدروکسید سدیم و اوره موجب افزایش ثابت نرخ تولید گاز (c) شد، که احتمالاً به دلیل اثر آنها بر باکتری‌های تجزیه کننده سلولز[1] است. این باکتری‌ها منحصراً از نیتروژن آمونیاکی به عنوان منبع نیتروژن استفاده کرده و

1- Cellulolytic

قابلیت استفاده از اسیدهای آمینه و پپتیدها را ندارند. بنابراین با افزودن اوره و افزایش غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه، فعالیت این دسته از باکتری‌ها افزایش می‌یابد (21). مطالعات نشان می‌دهد که حداکثر تخمیر شکمبه‌ای در غلظت‌های بین 19 تا 23 میلی‌گرم نیتروژن آمونیاکی در هر میلی لیتر مایع شکمبه ایجاد می‌شود (28). افزایش ثابت نرخ تجزیه (c) در اثر محلول پاشی با اوره و هیدروکسید سدیم را می‌توان به ترتیب به دلیل افزایش غلظت نیتروژن آمونیاکی و تغییر در حلالیت ترکیبات خوراک دانست. نتایج مشابهی در زمان استفاده از خوراک‌های غنی از تانن‌ها قبلاً نیز گزارش شده است که با نتاج مطالعه حاضر مطابقت دارد (15، 37). ولی زاده و همکاران (39) نیز نشان دادند که افزودن اوره به سیلاژ پوست پسته باعث افزایش قابلیت هضم شکمبه‌ای آن گردید.

استفاده از اوره، هیدروکسید سدیم و هیدروکسید کلسیم موجب افزایش (P<0/05) انرژی قابل متابولیسم شاخ و برگ زرشک گردید (جدول 4) که می‌تواند به دلیل تأثیرات مثبت اوره بر فعالیت میکروبی شکمبه (21) و کاهش ترکیبات فنلی موجود در ضایعات شاخ و برگ زرشک باشد. مشابه با این آزمایش، افزودن محلول 2 درصد هیدروکسید کلسیم به برگ‌های اقاقیا نیز موجب کاهش میزان تانن و افزایش انرژی متابولیسمی شد (41). افزایش انرژی قابل متابولیسم در پی استفاده از اوره، هیدروکسید سدیم و هیدروکسید کلسیم، می‌تواند به دلیل کاهش غلظت ترکیبات فنلی و کاهش اثرات نامطلوب آنها بر هضم شکمبه‌ای باشد. این امر موجب افزایش بازدهی تخمیر خوراک در شرایط آزمایشگاهی و همچنین افزایش ماده خشک ناپدید شده در طی انکوباسیون نیز گردید (P<0/05). برخلاف نتایج مطالعه حاضر افزودن هیدروکسید کلسیم به لوبیای لوپین (27) و افزودن هیدروکسید سدیم به باقلای هندی (35) موجب کاهش قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده خشک گردید. این محققین دلیل این کاهش را از دسترس خارج شدن کربوهیدرات‌های محلول در پی افزودن هیدروکسید سدیم و هیدروکسید کلسیم دانستند (31). اختلاف مطالعه حاضر با این مطالعات احتمالاً به دلیل پایین بودن کربوهیدرات های محلول در برگ و شاخه زرشک است، هرچند نیاز به مطالعات بیشتری در این زمینه وجود دارد. استفاده از پلی اتیلن گلیکول تأثیری بر مقدار انرژی متابولیسمی برآورد شده، بازدهی تخمیر خوراک، قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده خشک و قابلیت هضم ماده آلی نداشت که می‌تواند به دلیل عدم تأثیر معنی دار پلی اتیلن گلیکول بر کاهش غلظت ترکیبات فنلی باشد.

جدول 4- اثر افزودن اوره، پلی اتیلن گلیکول، هیدروکسید سدیم و یا هیدروکسید کلسیم بر مقدار فراسنجه های قابلیت هضم در شرایط برون تنی در نمونه‌های شاخ و برگ زرشک[1]

Table 4- The effect of adding urea, polyethylene glycol, sodium hydroxide or calcium hydroxide on in vitro digestibility parameters of the branches and leaves of Barberry[1]

فراسنجه Parameter	Treatment					SEM	P-value
	Foliage without additives	Foliage and 5% urea	Foliage and 5% PEG	Foliage and 5% NAOH	Foliage and 5% Ca (OH)2		
فراسنجه b (درصد ماده خشک)[2] Parameters b (DM%)[2]	44.22^{b}	48.33^{b}	45.89^{b}	51.41^{a}	47.21^{b}	1.118	0.0397
فراسنجه c (میلی لیتر در ساعت)[3] Parameters c (ml / h)[3]	0.039^{b}	0.047^{a}	0.025^{c}	0.052^{a}	0.034^{b}	0.001	<0.0001
میزان ماده خشک ناپدید شده (میلی گرم) dry matter disappearance (mg)	61.88^{b}	74.26^{a}	64.47^{b}	71.37^{a}	76.47^{a}	1.095	0.0038
بازدهی تخمیر خوراک (درصد) Fermented feed efficiency(%)	8.56^{b}	13.45^{a}	12.11^{ab}	10.45^{ab}	9.78^{ab}	0.661	0.0194
انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک) (Metabolizable energy (MJ/ kg DM	9.74^{b}	12.09^{a}	9.92^{b}	11.52^{a}	11.81^{a}	0.258	0.0035
قابلیت هضم ماده آلی (درصد ماده خشک) Digestibility of organic matter (DM%)	64.45^{a}	79.88^{c}	65.63^{a}	76.20^{b}	78.14^{cb}	0.380	<0.0001

[1]میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P< 0/05).

[2]مقدار گاز تولید شده از بخش نامحلول و قابل تخمیر (میلی لیتر به ازاء 200 میلی گرم ماده خشک) پس از 24 ساعت انکوباسیون.

[3]ثابت نرخ تولید گاز در طی انکوباسیون (میلی لیتر در ساعت).

[1]Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).

[2]The amount of gas produced from the insoluble and fermentable (ml per 200 mg of dry matter) after 24 h of incubation.

[3]Fixed rate of gas production during incubation (ml per hour).

مطابق با نتایج مطالعه حاضر خلیوندی و همکاران (2) نیز نشان دادند که افزودن پلی اتیلن گلیکول به سیلاژ علوفه اسپرس تاثیر معنی داری بر مقدار انرژی متابولیسمی نداشت. با توجه به اینکه پلی اتیلن گلیکول بر خلاف سایر افزودنی‌های مورد استفاده در مطالعه

حاضر، تاثیر معنی‌داری بر کاهش مقدار کل ترکیبات فنلی، تانن کل و تانن قابل هیدرولیز موجود در ضایعات شاخ و برگ زرشک نداشت، بنابراین پلی اتیلن گلیکول تأثیری بر مقدار انرژی متابولیسمی برآورد شده، بازدهی تخمیر خوراک، قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده خشک و قابلیت هضم ماده آلی نیز نداشت.

نتیجه گیری کلی

براساس نتایج مطالعه حاضر بالا بودن میزان ترکیبات فنلی و تانن‌ها در ضایعات شاخ و برگ زرشک، که پس از برداشت محصول زرشک به روش شاخه چینی حاصل می‌شود، استفاده از آن را در تغذیه نشخوارکنندگان محدود می‌کند. در این مطالعه محلول پاشی شاخ و برگ زرشک با محلول 5 درصد (بر اساس ماده خشک) اوره، هیدروکسید سدیم و هیدروکسید کلسیم به طور معنی‌داری موجب کاهش مقدار کل ترکیبات فنلی، تانن کل و تانن قابل هیدرولیز موجود در ضایعات شاخ و برگ زرشک گردید، ولی استفاده از پلی اتیلن گلیکول تاثیر معنی داری نداشت. در مورد تانن متراکم شرایط برعکس بود و بیشترین کاهش غلظت تانن‌های متراکم در گروه محلول پاشی شده با پلی اتیلن گلیکول مشاهده شد. مقدار تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی، فراسنجه های هضم شکمبه‌ای و بازدهی تخمیر خوراک در تیمارهای آزمایشی حاوی اوره، هیدروکسید سدیم و هیدروکسید کلسیم بهبود یافت. به طور کلی استفاده از روش محلول پاشی شاخ و برگ زرشک با اوره نه تنها موجب کاهش غلظت ترکیبات فنلی و تانن‌ها گردید، بلکه اثرات مثبتی نیز بر فعالیت میکروبی شکمه داشت. بنابراین در مقایسه با پلی اتیلن گلیکول، هیدروکسید سدیم و هیدروکسید کلسیم استفاده از محلول پاشی با اوره در کاهش ترکیبات فنلی و بهبود بازدهی تخمیر موثرتر بود. هرچند که مطالعات بیشتری در خصوص تعیین بهترین درصد افزودن اوره و یا استفاده از سایر ترکیباتی که قادر به ایجاد پیوند با تانن‌ها هستند ضروری به نظر می‌رسد.

منابع

1- Abbasluo,A ., R. tahmasbi., A. dayyani. 2013. The effect of sulfur-containing urea on digestibility, blood parameters and ruminal fermentation in goat Raeini. Iranian Journal of animal science research, 5(2):172-164.
2- Behruozyar. H., K. Rezayazdi., M. Dehghanbanadaki. 2011. Effect of sowing forage processing on digestibility, degradability, rumen and blood metabolites of Holstein cows. Iranian Journal of animal science research, 21(1):89-103.
3- Dourandish, A., R. kohansall., N. Shahnooshi., M. Hosseinzadeh. 2012. Examine the technical efficiency of barberry in South Khorasan Province. Journal of Agricultural Economics, 6(2):101-120.
4- Dehghan. M., R. Tahmasbi., A. Dayani., A. Khazary. 2011. Characterization of physical, chemical and digestibility of some agricultural by-products. Iranian Journal of animal science research, 3(4):412-421.
5- Sepehrimanesh, M., S.L. Pourbagheri. H. Rjaeyan., H. Dadrass., A. Razegheyan. 2011. The effect of the addition of the roots of barberry Arbor Acers broiler poultry feed as growth promoters. Journal of Medicinal Plants, 2(9):51-58.
6- Fallahi. J., Rezvanii. P,. Nasiri mahallati. M., 2010. Effects of harvesting the fruit of Berberis vulgaris quantitative and qualitative indicators. Journal of agricultural research, 8(2):225-234.
7- Mokhtarpoor. A., A. Naserian., F. Poormollaie. 2012. Determine the chemical composition of phenolic and gas production in vitro leaves of some plants contain tannins. Animal Science Congress 5' of Iran: 259-264.
8- Velayati. A,. B. Emadi., M. Khojaste., M.H. Saeedi. 2011. The effect of moisture on the mechanical properties and speed the fruit of Berberis. Journal of Agricultural Machinery, 1(9):99-100.
9- AminiPour, H. 2011. Effects of tannins in ruminant: A Review. J. American Sci. 7: 715-720.
10- AOAC, 1997: Official Methods of Analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD.
11- Barry, T. N., and S. J. Duncan. 1984. The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep. 1: Voluntary intake. British Journal of Nutrition, 51: 485-491.
12- Besharati, M., and A. Taghizadeh. 2011. Effect of tannin-binding agents (Polyethylene glycol and Polyvinylpyrrolidone) supplementation on in vitro gas production kinetics of some grape yield byproducts. ISRN Veterinary Science,1(8): 155-162.
13- Bhatta, R., A. K. Shinde, S. Vaithiyanathan, S. K. Sankhyan, D. L. Verma. 2002. Effect of polyethylene glycol-6000 on nutrient intake, digestion and growth of kids browsing Prosopis cineraria. Animal Feed Science and Technology, 101: 45–54.

14- Chaudhry, A. S. 2000. Rumen degradation in sacco in sheep of wheat straw treated with calcium oxide, sodium hydroxide and sodium hydroxide plus hydrogen peroxide. Animal Feed Science and Technology, 83: 313-323.
15- Dias, A. M., L. C. VinhasÍtavo, J. C. Damasceno, G. T. Santos, C. C. B. Ferreira Ítavo, F. F. Silva, E. Nogueira, C. M. Soares. 2011. Sugar cane treated with calcium hydroxide in diet for cattle: intake, digestibility of nutrients and ingestive behavior, Revista Brasileira de Zootecnia, 40: 1799-1806.
16- Haslam, E. 1989. Plant polyphenols-vegetable tannins revisited. Cambridge university press, Cambridge, U.K.
17- Hill, G. M., P. R. Utley, and G. L. Newton. 1986. Digestibility and utilization of ammonia-treated and urea-supplemented peanut skin diets fed to cattle. Journal of Animal Science, 63:705-714.
18- Jahani-Azizabadi, H., M. DaneshMesgaran, A.R. Vakili, K. Rezayazdi, M. Hashemi. 2011. Effect of various medicinal plant essential oils obtained from semi-arid climate on rumen fermentation characteristics of a high forage diet using in vitro batch culture. African Journal of Microbiology Research, 5: 4812-4819.
19- Jansman, A. J. M. 1993. Tannins in feedstuff for simple-stomached animals. Nutrition Research. 6: 209–239.
20- Krebs, G. L., D. M. Howard, and K. Dods. 2007. The effects of feeding acacia saligna on feed intake, nitrogen balance and rumen metabolism in sheep. Asian- Australasian Journal of Animal Science, 20:1367-1373.
21- Lapierre, H., and G. E. Lobley. 2001. Nitrogen recycling in the ruminant: A Review. Journal of Dairy Science, 84: E223-E236.
22- Makkar, H. P. S. 2003. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. Small Ruminant Research, 49: 241–256.
23- Makkar, H. P. S., K. Becker, J. Vercauteren, C. Cheze, M. C. Dumon, J. F. Weber. 1996. A bioassay for polyphenols (tannins). Proceedings of polyphenols communications, 18: 197-198.
24- Makkar, H. P. S., M. Blummel, K. Becker. 1995. Formation of complexes between polyvinyl pyrrolidones or polyethylene glycols and tannins, and their implication in gas production and true digestibility in in vitro techniques. British, Journal of Nutrition, 73: 897–913.
25- Makkar, H. P. S., M. Blümmel, N. K. Borowy, K. Becker. 1993. Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. Journal of Science Food and Agriculture, 61: 161–165.
26- Martinez, C. J., H. H. Sanchez, G. A. Manilla, N. R. Quintos, J. M. Herrera, G. D. Ortiz. 2001. Effect of aqueous and alkaline thermal treatments on chemical composition and oligosaccharide, alkaloid and tannin contents of Lupinuscampestris seeds. Journal of Science Food and Agriculture, 81: 421–428.
27- Mehrez, A. Z., and E. R. Orskov. 1977. A study of the artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. Journal of Agriculture Science, 88: 645–650.
28- Menke, K. H., and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. Journal of Animal Research Development, 28: 7-55.
29- Menke, K. H., L. Raab, A. Salewski, H. Steingass, D. Fritz, W. Shneider. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor. Journal of Agriculture Science, Cambridge. 97: 217-222.
30- National Research Council – NRC, 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle, 7th ed. National Academy Press, Washington, DC. 381.
31- Orskov, E. R., and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. Journal of Agriculture Science, 92: 499-503.
32- Ozkose, E. R., U. Kuloglu, B. Comlekcioglu, I. Kar, and M. S. Ekinci. 2011. Effects of tannic acid on the fibrolytic enzyme activity and survival of some ruminal bacteria. International Journal of Agriculture Biology, 11: 386–390.
33- Porter, L.J., L.N. Hrstich, B.G. Chan. 1986. The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. Phytochemistry, 25: 223–230.
34- Rao, U. P., and B. Belavady. 1978. Oligosaccharides in pulses: variety differences and effects of cooking and germination. J. *Agri.Food Chem.* 26: 316–319.
35- Reed, J. 1995. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. Journal of Animal Science, 73: 1516-1528.
36- Rubanza, C. D. K., M. N. Shem, R. Otsyina, S. S. Bakengesa, T. Ichinohe, T. Fujihara. 2005. Polyphenolics and tannins effect on in vitro digestibility of selected Acacia species leaves. Animal Feed Science and Technology, 119: 129–142.
37- Salehpor, S., B. Rasouli, and A. A. Ghotbi. 2012. Influence of calcium hydroxide chemical, multi-enzyme and lactobacillus biologic processing on nutritional value and digestibility of rice straw by using nylon-bags. Current Research Journal Biological Science, 4: 477-481.
38- SAS, Sas User's Guide: Statistics, Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, USA, 1999.
39- Valizadeh, R., A. A. Naserian, and P.Vahmani. 2009. Influence of drying and ensiling pistachio by-products with urea and molasses on their chemical composition, tannin content and rumen degradability parameters.

Journal Animal Veterinary Advances, 8: 2363-2368.
40- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74: 3583-3597.
41- Wina, E., B. Tangendjaja, I. W. R. Susana. 2005. Effects of chopping, and soaking in water, hydrochloric acidic and calcium hydroxide solutions on the nutritional value of Acacia villosa for goats. Animal Feed Science and Technology, 122: 79–92.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 8, No. 2, Summer 2016, p. 227-237

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 8، شماره 2، تابستان 1395، ص. 237-227

Evaluation of Nutritive Value, Phenolic Compounds and in vitro Digestion Charactristics of Barberry (*Berberis Vulgaris*) Foliage

J. Modaresi[1]*- R. Valizadeh[2]- M. H. Fathinasari[3]- A. Heravi Mousavi[2]- M. Danesh Mesgaran[2]- F. Khosravi[4]

Received: 20-08-2013
Accepted: 17-03-2015

Introduction This study was intended to evaluate the nutritional value, phenolic compounds and digestibility coefficients of barberry leaves. Berberis vulgaris is one of the major crops in the province. The province has more than 70 percent and 95 percent of the total area under cultivation of barberry. Waste and foliage of barberry harvest traditionally used to feed livestock Tannin concentration greater than 3 to 4 percent in food, can have negative effects on digestibility in ruminants and in particular to reduce the absorption of dietary protein. So it can be expected that high amounts of tannins within waste foliage of barberry reduce its efficiency in ruminants to be fed. Several studies have shown that the addition of certain compounds such as urea, polyethylene Due to the high volume of barberry foliage that remains after harvesting and the possibility of its use in animal nutrition, this study tried to determine some nutrient compounds, phenolic compounds and degradation parameters were barberry leaves. In addition, in this study to determine the best additives are effective in reducing the concentration of tannins and phenolic compounds, urea, polyethylene glycol, sodium hydroxide and calcium hydroxide were compared.

Materials and method As the samples were dried by the sun for 6 days. The amount of 5% by weight (dry matter basis) urea, polyethylene glycol, sodium hydroxide or calcium hydroxide that was prepared with distilled water, was sprayed on 5 kg of the sample and thoroughly mixed. Each of the treatments were prepared in triplicate. Treatments include: 1) control (foliage without additives), 2) foliage with 5% solution of urea, 3) foliage with 5% polyethylene glycol, 4) foliage with 5% sodium hydroxide, 5) with 5% calcium hydroxide was foliage. The sample were kept in anaerobic plastic containers for 3 days and then opened and dried at room temperature. Samples were analyzed for crude protein, neutral detergent fiber, acid detergent fiber, ether extract, total phenolic compounds, total tannins, condensed tannins, hydrolysable tannins and some mineral content (Na, Cl, Ca, K and P). The *in vitro* gas production method was used for estimation the DM fermentation parameters.

Results and Discussion The chemical composition of foliage barberry is almost the same with the few studies conducted in this regard. Minor differences between the results of this study and the other results showed that the colleagues can be due to differences in climate and environmental conditions and physiological characteristics of the plant's genetics. The results showed that addition of urea, Sodium hydroxide and Calcium hydroxide led to a significant reduction of total phenolic compounds, total tannins and hydrolysable tannins compared with the control sample. The *in vitro* gas production and fermentative parameters were improved flowing urea, sodium hydroxide and calcium hydroxide treatment. The results showed that treatment with urea was more effective in reduction of tannins and improvement the fermentative parameters of branches and leaves of Barberry compared to other treatments.

Conclusion Based on our results and high levels of phenolic compounds in the waste foliage barberry sprayed with a solution of 5% (based on dry matter) of urea, sodium hydroxide and calcium hydroxide significantly reduced the amount of total phenolic compounds, tannins and hydrolysable tannin in the leaves of Berber is *vulgaris* lesions, but polyethylene glycol had no significant effect. On the contrary condensed tannin conditions and the maximum reduction in the concentration of condensed tannins were observed in the group had been sprayed with polyethylene glycol. The amount of gas produced in laboratory conditions, parameters of rumen fermentation and feed efficiency in experimental treatments with urea, sodium hydroxide and calcium hydroxide recovered.

Key word: Tannins, *In vitro* gas production, Branches and leaves of Barberry, Fermentative parameter.

1- PhD student of ruminant nutrition, Animal Science Department of Ferdowsi University of Mashhad,
2- Faculty of Animal Sciences Ferdowsi University of Mashhad,
3- Faculty of Animal Sciences University of Birjand,
4- Master of Birjand university graduates.
(*Corresponding Author Email: jalalmodaresi@gmail.com)