نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران، جلد۲، شماره ۱، ص ۶۹-۸۰ سال ۱۳۸۹

تعیین ترکیب شیمیایی، تولید گاز و قابلیت هضم فرآورده فرعی پسته در شرایط آزمایشگاه

عطیه بهلولی*[۱]، عباسعلی ناصریان[۲]، رضا ولی زاده[۳] و فریدون افتخار شاهرودی[٤]

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۰/۲۸ تاریخ پذیرش: ۸۸/۵/۲۷

چکیده

به منظور تعیین ترکیب شیمیایی و مقایسه کیفی فرآورده فرعی حاصل از پوست گیری پسته و تأثیر تانن پوسته پسته بر قابلیت هضم و تولید گاز آن، چهار آزمایش انجام شد. در آزمایش اول ترکیب مواد مغذی، ترکیبات فنولی و تانن فرآورده فرعی ارقام پسته اوحدی، کله قوچی و سفید مورد مقایسه قرار گرفتند. پوسته نرم خارجی پسته بخش اصلی این فرآورده را تشکیل داد. رقم اوحدی به ترتیب حاوی ۹، ۱۴، ۸/۷، ۲۵/۵، ۲۰/۴، ۸/۶ و ۴/۱ درصد خاکستر، پروتئین خام، عصاره اتری، فیبر نامحلول در شوینده خنثی (NDF)، فیبر نامحلول در شوینده اسیدی (ADF)، ترکیبات فنولی و تانن بود. رقم کله قوچی پروتئین کمتری از ارقام اوحدی و سفید داشت و واریته سفید کمترین مقدار تانن را در بین ارقام نشان داد. در آزمایش دوم، نسبت ناپدید شدن شکمبه‌ای اجزای مختلف فرآورده فرعی پسته اوحدی شامل پوسته نرم، ساقه، برگ، پوسته چوبی و مغز تا ۲۴ ساعت انکوباسیون به ترتیب ۰/۷۷، ۰/۶۰، ۰/۶۶، ۰/۲۲ و ۰/۹۲ ماده خشک بودند؛ همچنین نسبت بخش محلول این اجزاء به ترتیب ۰/۵۲، ۰/۳۷، ۰/۳۶، ۰/۰۵ و ۰/۷۷ ماده خشک به دست آمد. آزمایش سوم شامل اندازه گیری قابلیت هضم آزمایشگاهی ماده خشک و ماده آلی ارقام مختلف فرآورده فرعی پسته بود. قابلیت هضم ماده خشک رقم اوحدی، کله قوچی و سفید به ترتیب ۵۸، ۶۸، و ۶۴ درصد بود که با هم تفاوت معنی دار داشتند (P<۰/۰۱)، در حالیکه بین قابلیت هضم پوسته نرم خارجی آنها تفاوتی وجود نداشت. با افزودن پلی اتیلن گلیکول، قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی مخلوط پوسته خارجی پسته + کنجاله سویا و پوسته خارجی پسته + یونجه به طور معنی داری افزایش یافتند (P<۰/۰۵). در آزمایش چهارم، افزودن پلی اتیلن گلیکول به محیط انکوباسیون موجب افزایش معنی دار تولید گاز از پوسته نرم خارجی پسته شد (P<۰/۰۵). به طور کلی، به نظر می‌رسد این فرآورده از نرخ کند تجزیه در شکمبه برخوردار باشد، زیرا با وجود اینکه مقدار بخش محلول در آب این خوراک در این آزمایش بیش از ۵۰ درصد ماده خشک بود، تنها حدود ۲۰ درصد این فرآورده در اثر انکوباسیون شکمبه‌ای تا ۲۴ ساعت ناپدید شد. از طرفی، به نظر می‌رسد درصد اجزای تشکیل دهنده این فرآورده و حضور مواد ضد تغذیه‌ای چون تانن در این فرآورده بر فراهمی مواد مغذی آن مؤثر باشند.

واژه‌های کلیدی: فرآورده فرعی پسته، قابلیت هضم، تانن، پلی اتیلن گلیکول، تولید گاز

مقدمه

مطابق آمار سازمان غذا و کشاورزی سازمان ملل (FAO) در سال ۳-۲۰۰۲، ایران با ۳۰۰ هزار تن (۵۳ درصد تولید جهان)، عمده ترین تولید کننده پسته در جهان است و به دنبال آن ایالات متحده آمریکا (۲۴ درصد)، سپس سوریه، ترکیه، و چین می‌باشند (۱۱). مهمترین پسته‌های صادراتی ایران، اوحدی، اکبری، کله قوچی و فندقی می‌باشند (۲۱). این ارقام علاوه بر تفاوتهای مورفولوژیکی، به لحاظ ترکیب مواد مغذی و حساسیت به آلودگیهای قارچی نیز متفاوت‌اند (۵ و ۲۱) که به نظر می‌رسد به علت تفاوت در غلظت برخی مواد ضد قارچی موجود در عصارهٔ گیاه مثل ساپونین، فلاونوئیدها و مقادیر بالای تانن باشد (۱).

۱- دانشجوی دکتری گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد
*- نویسنده مسئول: Email: at-bohluli@yahoo.com
۲ و ۳ – اعضاء هیأت علمی گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

هنگام فرآیند پوست‌گیری پسته در کارخانجات پوست گیری پسته، فرآورده جانبی آن عمدتاً شامل پوسته نرم خارجی[1] پسته (بیش از ۶۰ درصد)، ساقه، برگ و به میزان کمتر مغز و پوسته چوبی ، نیز حاصل می‌شوند (۴). بنابراین ساختار و ترکیب شیمیایی پوسته نرم خارجی پسته به عنوان جزء اصلی این فرآورده اهمیت بیشتری دارد و گاهی به این فرآورده پوسته پسته نیز اطلاق می‌شود. ماهونی و همکاران (۱۵) تانن‌های قابل هیدرولیز با ساختمان اسید کوئینیک استریفیه شده با اسید گالیک را در پوسته پسته یافتند که از تولید آفلاتوکسین توسط قارچ ممانعت می‌کند. لاباویچ و همکاران (۱۴)، به بررسی ترکیبات مغذی موجود در پوستهٔ پسته پرداختند و آن را با پوستهٔ بادام که از خوراک‌های خوشخوراک دامی است، مقایسه کردند. نتایج آنها نشان داد که این دو نوع پوسته (بادام و پسته) از لحاظ محتوای چربی و پروتئین با هم مشابه‌اند، اما در مقابل، مقدار قندهای محلول که مؤید ارزش غذایی پوسته‌ها هستند، در پوستهٔ بادام ۶ تا ۷ برابر بیشتر است. ساختار فیبری این دو پوسته نسبتاً مشابه است. پوستهٔ بادام به علت دارا بودن ترکیبات فنولی حداکثر تا ۲۵ درصد جیره می‌تواند به کار رود، در حالیکه محتوای تانن پوسته پسته ۵ تا ۷ برابر بادام است و این مسأله مصرف آن را در خوراک حیوانات با تردید مواجه می‌کند، زیرا ترکیبات فنولی می‌توانند بر میکروب‌های شکمبه مؤثر باشند.

تولیدات دامی در مناطق خشک ایران، به علت کمبود خوراک با کیفیت مطلوب به ویژه در دوره‌های حیاتی سال محدود شده است. و از طرفی سالانه مقادیر قابل توجهی پوسته پسته به صورت فرآورده فرعی در مناطق پسته خیز کشور تولید می‌شود (۲۴). بنابر آمار غیر رسمی(۴) و نتایج اندازه گیری و محاسبات نگارنده حدود ۵۷ تا ۶۶ درصد محصول پسته برداشت شده از باغات پسته، فرآورده فرعی است که به صورت خشک تولید می‌شود. به این ترتیب اگر میانگین تولید کشور حداقل ۳۰۰ هزار تن در سال در نظر گرفته شود، حداقل ۱۵۰ هزار تن به صورت مادهٔ خشک و ۴۵۰ هزار تن به صورت مرطوب و آماده برای سیلو کردن از این فرآورده در دسترس خواهد بود. با توجه به تحقیقات محدودی که بر روی فرآورده‌های فرعی پسته انجام گرفته است، انجام برخی آزمایشات آزمایشگاهی (*in vitro*) بر روی ارقام و اجزای مختلف این فرآورده ضروری به نظر می‌رسد. هدف از این آزمایش تعیین ترکیب مواد مغذی و ترکیبات فنولی و تانن ارقام مختلف فرآورده فرعی پسته و مقایسه قابلیت هضم آزمایشگاهی آنها، ناپدید شدن شکمبه‌ای اجزای مختلف فرآورده فرعی پسته اوحدی و اثر افزودن پلی اتیلن گلیکول بر تولید گاز پوسته پسته بود.

مواد و روش‌ها

به منظور انجام آزمایش، نمونه گیری از فرآورده فرعی پسته (ارقام اوحدی، کله قوچی و پسته سفید) از کارخانه پوست گیری پسته مزرعه توس داشت واقع در شهرستان فیض آباد استان خراسان رضوی در شهریور ماه ۱۳۸۴ انجام شد. نمونه‌ها بلافاصله در محوطه بتنی کارخانه به‌صورت یک لایه نازک در برابر نور مستقیم آفتاب به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند. اجزای مختلف نمونه‌ها جداسازی شده و درصد اجزاء موجود و ترکیبات شیمیایی آنها تعیین گردید. نمونه‌های جمع آوری شده ابتدا با آسیاب دارای الک یک میلی متری پودر شده و سپس ماده خشک، پروتئین خام (روش کجلدال)، چربی خام (روش سوکسله) و خاکستر آنها مطابق با توصیه‌های AOAC (۱۹۹۰) تعیین شد. میزان ADF و NDF نمونه‌ها با استفاده از روش ونسوست و همکاران (۲۹) و مقدار کل ترکیبات فنولی و تانن فرآورده

1 - Hull

فرعی پسته توسط روش رنگ سنجی با استفاده از معرف فولین شیکالتو اندازه گیری شدند (۱۷).

برای اندازه گیری تجزیه پذیری ماده خشک به روش *in situ* از ۳ رأس گوساله هلشتاین با فیستولای شکمبه‌ای استفاده شد. قبل از انجام آزمایش، نمونه‌ها در دمای ۶۰ $^{\circ}C$ به مدت ۴۸ ساعت خشک و با آسیاب دارای قطر الک ۲ میلی متری آسیاب شدند. مقدار ۵ گرم ماده خشک، در داخل کیسه‌های نایلونی از جنس ابریشم مصنوعی[1] با ابعاد (۱۲×۱۷ cm) قرار داده شد و سپس انتهای کیسه‌ها با نخ ابریشمی بسته شد. وزن کیسه خالی و وزن کیسه حاوی نمونه اندازه گیری و یادداشت شد. از هر نمونه در هر زمان ۳ تکرار تهیه شد. کیسه‌ها قبل از خوراک دادن وعده صبح (ساعت ۸ صبح)، از طریق فیستولا، شکمبه گذاری شدند. پس از سپری شدن زمان‌های تعیین شده، کیسه‌ها از شکمبه خارج و سریعاً بوسیله آب سرد، کاملاً شسته شدند تا آب زلال از آنها خارج شود. کیسه‌های شسته شده به مدت ۴۸ ساعت در آون در دمای ۶۵ درجه قرار گرفتند تا کاملاً خشک شوند و سپس توزین شدند. در مورد زمان صفر، کیسه‌ها تنها در آب شسته شده و سپس به آون منتقل شدند.

اندازه گیری قابلیت هضم آزمایشگاهی فرآورده فرعی پسته به روش دو مرحله‌ای بر اساس روش تلی و تری (۲۷) انجام شد. همچنین در این آزمایش تأثیر خوراک حاوی تانن (پوسته نرم اوحدی با ۹/۶ و ۴/۵ درصد ترکیبات فنولی و تانن) بر هضم کنجاله سویا با قابلیت هضم آزمایشگاهی ماده خشک ۸۹ درصد به عنوان منبع پروتئینی (۴۷ درصد پروتئین خام و ۱۹ درصد NDF) و یونجه با قابلیت هضم آزمایشگاهی ماده خشک ۷۱ درصد به عنوان منبع کربوهیدرات ساختمانی (۳۴ درصد NDF و ۱۸ درصد پروتئین خام) بررسی شد. به منظور بررسی اثر تانن بر هضم خوراک از پلی اتیلن گلیکول با وزن مولکولی ۶۰۰۰ (PEG 6000) به عنوان عامل باند شونده با تانن به میزان ۵ درصد در ماده خشک (متناسب با مقدار تانن موجود در خوراک) استفاده شد. اختلاف میزان هضم در تیمار حاوی پلی اتیلن گلیکول و بدون آن بیانگر اثرات منفی تانن بر هضم خوراک می‌باشد (۱۶). آنالیز داده‌ها با استفاده از رویه GLM برنامه آماری SAS ویرایش ۸/۰۲ در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. به منظور مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد خطا استفاده شد.

اندازه گیری مقدار تولید گاز پوسته پسته در آزمایشگاه با استفاده از سرنگ‌های ۱۰۰ میلی لیتری شیشه‌ای حاوی بزاق مصنوعی (مطابق با روش منک و استینگاس (۲۰) و مایع شکمبه صاف شده به نسبت ۲:۱ (حدود ۳۰ ml) و حدود ۵۰۰ میلی گرم نمونه مورد آزمایش (از هر نمونه ۳ تکرار) انجام شد. مایع شکمبه در هر دو آزمایش از دو رأس گوسفند نر بلوچی با فیستولای شکمبه‌ای ، قبل از خوراک صبحگاهی به‌دست آمد. همچنین ۳ تکرار به عنوان بلانک برای تصحیح گاز تولیدی توسط ذرات باقیمانده در مایع شکمبه در نظر گرفته شد. سر سرنگ‌ها با استفاده از تیوب‌های پلاستیکی محکم بسته شده و سرنگ‌ها در دمای ۳۸ $^{\circ}C$ حمام بن ماری قرار گرفتند. با ثبت حجم محتویات سرنگ در زمان‌های مختلف، مقدار گاز تولیدی در هر زمان به دست آمد. سپس توسط داده‌های مربوط به تولید تجمعی گاز بر حسب زمان، بر اساس برازش رابطه بهینه سازی شده $P=b(1-e^{-ct})$ با استفاده از نرم افزار فرترن[2]، مقدار تولید گاز (b) و نرخ تولید گاز در زمان (c) به دست آمد و شکل

1 - Nylon bag

2 - Fortran Power Station, version 4.0

نمودار آن با استفاده از نرم افزار Excel رسم گردید (شکل ۱).

جدول ۱. درصد اجزای مختلف فرآورده فرعی برخی از ارقام پسته [1]

	اوحدی	کله قوچی	سفید	SEM
پوسته نرم رویی	۵۳/۵	۸۰/۵	۸۱/۰	۱۵/۷
ساقه	۲۷/۷	۱۴/۸	۱۰/۵	۸/۹۵
برگ	۹/۵	۳/۲	۲/۷	۳/۷۸
پوسته چوبی	۵/۳	۱/۲	۳/۳	۲/۰۵
مغز	۴/۰	۰/۳	۲/۵	۱/۸۶

۱- نمونه‌ها از شرکت توس داشت فیض آباد مشهد تهیه شدند.

نتایج و بحث

اندازه گیری ترکیب فیزیکی و شیمیایی: درصد اجزای تشکیل دهنده فرآورده فرعی پسته در این آزمایش بین سه رقم اوحدی، کله قوچی، و سفید مقادیر متفاوتی نشان دادند (جدول ۱). پوسته نرم رویی به عنوان جزء غالب، ۵۳ تا ۸۱ درصد این فرآورده را تشکیل داد و بیشترین درصد اختلافات در این بخش مشاهده شد. ساقه خوشه پسته که به عنوان یک جزء خشبی و بد خوراک به شمار می‌رود، از نظر کمی پس از پوسته نرم بوده و حدود ۱۰ تا ۳۰ درصد محصول فرعی پسته را تشکیل داد. برگ معمولا مقادیری کمتر از ۱۰ درصد داشت. پوسته چوبی و مغز مقادیر کمتر از ۵ و تا حداکثر ۵ درصد را نشان دادند. فروغ عامری (۴) درصد اجزای مختلف این فرآورده را به این صورت گزارش کرد: ۶۴/۵ درصد پوسته نرم خارجی، ۲۵ درصد ساقه، ۱۰ درصد برگ و ۰/۵ درصد مغز و پوسته چوبی. با توجه با این نتایج می‌توان گفت که پوسته نرم خارجی پسته به عنوان جزء غالب این فرآورده از نظر کمی و کیفی اهمیت بیشتری در آنالیز ترکیبات شیمیایی کل فرآورده دارد.

جدول۲. ترکیب مواد مغذی موجود در ارقام و اجزای مختلف فرآورده‌های فرعی پسته[1](بر حسب درصد)

	پروتئین خام	چربی خام	NDF	ADF	NFC[2]	خاکستر	کل مواد فنولی محلول	تانن
کل فرآورده فرعی پسته اوحدی	۱۴/۲	۸/۷	۲۵/۵	۲۰/۵	۴۲/۵	۹/۱	۸/۶	۴/۱
پوسته نرم رویی	۱۶/۶	۵/۷	۲۵	۲۰	۴۰	۱۲/۷	۹/۶	۴/۵
ساقه	۱۲/۱	۷/۱	۳۹	ND[3]	۳۶/۲	۵/۶	۱۰/۰	۴/۸
برگ	۱۲/۴	۳/۸	۳۱	ND	۴۳/۶	۹/۲	۱۳/۹	۶/۹
مغز	۲۴/۵	۴۸/۰	ND	ND	۲۴/۷	۲/۸	۱/۲	۰/۳
پوسته چوبی	۱/۶	۰/۳	۹۱	ND	۶/۲	۰/۹	۱/۵	۰/۵
کل فرآورده فرعی کله قوچی	۹/۴	۷/۸	۲۴	ND	۴۵/۸	۱۳/۰	۹/۵	۴/۶
پوسته نرم رویی	۹/۲	۷/۸	۲۲	ND	۴۶/۲	۱۴/۸	۹/۱	۴/۴
کل فرآورده فرعی پسته سفید	۱۶/۶	۷/۰	۲۷	ND	۳۷/۳	۱۲/۱	۷/۶	۳/۴
پوسته نرم رویی	۱۷/۷	۵/۷	۲۴	ND	۳۸/۴	۱۴/۲	۷/۵	۳/۲

۱– نمونه‌ها از شرکت توس داشت فیض آباد مشهد تهیه شدند. ۲- (پروتئین خام + چربی خام + خاکستر + NDF) – ۱۰۰ = NFC ۳ تعیین نشده است.

از آنجایی که این اجزا می‌توانند مقادیر متنوعی را به خود اختصاص دهند، اندازه گیری ترکیبات شیمیایی هر یک از آنها ضروری به نظر می‌رسد. در جدول ۲ درصد ترکیبات مغذی این فرآورده‌ها و نیز مقادیر ترکیبات فنولی و تانن آنها به عنوان فاکتور ضد تغذیه‌ای نشان داده شده است. در ارقام کله قوچی و سفید تنها ترکیبات شیمیایی پوسته نرم رویی به عنوان جزء قالب آنها اندازه گیری شد. اندازه گیری ترکیب شیمیایی این فرآورده‌ها نشان داد که بخش پوسته نرم رویی می‌تواند حاوی مقادیر قابل توجهی خاکستر باشد (۱۲ تا ۱۴ درصد ماده خشک). مغز پسته با ۴۸ و پوسته چوبی با ۰/۳ درصد ماده خشک بالاترین و کمترین مقدار چربی خام را نشان دادند. پوسته نرم خارجی در رقم اوحدی و سفید ۵/۷ اما در رقم کله قوچی بیش از ۷ درصد چربی در ماده خشک داشت. پروتئین خام نیز در مغز پسته بالاترین مقدار و در پوسته چوبی آن کمترین مقدار بود. مقادیر پروتئین خام کل فرآورده و پوسته نرم خارجی در پسته کله قوچی کمتر از پسته اوحدی و سفید و حدود ۶۰ درصد آنها بود. بخش NDF در کل فرآورده فرعی پسته و پوسته نرم رویی آنها مقادیر حدود ۲۵ درصد را نشان داد. این بخش در پوسته چوبی ۹۱ و در ساقه مقدار ۳۹ درصد را نشان داد. البته اهمیت ساقه به لحاظ کمی بیشتر بوده و بیش از ۲ برابر پوسته چوبی در افزایش کل محتوای فیبر فرآورده نقش داشت.

به طور کلی، ساقه بخش خشبی و غیر خوشخوراک این فرآورده فرعی را تشکیل می‌دهد (۶). مغز پسته با ترکیب عالی مواد مغذی چربی و پروتئین و سرشار از اسیدهای چرب ضروری (۲۱) می‌تواند عامل مؤثری در بهبود ارزش خوراکی این محصول باشد. درصد چربی خام بالا در رقم اوحدی مورد آزمایش در این تحقیق به نظر می‌رسد به علت حضور درصد بالای مغز در آن باشد، زیرا در آزمایشات گذشته درصد چربی این محصول در مقادیری حدود نصف این مقدار به دست آمده بود (۴، ۶ و ۱۴). سطح چربی خام در پوسته نرم خارجی رقم کله قوچی بالاتر از سایر ارقام بود. در فرآورده فرعی پسته سفید نیز احتمالاً حضور ۲/۵ درصد مغز سبب افزایش درصد چربی خام شده است. به طور کلی مقدار مغز در این فرآورده از نظر کمی ناچیز است و بیشتر به کیفیت دستگاه‌های پوسته کنی پسته و بخشی هم به رقم پسته (درجه خندانی پسته) مربوط می‌شود. طبق آمار شرکت توس داشت، درصد مغز در این فرآورده معمولا بین ۰/۵ تا ۱/۵ درصد می‌باشد و بیش از این مقدار برای این گونه کارخانه‌ها توجیه اقتصادی ندارد. بنابراین سطح بالای مغز پسته در فرآورده فرعی پسته اوحدی مورد آزمایش در این تحقیق احتمالاً می‌تواند در اثر نحوه کارکرد دستگاه‌های پوسته گیری پسته در روزهای نمونه گیری باشد. پروتئین این فرآورده در ارقام اوحدی و سفید در حد مطلوبی بوده و آزمایشات انجام شده در ایران (۲۴) مقادیر بالاتری پروتئین و هم عصاره اتری را در این فرآورده نسبت به نتایج لاباویچ و همکاران (۱۴) نشان داده اند. مقدار NDF و ADF موجود در واریته‌های مختلف این فرآورده به ترتیب حدود ۲۵ و ۲۰ درصد بود، درحالی‌که وهمنی (۶) مقدار NDF این فرآورده را ۳۴/۵ درصد گزارش کرد. میزان ترکیبات فنولی محصولات فرعی پسته در این آزمایش ۷/۵ تا ۹/۵ درصد و تانن آنها ۳/۵ تا ۴/۵ درصد بین ارقام مختلف این فرآورده فرعی متغیر بود. برگ در مقایسه با سایر اجزای این فرآورده از بالاترین درصد ترکیبات فنولی و تانن برخوردار بود. ساقه و پوسته نرم خارجی نیز پس از برگ حاوی مقادیر بالای این ترکیبات بودند. محتوای تانن همچنین در پسته سفید کمتر از اوحدی و کله قوچی بود. مغز و پوسته چوبی محتوای فنولی

ناچیزی داشتند. مقادیر به دست آمده با نتایج آزمایشات وهمنی (۶) و لاباویچ و همکاران (۱۴) مطابقت دارد. اما سید مومن (۳) مقادیر کل مواد فنولی و تانن موجود در پوسته پسته را به ترتیب ۱۵/۶ و ۱۰/۱ درصد گزارش کرده است. همچنین گلی و همکاران (۱۲)، ۳/۵ درصد ترکیبات فنولی را در پوسته رویی پسته یافتند. تمام این نتایج بر اساس روش رنگ سنجی با استفاده از معرف فولین-شیکالتو انجام گرفته است. تفاوت در نسبت اجزاء تشکیل دهنده، رقم مورد استفاده، شرایط آب و هوایی و اقلیم محل رویش، روش اندازه گیری و روش آماده سازی نمونه، می‌تواند در اختلاف نتایج تحقیقات مختلف در مورد مقدار ترکیبات فنولی و تانن فرآورده فرعی پسته نقش داشته باشد. علاوه بر این، روش رنگ سنجی دارای اشکالات متعددی است و دقیقاً بیانگر اثرات فیزیولوژیکی تانن نمی باشد. امروزه روش‌های رسوب دهی پروتئین و سنجش بیوزیستی تانن توصیه می‌شود (۱۶).

اندازه گیری ناپدید شدن شکمبه‌ای اجزای مختلف فرآورده فرعی پسته: مقدار ناپدید شدن اجزای مختلف فرآورده فرعی پسته اوحدی در زمان‌های ۱۲ و ۲۴ ساعت و مقدار مواد محلول در آب آنها در زمان صفر در جدول۳ نشان داده شده است. بالاترین مقدار ناپدید شدن در همه زمان‌ها در مغز پسته مشاهده شد. ۷۶ درصد این بخش در زمان صفر محلول بوده و تا ۲۴ ساعت ۹۲ درصد آن در شکمبه ناپدید شد. پوسته خارجی پسته پس از مغز از مقدار ناپدید شدن بالاتری نسبت به سایر اجزا برخوردار بود. ساقه‌ها نسبت به برگ‌ها کمتر تخمیر شدند و پوسته چوبی در زمان صفر ۵ درصد و تا زمان ۲۴ ساعت تنها ۲۲ درصد آن ناپدید شد. کل محصول فرعی پسته در زمان صفر، ۱۲ و۲۴ ساعت به ترتیب ۵۰، ۶۵ و ۶۹ درصد ناپدید شد. به طور کلی با وجود مقادیر بالای مواد محلول در آب این مواد خوراکی میزان تجزیه مواد نامحلول آنها در شکمبه در طول ۲۴ ساعت به جز پوسته چوبی در بقیه کمتر از زمان صفر بود. اگرچه بخش پوسته چوبی کمترین مقدار ناپدید شدن را نشان داد، اما در بین اجزای اصلی این فرآورده، بخش پدانکل یا ساقه پتانسیل تجزیه پذیری کمتری نسبت به برگ و پوسته خارجی نشان داد. نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که پتانسیل تجزیه و قابلیت هضم این چنین فرآورده‌های فرعی کاملاً وابسته به اجزای تشکیل دهنده آنها بوده و تفسیر تجزیه پذیری این گونه خوراک‌ها باید بر مبنای خصوصیات اجزای تشکیل دهنده آنها صورت پذیرد. میزان مواد محلول این فرآورده نسبتاً بالا بوده و بیش از ۵۰ در صد کل فرآورده و نیز بخش اپی کارپ یا پوسته پسته در زمان صفر ناپدید شدند.

جدول ۳. مقدار ناپدید شدن ماده خشک اجزای فرآورده فرعی پسته اوحدی در شکمبه

مورد	زمان انکوباسیون(ساعت)		
	صفر	۱۲	۲۴
کل فرآورده فرعی پسته	۰/۵۰۶±۰/۰۴	۰/۶۵۳±۰/۰۹	۰/۶۹۸±۰/۰۵
پوسته نرم روئی	۰/۵۱۹±۰/۰۰	۰/۶۹۹±۰/۰۹	۰/۷۷۳±۰/۰۴
خوشه	۰/۳۷۲±۰/۰۱	۰/۵۳۴±۰/۱۰	۰/۵۹۸±۰/۰۵
برگ	۰/۳۶±۰/۰۰	۰/۶۲۶±۰/۲۱	۰/۶۵۹±۰/۱۲
پوسته چوبی	۰/۰۵۰±۰/۰۰	۰/۱۰۳±۰/۰۲	۰/۲۲۱±۰/۰۴
مغز	۰/۷۶۹±۰/۰۰	۰/۸۶۴±۰/۰۹	۰/۹۲۱±۰/۰۷

جدول۴. قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی ارقام مختلف و فرآورده فرعی پسته به روش دو مرحله‌ای در آزمایشگاه و اثر افزودن پلی اتیلن گلیکول (PEG6000) بر هضم خوراک‌های حاوی تانن

درصد	فرآورده فرعی پسته			خطای استاندارد	P
	اوحدی	کله قوچی	سفید		
قابلیت هضم ماده خشک	۵۶^{c}	۶۳/۷^{a}	۶۱^{b}	۰/۳۵	**
قابلیت هضم ماده آلی	۵۸/۰^{c}	۶۸/۴^{a}	۶۴/۱^{b}	۰/۳۹	**
	پوسته نرم روئی				
	اوحدی	کله قوچی	سفید		
قابلیت هضم ماده خشک	۶۳/۵	۶۷/۰	۶۶/۰	۰/۶۰	NS
قابلیت هضم ماده آلی	۶۷/۴	۷۱/۹	۷۰/۹	۰/۷۱	NS
	کنجاله سویا+ پوسته نرم پسته اوحدی				
	کنجاله سویا	بدون تیمار	٪۵ PEG		
قابلیت هضم ماده خشک	۸۹/۰	۷۸/۷^{b}	۸۲/۰^{a}	۰/۴۳	*
قابلیت هضم ماده آلی	۸۹/۷	۸۲/۴^{b}	۸۵/۸^{a}	۰/۴۷	*
	یونجه + پوسته نرم پسته اوحدی				
	یونجه	بدون تیمار	٪۵ PEG		
قابلیت هضم ماده خشک	۷۱/۰	۶۸/۰^{b}	۷۰/۷^{a}	۰/۲۶	**
قابلیت هضم ماده آلی	۷۰/۱	۷۰/۲^{b}	۷۴/۷^{a}	۰/۳۷	**

a,b,c- حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند (P< ۰/۰۵) یا (P< ۰/۰۱).

جدول۵. تأثیر پلی اتیلن گلیکول بر تولید گاز و آمونیاک توسط پوسته نرم خارجی پسته اوحدی در محیط انکوباسیون شکمبه ای

مورد	پوسته نرم پسته	پوسته نرم پسته+PEG	SEM	P<F
کل تولید گاز (میلیلیتر برگرم ماده خشک)	۵۰/۰ ^{b}	۸۱/۳ ^{a}	۰/۱۱	*
نرخ تولید گاز[۱] (میلیلیتر در ساعت به ازائ ۱گرم ماده خشک)	۰/۰۰۹۹ ^{b}	۰/۰۱۵۷ ^{a}	۰/۱۸	*
فاز تاخیر[۲] (ساعت)	۱۱	۱۱	-	-
غلظت آمونیاک (میلی گرم بر دسی لیتر)	۲۳/۰۵ ^{b}	۴۳/ ۴^{a}	۰/۳۱	*

a,b - حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند (P< ۰/۰۵) یا (P< ۰/۰۱).

۱- محاسبه از طریق نرم افزار فرترن ، ۲- محاسبه از طریق میانگین داده‌ها

اندازه گیری قابلیت هضم آزمایشگاهی: نتایج اندازه‌گیری قابلیت هضم فرآورده فرعی پسته به روش دو مرحله‌ای در جدول ۴ آمده اند. رقم کله قوچی با محتوای بالاتر تانن و کمتر پروتئین و چربی خام ، قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی بالاتری را نسبت به سایر ارقام نشان داد (P<۰/۰۱)، از طرفی بین قابلیت هضم ماده آلی و ماده خشک پوسته خارجی ارقام اوحدی، کله قوچی و سفید تفاوت معنی داری مشاهده نشد. بنابراین به نظر می‌رسد قابلیت هضم فرآورده فرعی پسته بیشتر تحت تأثیر درصد اجزای تشکیل دهنده و ماهیت ذاتی ترکیبات تشکیل دهنده آن قرار گرفته باشد تا محتوای تانن آن. همچنین طبق تحقیقات انجام شده، اثر تانن منحصراً به مقدار آن در یک خوراک بستگی ندارد. واکنش پذیری تانن در شکمبه بیشترین اهمیت را در استفاده از خوراک‌های غنی از تانن دارد که بستگی به ماهیت تانن (ساختمان، نوع و وزن مولکولی تانن) ، نوع ترکیبات خوراک و بر همکنش مواد

مغذی و غیر مغذی و عوامل دیگر نیز دارد (۳۰). ون هون (۲۸) پیشنهاد کرد پایین بودن قابلیت هضم پروتئین برگ درختان به علت وجود تانن است. این محقق نشان داد با افزایش محتوای تانن از ۴ به ۱۵ درصد، میزان قابلیت هضم ماده خشک برگ درختان در شرایط آزمایشگاه از ۷۳ به ۴۲ در صد کاهش یافت؛ همچنین اضافه‌کردن تانن متراکم و قابل هیدرولیز به‌طور خالص به علوفه یونجه باعث کاهش ناپدید شدن ماده خشک به طور خطی شد، ولی از نظر کمی اثر تانن متراکم محسوس‌تر بود.

قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی خوراک حاوی ۵۰ درصد کنجاله سویا + ۵۰ درصد پوسته رویی پسته اوحدی با افزودن عامل باند شونده به طور معنی داری افزایش یافت ($P<۰/۰۵$)؛ اما این اثر بر خوراک ۵۰ درصد یونجه + ۵۰ درصد پوسته رویی پسته اوحدی چشمگیر تر بود ($P<۰/۰۱$). آزمایشات متعددی کاهش قابلیت هضم پروتئین در اثر مصرف خوراک‌های حاوی تانن (۹) و بهبود آن را با استفاده از تیمار پلی اتیلن گلیکول (۲) نشان داده اند. قابلیت هضم فیبر نیز می‌تواند به طور مؤثری تحت تأثیر تانن موجود در خوراک کاهش یابد. تانن‌ها ممکن است قابلیت هضم دیوارهٔ سلولی را با باند کردن آنزیم‌های باکتریایی و یا تشکیل کمپلکس‌های غیر قابل هضم با کربوهیدرات‌های دیوارهٔ سلولی کاهش دهند؛ از طرفی پتانسیل تجزیه دیوارهٔ سلولی در شکمبه و به دنبال آن رهاسازی محتوای سلولی بستگی دارد به موقعیتهای اتصال، کلونی شدن و فعالیت آنزیمی اکوسیستم میکروبی شکمبه که تانن متراکم همهٔ این فاکتورها را تحت تأثیر قرار می‌دهد و به دنبال آن تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای بخش‌های مختلف خوراک را تغییر می‌دهد(۱۳) و به همین علت روش‌های تانن زدایی (۱۶) راه مهمی در بهبود شرایط تغذیه‌ای این خوراک‌هاست. در آزمایش تاوندال و همکاران (۲۶)، گزارش شد که حضور تانن متراکم سبب کاهش هضم فیبر شده و به طور غیر مستقیم سبب کاهش تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی شده و افزودن پلی اتیلن گلیکول موجب حذف بخشی از این اثرات گردید.

اثر پلی اتیلن گلیکول بر تولید گاز پوسته نرم خارجی پسته اوحدی: افزودن ۱۰ درصد پلی اتیلن گلیکول به پوسته خارجی پسته اوحدی برای باند شدن با تانن موجود درآن، موجب افزایش معنی دار در تولید گاز شد ($P< ۰/۰۵$). این آزمایش در حقیقت سنجش بیوزیستی تانن این ماده خوراکی را نشان می‌دهد (۱۶). تولید گاز توسط این خوراک همچنین دارای فاز تأخیر(l) بوده و از معادله ارسکو-مکدونالد ($P = b(1-e^{-c\,(t-l)})$) پیروی کرد:

پوسته خارجی پسته: $P_a = 66\,(1 - e^{-0.01\,(t - 11)})$

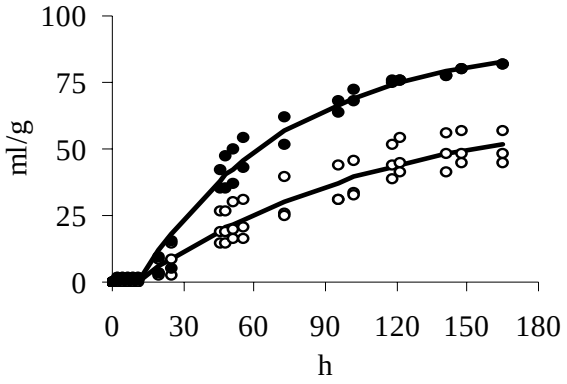
پوسته خارجی پسته + PEG[1]: $P_b = 91\,(1 - e^{-0.016\,(t - 11)})$

سون سون و همکاران (۲۵) تولیدات تخمیری منابع فیبری با منشأ گیاهی و میوه‌ها را در ساعات مختلف بر روی محیط کشت مدفوع سگ بررسی کرد. در این آزمایش تفالهٔ انگور و پوستهٔ پسته در مقایسه با تفالهٔ سیب و گوجه‌فرنگی بسیار ضعیف تخمیر شدند و تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر در آنها بسیار پایین بود. ناپدید شدن مادهٔ آلی در پوستهٔ پسته ۹/۳ درصد در طول ۲۴ ساعت بود، درحالی‌که برای بذر کتان ۵۱/۷٪ گزارش شد. وی تولید گاز کمتر و تخمیر کند بخش فیبری پوسته پسته را به حضور لیگنین، تانن متراکم یا ممانعت پروتئینی نسبت داد. واگهورن و همکاران (۳۰) گزارش کردند علوفه‌های تغذیه شده به گوسفند و گاو حاوی تانن متراکم، نسبت به علوفه‌های مشابه بدون تانن، منجر به کاهش تولید گاز متان به ازاء هر واحد مصرف ماده خشک یا ماده خشک قابل هضم شدند. افزودن

1 - Poly ethylene glycol

(PEG) به همین خوراکها سبب افزایش تولید گاز از ۱۱/۵ به ۱۳/۸g در کیلوگرم مصرف مادهٔ خشک شد (۳۱). تاوندال و همکاران (۲۶) نشان دادند که افزودن پلی اتیلن گلیکول به گیاه لوتوس حاوی ۱۰ درصد تانن متراکم سبب افزایش ۱۷ درصد تولید متان اما در حضور عامل ممانعت کننده تولید متان (BES)[1] سبب افزایش ۷۰ درصد در H_2، بدون افزایش در تولید متان در مدت ۱۲ h انکوباسیون شد. لازم به ذکر است که PEG روی نرخ و تولید متان و به طور کلی بر متانوژنز هیچ اثری ندارد (۲۶). این محققین در این آزمایش گزارش کردند که سهم تولید اسیدهای چرب فرار به ویژه ۳ کربنه‌ها، در حضور PEG افزایش یافت و بنابراین تانن متراکم هم بر متانوژنز و هم تخمیر ممانعت کننده بوده است. همچنین نشان دادند که تانن متراکم اثر خود را بر تولید متان با کاهش هضم فیبر و کاهش تولید H_2 به طور غیر مستقیم و بخش دیگر این اثر را از طریق اثر مستقیم آن بر باکتری‌های متانوژن می‌گذارد. اثر تانن متراکم روی برخی باکتری‌های متانوژن مثل سویه YLM1 باکتری *Methanobrevibacter ruminantium* متوقف کننده رشد بود، در حالی‌که بر سویه DSM1093 همین باکتری اثر کشندگی داشت. آنها همچنین برای اولین بار نشان دادند که بخش پلیمری تانن متراکم بر روی این باکتری‌ها اثر کشنده دارد، در حالی‌که بخش‌های الیگومری اثری بر حیات آنها نداشتند.

همان طور که در جدول ۵ و شکل ۱ نشان داده شده است، پوسته خارجی پسته در محیط انکوباسیون با تأخیری حدود ۱۱ ساعت تخمیر شد. اداناوان و همکاران (۲۲) در آزمایشات خود بر روی دو نوع سویه باکتری مقاوم به تانن (*S. bovis*) وحساس به تانن (*S. gallolyticus*) نشان دادند که حضور تانن از هر دو نوع متراکم و قابل هیدرولیز آن می‌تواند سبب افزایش فاز تأخیر رشد میکروبی و کاهش نرخ رشد میکروبی بسته به نوع باکتری و غلظت و نوع تانن از ۲ تا ۲۴ ساعت شود. اما باکتری‌هایی که قبلاً به این غلظت‌های تانن عادت کرده بودند، زمان عادت پذیری و فاز تأخیر میکروبی کمتری نشان دادند. زمان عادت پذیری، بخشی صرف ایجاد تغییرات متابولیکی در مولکول تانن و بخشی صرف تولید لایه‌های محافظتی اطراف سلول باکتری شد.



شکل ۱. تولید گاز توسط پوسته پسته (نقاط توخالی) و پوسته پسته + PEG (نقاط تو پر)

از آنجایی که بخش اصلی گازهای شکمبه را متان که عمدتاً حاصل تجزیه کربوهیدرات‌های ساختمانی است تشکیل داده و نسبت آن به کل گازهای تولیدی ثابت می‌باشد، بنابراین مقدار و نرخ تولید گاز می‌تواند بیانگر مقدار و نرخ تجزیه کربوهیدرات‌ها به ویژه کربوهیدرات‌های ساختمانی باشد (۲۶). بنتو و همکاران (۱۰) طی آزمایشات متعددی نشان دادند که افزودن تانن یا پکتین توزیع مواد مغذی را در جهت بازدهی بالاتر تولید پروتئین میکروبی، اما کاهش تولید گاز، تغییر داد. با این حال سنتز خالص پروتئین میکروبی با افزودن تانن و تانن+پکتین به علت محدودیت در رشد میکروبی کاهش

1 - 2-bromo-ethylsulfonic acid

یافت (۹). افزایش در بازدهی سنتز پروتئین میکروبی می‌تواند به علت کاهش دسترسی پروتئین برای دآمیناسیون یا ورود به سلول‌های میکروبی و یا ممانعت از رشد باکتریهای پروتئولیتیک باشد (۱۹). همچنین حضور تانن ممکن است با افزایش فعالیت گلوتامات ـ آمونیاک لیگاز (آنزیم تحلیل برندهٔ آمونیاک) همراه باشد، زیرا تانن‌ها احتمالاً ساختمان سوم این آنزیم را تغییر داده و سبب افزایش مکانهای فعال روی آن می‌شوند (۱۸) .

بهبود نسبی در غلظت آمونیاک در اثر افزودن پلی اتیلن گلیکول می‌تواند به دنبال شکسته شدن کمپلکس‌های پروتئین-تانن و افزایش فرآیند پروتئولیز باشد (۹). در این آزمایش افزودن PEG در پوسته پسته توانست تولید گاز و افزایش تراکم آمونیاک را تا مقادیر قابل توجهی به صورت معنی دار افزایش دهد، بنابراین به نظر می رسد تانن پوسته پسته بر کاهش تجزیه و تخمیر میکروبی بخش‌های کربن دار و نیتروژن دار خوراک مؤثر باشد.

نتیجه گیری

اندازه گیری ترکیبات مغذی و تانن فرآورده فرعی پسته قبل از مصرف آن در خوراک دام به دلیل تفاوت ترکیبات شیمیایی موجود در بین نمونه‌های ارقام مختلف و نتایج آزمایشاتی که تا کنون انجام شده، ضروری است. همچنین به نظر می‌رسد حضور تانن در فرآورده فرعی پسته سبب کاهش قابلیت هضم و تجزیه پذیری آن در شرایط آزمایشگاهی شده است. به طور کلی فرآورده فرعی پسته حاوی سطوح نسبتاً بالای چربی و میانی پروتئین نسبت به علوفه‌های خوراکی به شمار می‌رود. این خوراک به لحاظ کمیت و نوع کربوهیدرات‌های ساختمانی نیاز به بررسی‌های بیشتر دارد، زیرا بیش از ۸۰ درصد بخش NDF آن را ADF که عمدتاً شامل لیگنین و سلولز است تشکیل می‌دهد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از همکاری و مساعدت مسئولین محترم شرکت توس داشت در تهیه فرآورده فرعی پسته، تشکر و قدردانی می گردد.

منابع

۱. اکرمی، ط. ۱۳۷۰. بررسی اثر ضد قارچی عصاره پسته بر روی درماتوفیت‌ها در *in vivo*. پایان نامه دکتری داروسازی . دانشگاه علوم پزشکی تهران.

۲. انگجی، ل. ۱۳۸۴. ارزیابی ارزش تغذیه‌ای پوش کشمش فرآیند شده با پلی اتیلن گلیکول و اوره در جیره گوسفند سنجانی به روش *in vivo* و *in vitro*.

۳. سیدمومن، س. م. ۱۳۸۲. مطالعه اثرات سطوح مختلف بقایای پوست گیری پسته و تانن موجود در آن بر رشد بدن و تولید کرک بز کرکی رائینی. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم دامی. دانشگاه آزاد اسلامی کرج.

۴. فروغ عامری، ن. ۱۳۷۶. تعیین ارزش غذایی و قابلیت هضم پوسته نرم رویی پسته به‌صورت خشک و سیلو شده. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم دامی. دانشگاه صنعتی اصفهان.

۵. محمدی مقدم، م. ۱۳۷۸. ارزیابی حساسایت ارقام پسته به قارچ آسپرژیلوس فلاووس آفلاتوکسین زا و بررسی میزان تولید

آفلاتوکسین B1. پایان نامه کارشناسی ارشد گیاهپزشکی. دانشگاه تربیت مدرس تهران.

۶. وهمنی، پ. ۱۳۸۴. ترکیب شیمیایی، تجزیه پذیری و ناپدید شدن شکمبه‌ای - روده‌ای محصولات فرعی پسته و استفاده از آن در جیره گاوهای شیرده هلشتاین در اواسط شیردهی. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم دامی. دانشگاه فردوسی مشهد.

7. Association of Official Analytical Chemists. 1990. Official methods of analysis. 15th ed. AOAC Inc., Arlington, VA.
8. Barahona R., C. E. Lascano, R. Cochran, J. Morrill, and E. C. Titgemeyer. 1997. Intake, digestion, and nitrogen utilization by sheep fed tropical legumes with contrasting tannin concentration and astringency. J. Anim. Sci. 75:1633–1640.
9. Barry, T. N., T. R. Manley, and S. J. Duncan. 1986. The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep. 4. Sites of carbohydrate and protein digestion as influenced by dietary reactive tannin concentration. Br. J. Nutr. 55: 123–137.
10. Bento M. H. L., H. P. S. Makkar, and T. Acamovic. 2005. Effect of mimosa tannin and pectin on microbial protein synthesis and gas production during *in vitro* fermentation of ^{15}N-labelled maize shoots. Anim. Feed Sci. Technol.123: 365–377.
11. FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available at website: http://www.faostat.fao.org.
12. Goli A. H., M. Barzegar, and M. A. Sahari. 2005. Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. Food Chem. 92: 521-25.
13. Guimaraes-Beelen P. M., T. T. Berchielli, R. Beelen, and A. N. Medeiros. 2006. Influence of condensed tannins from Brazilian semi-arid legumes on ruminal degradability, microbial colonization and ruminal enzymatic activity in Saanen goats. Small Rumin. Res. 61: 35–44.
14. Labavitch J. M., C. M. Heintz, H. L. Rae and A. A. Kader. 1982. Physiological and compositional changes associated with maturation of 'Kerman' pistachio. J. Am. Soe. Hort. Sci. 107(4): 688-692 .
15. Mahoney, N. E., R. J. Molyneux, B. C. Campbell, and J. H. Kim. 2004. Walnut and pistachio hydrolysable tannins: comparison of chemical structures and aflatoxin inhibiting properties. Aflatoxin Workshop. Agric. Res. Services. Available at website: http://www.ars.usda.gov/research/publications/publications.htm?SEQ_NO_115=172648
16. 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 Rumin. Res. 49: 241–256.
17. Makkar, H. P. S. and B. Singh. 1992. Effect of wood ash on tannin content of oak (*Quercus incana*) leaves. Bioresour. Technol. 41: 85–86.
18. Makkar, H. P. S., B. Singh, and R. K. Dawra. 1988. Effect of tannin-rich leaves of oak (*Quercus incana*) on various microbial enzyme activities of the bovine rumen. Br. J. Nutr. 60: 287–296.
19. McMahon, L. R., W. Majak, T. A. McAllister, J. W. Hall, G. A. Jones, J. D. Popp, and K. J. Cheng. 1999. Effect of sainfoin on *in vitro* digestion of fresh alfalfa and bloat in steers. Can. J. Anim. Sci. 79: 203–212.
20. 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. Anim. Res. Development. 28: 7-55
21. Mohammadi, N. 2005. Region specific fatty acid analysis of Iranian pistachio oils (*Pistasia vera L.*, ANACARDIACEAE). IV International Symposium on Pistachio and Almond, ISHS, Tehran, Iran. 159-160.
22. O'Donovan L., and J. D. Brooker. 2001. Effect of hydrolysable and condensed tannins on growth, morphology and metabolism of *Streptococcus gallolyticus* (S. caprinus) and *Streptococcus bovis*.

Microbiol. 147: 1025–1033.

23. SAS. 2002. SAS User's Guide. SAS Institute Inc. Version 8.02. Cary, NC, USA.
24. Salarmoini M. and H. Fooladi. 2005. Tannin content and nutritional quality of pistachio hull for ruminants. IV International Symposium on Pistachio and Almond, ISHS, Tehran, Iran. 160.
25. Swanson K. S., C. M. Grieshop, G. M. Clapper, R. G. Shields, J. T. Belay, N. R. Merchen, and G. C. Fahey. 2001. Fruit and vegetable fiber fermentation by gut microflora from canines. J. Anim. Sci. 79: 919–926.
26. Tavendale M. H., L. P. Meagher, D. Pacheco, N. Walker, G. T. Attwood, and S. Sivakumaran. 2005. Methane production from *in vitro* rumen incubations with *Lotus pedunculatus* and *Medicago sativa*, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. Anim. Feed Sci. Technol. 123–124: 403–419.
27. Tilley J. M. A. and R. A. Terry. 1963. A two-stage for the *in vitro* digestion of forage crops. Br. Grassland Social. J. 104-111.
28. Van Hoven, W. 1984. Tannins and digestibility in greater kudu. Can. J. Anim. Sci. 64: 177-178.
29. Van Soest, P. J. 1967. Development of a comprehensive system of feed analysis and its application to forage. J. Anim. Sci. 26: 119.
30. Waghorn, G. C., and I.. D. Shelton. 1997. Effect of condensed tannins in *Lotus corniculatus* on the nutritive value of pasture for sheep. J. Agric. Sci. (Camb.) 128: 365–372.
31. Waghorn, G. C., M. H. Tavendale, and D. R. Woodfield. 2002. Methanogenesis from forages fed to sheep. Proc. N. Z. Grasslands Assoc. 64: 167–171.