انجمن علوم دامی ایران
Iranian Society of Animal Science

دانشگاه تبریز

ششمین کنگره علوم دامی ایران

دانشگاه تبریز-پنجم و ششم شهریورماه ۱۳۹۳

The 6th Iranian Congress on Animal Science

The University of Tabriz-August 27-28, 2014

بدین وسیله گواهی می شود:

سرکار خانم مرضیه قدمی کوهستانی

و همکاران رضاولی زاده، عباسعلی ناصریان، سیدهادی ابراهیمی، وحیده حیدریان میری

در " ششمین کنگره علوم دامی ایران " در تاریخ پنجم و ششم شهریورماه ۱۳۹۳ در دانشگاه تبریز شرکت و مقاله خود را تحت عنوان:

" اثر مهار تولید متان بر تجمع گازهای قابل احتراق (CH_4+H_2) و بازیابی انرژی در بیوگاز خشک و دانه جو به عنوان بستر در شرایط برون تنی " به صورت سخنرانی ارائه نموده است.

دکتر حسین دقیق کیا
دبیر اجرائی ششمین کنگره علوم دامی ایران

دانشگاه تبریز
ششمین کنگره علوم دامی ایران
دانشگاه تبریز
۵ و ۶ شهریور ۱۳۹۳

دکتر اکبر نفی زاده
دبیر علمی کنگره

اثر مهار تولید متان بر تجمع گازهای قابل احتراق ($CH_4 + H_2$) و بازیابی انرژی در یونجه خشک و دانه جو به عنوان سوبسترا در شرایط برون تنی

مرضیه قدمی کوهستانی[۱]*، رضا ولی‌زاده[۱]، عباسعلی ناصریان[۱]، سید هادی ابراهیمی[۱]، وحیده حیدریان میری[۲]

گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، خراسان رضوی

مرکز تحقیقات بیوگاز، مجتمع صنعتی گوشت مشهد، مشهد، خراسان رضوی

*ma.ghadami@stu-mail.um.ac.ir

چکیده

اثر دو مهارکننده متان، شامل ۲- بروموواتان سولفونات (BES) و کلروفرم ($CHCl_3$) بر کاهش اتلاف انرژی قابل هضم به صورت گازهای قابل احتراق (متان + هیدروژن) در شرایط برون‌تنی با استفاده از طرح بلوک کامل تصادفی بررسی شد. تیمارها شامل ۱. شاهد (بدون افزودنی)، ۲. تیمار حاوی BES (۲/۵ میلی‌مولار)، و ۳. تیمار حاوی کلروفرم (۰/۲۵ میلی‌مولار) بود و از یونجه خشک و دانه جو به عنوان سوبسترا استفاده شد. مهار متانوژن‌ها با هر دو مهارکننده تولید گازهای قابل احتراق یونجه را در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری کاهش داد (P <۰/۰۰۱)؛ اما اثر مثبتی بر کاهش دفع گازهای قابل احتراق در دانه جو نداشت. استفاده از مهارکننده‌های متان اثر معنی‌داری بر تولید کل اسیدهای چرب فرار در یونجه نداشت؛ اما منجر به کاهش معنی‌دار تولید اسیدهای چرب فرار در دانه جو شد (P <۰/۰۰۱). مهارکننده‌ها در هر دو سوبسترا نسبت مولی استات را کاهش و نسبت مولی پروپیونات را افزایش دادند (P <۰/۰۰۱). نتایج این مطالعه نشان داد مهار متانوژن‌ها انرژی قابل متابولیسم را تنها زمانی که یونجه (علوفه) به عنوان سوبسترا استفاده شد بهبود داد. اگر چه بررسی‌های بیشتری با استفاده از انواع دیگر علوفه‌ها و دانه‌های غلات به ویژه تحت شرایط درون تنی باید برای تایید این فرضیه انجام شود.

کلمات کلیدی: اتلاف انرژی – اسید چرب فرار- برون تنی- گاز قابل احتراق- مهارکننده متان

مقدمه

تولید متان یکی از مسیرهای مهم اتلاف انرژی در نشخوارکنندگان است و تا ۱۲ درصد از انرژی خام جیره را از دسترس دام خارج می‌کند (۵). از این رو، مهار فعالیت متانوژن‌ها همواره به عنوان یکی از راهکارهای بهبود انرژی قابل متابولیسم مطرح بوده است. با این حال، در بسیاری از مطالعات مهار مستقیم متانوژن‌ها اثری در بهبود راندمان استفاده از انرژی نداشته است (۳) و برخی موارد نیز با وجود مهار کامل تولید متان، انرژی قابل متابولیسم کاهش یافته است (۲). مهار متانوژن‌ها توازن طبیعی میان تولید و مصرف هیدروژن در شکمبه را مختل می‌کند (٤، ۹). در این شرایط، ظرفیت میکروارگانیسم‌های شکمبه در هدایت هیدروژن مصرف نشده در تولید متان به سمت محصولات مفید برای دام کلید بهبود انرژی قابل متابولیسم است و اگر هدایت هیدروژن به خوبی انجام نشود، مهار فعالیت آنزیم هیدروژناز، کاهش آزادسازی انرژی از سوبسترای بالقوه قابل هضم و اتلاف انرژی به صورت گاز هیدروژن می‌تواند منجر به کاهش انرژی قابل متابولیسم شود. در این راستا، ماهیت سوبسترا و سرعت تخمیر آن به دلیل تاثیر بر نرخ آزادسازی هیدروژن در شکمبه ممکن است یکی از عوامل موثر در توانایی میکروارگانیسم‌های شکمبه در استفاده کامل از هیدروژن در زمان مهار متانوژن‌ها باشد. از این رو، این مطالعه با هدف بررسی سودمندی مهار متان با استفاده از مهارکننده‌های شیمیایی (BES و کلروفرم) در کاهش

اتلاف انرژی قابل هضم به صورت گازهای قابل احتراق (هیدروژن + متان) و بهبود تولید اسیدهای چرب فرار در دو نوع سوبسترا با قابلیت تخمیر متفاوت (دانه جو و علوفه خشک یونجه) در شرایط برون‌تنی انجام شد.

مواد و روش‌ها

محتویات شکمبه از ۵ راس گاو تغذیه شده با علوفه مرتعی، بلافاصله پس از کشتار اخذ، و به ترتیب با استفاده از پارچه تنظیف دو لایه و پارچه نایلونی دو لایه (قطر منافذ ۵۰ میکرون) صاف شد. مایع شکمبه صاف شده در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد و تحت جریان گاز دی اکسید کربن با بافر منک و استینگاس (۷) با نسبت ۱ به ۲ مخلوط شد. سوبسترای مورد استفاده ٦۰۰ میلی‌گرم علوفه یونجه یا ٦۰۰ میلی‌گرم دانه جو (خشک شده در ٦۰ درجه سانتی‌گراد و آسیاب شده با اندازه ذرات یک میلی‌متر) بود. تیمارها شامل شاهد (بدون مهارکننده)، تیمار حاوی BES (۲/۵ میلی‌مولار) و تیمار حاوی کلروفرم (۰/۲۵ میلی‌مولار) بود. انکوباسیون در بطری‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری متصل به سیستم جمع‌آوری گاز تحت فشار اتمسفر انجام شد. گاز تولید شده طی تخمیر با ایجاد فشار مثبت در بطری‌ها وارد ستون‌های مدرج محتوی آب نمک اشباع شده و با استفاده از تکنیک جا به جایی مایع خارج از محل اصلی تخمیر تجمع پیدا می‌کرد. حجم گاز در ۲، ٤، ٦، ۸ و ۲٤ ساعت پس از انکوباسیون ثبت شد. اندازه‌گیری غلظت گازهای قابل احتراق با تزریق ٤ میلی‌لیتر از نمونه گاز جمع‌آوری شده در دستگاه آنالیز گاز GMAS 1702 (رادپایا، ایران) انجام شد. انکوباسیون در ۲٤ ساعت متوقف شد. اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار با استفاده از دستگاه گازکروماتوگرافی (Varian, CP-3800, USA) مجهز به شناساگر FID انجام شد و سوبسترای باقیمانده در بطری‌ها جهت تعیین قابلیت هضم آزمایشگاهی ماده خشک مورد استفاده قرار گرفت. آزمایش در ۳ روز مختلف تکرار شد و داده‌های به دست آمده با استفاده از رویه Mixed نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۲) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی آنالیز شد. روز آزمایش به عنوان بلوک مورد استفاده قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی انجام شد.

نتایج و بحث

مهار متانوژن‌ها تولید گازهای قابل احتراق (متان+هیدروژن) را در یونجه بیش از ٦٦ درصد کاهش داد (P<۰/۰۰۱، جدول ۱)؛ اما مقدار دفع گازهای قابل احتراق در دانه جو تحت تاثیر هیچ یک از مهارکننده‌ها قرار نگرفت (جدول ۲). با توجه به مهار بیش از ۹۸ درصد تولید متان توسط هر دو مهارکننده (داده‌ها نشان داده نشده است)، عدم کاهش دفع گازهای قابل احتراق در جو، نشان‌دهنده‌ی دفع هیدروژن به جای متان بود. اگر چه هدف استفاده از مهارکننده‌ها کاهش اتلاف انرژی به شکل متان و بهبود تولید اسیدهای چرب فرار به عنوان محصولات مفید برای دام بود، اما دستیابی به این نتیجه تنها در یونجه و با ثابت ماندن مقدار تولید کل اسیدهای چرب فرار و افزایش نسبت مولی پروپیونات (P<۰/۰۰۱) به دست آمد. در دانه جو به دلیل اثر منفی شدید مهارکننده بر تولید استات (P<۰/۰۰۱)، افزایش نسبت مولی پروپیونات نتوانست کاهش تولید استات را جبران کرده و مانع از کاهش تولید کل اسیدهای چرب فرار در زمان مهار فعالیت متانوژن‌ها شود. تفاوت در رفتار جو و یونجه احتمالا به دلیل تفاوت در سرعت تخمیر آن‌ها بود. سوبستراهای با سرعت تخمیر بالا مانند دانه غلات در مقایسه با سوبستراهای با سرعت تخمیر پایین مانند علوفه‌ها مقدار هیدروژن بالاتری در واحد زمان تولید می‌کنند (۱). نتایج به دست آمده نشان داد تولید و تجمع هیدروژن در دانه جو در زمان مهار متانوژن‌ها، بالاتر از ظرفیت میکروارگانیسم‌ها در استفاده از هیدروژن بوده است؛ لذا هیدروژن تجمع یافته به دلیل حلالیت پایین در مایع، وارد فاز گازی شده و از دسترس میکروب‌ها خارج شده است. با این حال، مقدار هیدروژن دفع شده با محاسبات استوکیومتری (تجمع ٤ مول هیدروژن به ازای هر مول متان تولید نشده) مطابقت نداشت که این امر می‌تواند به دلیل اثر تجمع هیدروژن بر ترمودینامیک فرآیند تخمیر و تغییر مسیر واکنش‌ها به سمت تولید هیدروژن کمتر باشد. نتایج این آزمایش نشان داد سودمندی مهار مستقیم متانوژن‌ها در

بهبود انرژی قابل متابولیسم به نوع سوبسترا بستگی دارد و بر خلاف سوبسترای علوفه‌ای، مهار کامل متانوژن‌ها در سوبسترای غنی از نشاسته اثر منفی بر راندمان استفاده از انرژی قابل هضم خواهد داشت.

جدول ۱- اثر مهارکننده‌های شیمیایی بر تولید گاز، قابلیت هضم آزمایشگاهی و تولید اسیدهای چرب فرار یونجه خشک

مورد	تیمار			SEM	احتمال معنی‌داری
	شاهد	BES	کلروفرم		
تولید گاز					
(میلی‌لیتر/ ٢٤ ساعت)	۹۲/۸۰ a	۵۰/۵۳b	۵٦/٦۳b	۲/۸۲۸	<۰/۰۰۱
(میکرولیتر / میلی‌گرم ماده آلی تجزیه شده)	۲۲۸/۱۰ a	۱۲۳/۱۰b	۱۳۳/۸۰b	۷/٦٦۲	<۰/۰۱
گاز قابل احتراق (هیدروژن + متان)					
(درصد)	۲۸/۵۲ a	۱٤/۸٤b	۱۵/۰۲b	۰/۰۲٤	<۰/۰۱
(میلی‌لیتر / ٢٤ ساعت)	۲٦/٤۵ a	۷/۸۳b	۸/۹۰b	۰/۷٦۹	<۰/۰۰۱
(میکرولیتر / میلی‌گرم ماده آلی تجزیه شده)	٦۵/۳٤ a	۱۹/۰۵b	۲۱/۲۳b	۱/۸۱٤	<۰/۰۱
قابلیت هضم آزمایشگاهی ماده خشک (درصد)	۷۹/۰٦	۸۱/۲۸	۸۱/٦۵	۰/۰۰۵	۰/۰٦۵
کل اسیدهای چرب فرار (میلی‌مول / لیتر)	۹۹/۱۷	۱۰٤/۷۸	۹۸/۲۳	۱/۱۰۱	۰/۱۹٤
استات (مول / ۱۰۰ مول)	٦۵/۲۱a	٦۲/۸۹a	۵۵/٦۸b	۰/۵۸۷	<۰/۰۰۱
پروپیونات (مول / ۱۰۰ مول)	۲۹/۵۹b	۳۱/۵۱b	۳٦/۹۵a	۰/۵۳٤	<۰/۰۰۱
بوتیرات (مول / ۱۰۰ مول)	۵/۲۰b	۵/٦۰b	۷/۳٦a	۰/۱٦٦	<۰/۰۰۱

a-b در هر ردیف، میانگین‌های با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P < ۰/۰۵).

جدول ۲- اثر مهارکننده‌های شیمیایی بر تولید گاز، قابلیت هضم آزمایشگاهی و تولید اسیدهای چرب فرار دانه جو

مورد	تیمار			SEM	احتمال معنی‌داری
	شاهد	BES	کلروفرم		
تولید گاز					
(میلی‌لیتر/ ٢٤ ساعت)	۱۷۱/۵۱	۱۷۳/۲۵	۱۸۱/٦۰	٦/٤۷۹	۰/۳۳۱
(میکرولیتر / میلی‌گرم ماده آلی تجزیه شده)	۳٤۰/۹۹	۳٤۲/۲۰	۳۵۷/۱۳	۱۳/۷۷۸	۰/٤٤۷
گاز قابل احتراق (هیدروژن + متان)					
(درصد)	۲۰/۹۰	۱۹/۳۷	۲۲/٦٤	۰/۰۲۵۱	۰/۱۵۰
(میلی‌لیتر / ٢٤ ساعت)	۳۵/۸۲	۳۳/٦۳	٤۱/۲۰	۲/۷۷٦	۰/۱۵٤
(میکرولیتر / میلی‌گرم ماده آلی تجزیه شده)	۷۱/۱۹	٦٦/٤۲	۸۱/۰۳	۵/۵۰۲	۰/۱۷۸
قابلیت هضم آزمایشگاهی ماده خشک (درصد)	۹۰/۵۹	۹۱/۳۸	۹۱/۷۰	۰/۰۱۱	۰/۱۱۵
کل اسیدهای چرب فرار (میلی‌مول / لیتر)	۱٤۷/۵۳a	۱۳٤/٤۹b	۱۲۹/۰۷b	۱/۷۲۷	<۰/۰۰۱
استات (مول / ۱۰۰ مول)	٦٤/۷۰a	۵۷/۱۸b	۵۳/۸۱b	۰/۹۰۵	<۰/۰۰۱
پروپیونات (مول / ۱۰۰ مول)	۳۱/٤۷c	۳۷/٤۹b	٤۱/۳۱a	۰/٦۹۲	<۰/۰۰۱
بوتیرات (مول / ۱۰۰ مول)	۳/۸٤	۵/۳۳	٤/۸۷	۰/۳۳٦	۰/۲۱۷

a-b در هر ردیف، میانگین‌های با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (*P* < ۰/۰۵).

منابع

Fennell, D.E. and J.M. Gossett. 1998. Modeling the production of and competition for hydrogen in a dechlorinating culture. Environmental Science and Technology. 32: 2450–2460.

Garcia-Lopez, P.M., L. Kung, Jr, and J.M. Odom. 1996. *In vitro* inhibition of microbial methane production by 9,10-anthraquinone. Journal of Animal Science. 74: 2276-2284.

Goel, G., H.P.S. Makkar, and K. Becker. 2009. Inhibition of methanogens by bromo-chloromethane: Effects on microbial communities and rumen fermentation using batch and continuous fermentations. British journal of Nutrition. 101: 1484–1492.

Janssen, P.H. 2010. Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics. Animal Feed Science and Technology. 160: 1–22.

Johnson, K.A. and D.E. Johnson. 1995. Methane emissions from cattle. Journal of Animal Science. 73: 2483–2492.

Knight, T., R.S. Ronimus, D. Dey, C. Tootill, G. Naylor, P. Evans, G. Molano, A. Smith, M. Tavendale, C.S. Pinares-Patino and H. Clark. 2011. Chloroform decreases rumen methanogenesis and methanogen populations without altering rumen function in cattle. Animal Feed Science and Technology. 167: 101–112.

Menke, K.H. and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and gas production using rumen fluid. Animal Research and Development. 28: 7–55.

Mitsumori, M., T. Shinkai, A. Takenaka, O. Enishi, K. Higuchi, Y. Kobayashi, I. Nonaka, N. Asanuma, S.E. Denman, and C.S. Mcsweeney. 2012. Responses in digestion, rumen fermentation and microbial populations to inhibition of methane formation by a halogenated methane analogue. British Journal of Nutrition. 108: 482–491.

Wang, M., P.H. Janssen, X.Z. Sun, S. Muetzel, M. Tavendale, Z.L. Tan and D. Pacheco. 2013. A mathematical model to describe *in vitro* kinetics of H_2 gas accumulation. Animal Feed Science and Technology. 184: 1–16.

Effect of methanogenesis inhibitors on *in vitro* accumulation of combustible gases (CH_4 +H_2) and energy recovery of alfalfa or barely as substrate

Marzieh Ghadami Kohestani[1]*, Reza Valizadeh[1], Abbas Ali Naserian[1], Seyed Hadi Ebrahimi[1], Vahideh Heidarian Miri[2]

1, Department of Animal Science, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Khorasan Razavi

2, Biogas Research Center, Mashhad Meat Industrial Institute, Mashhad, Khorasan Razavi

* Corresponding E-mail address: ma.ghadami@stu-mail.um.ac.ir

Abstract:

Two methanogenesis inhibitors, including 2-bromoethanesulfonate (BES) and chloroform ($CHCl_3$) were studied for their ability to minimize digestible energy loss in form of combustible gases (CH_4 + H_2) using *in vitro* batch experiments with alfalfa hay and barley grain as substrates in a randomized complete block design. The treatments were consisted: 1. control (no additives), 2. BES (2.5 mM), and 3. $CHCl_3$ (0.25 mM). The inhibitors significantly (P < 0.001) reduced combustible gases production in the alfalfa hay as compared with the control however; there was no effect of the additives on combustible gases emission from barley grain. Supplementation of BES or $CHCl_3$ had also no effect on total VFA production from alfalfa hay but when barley grain was used as substrate, a significant (P < 0.001) reduction of total VFA production occurred by the presence of additives. Independent of the type of the substrate and methanogenesis inhibitors, there was a significant (P < 0.001) decrease in the molar proportion of acetate along with greater (P < 0.001) molar proportion of propionate in cultures treated with additives. Results of the present study indicated that inhibition of methanogenesis improved metabolizable energy only when alfalfa (forage) was used as substrate although more research works should be done to re-test this hypothesis using other sources of the forages and grains and particularly under the *in vivo* conditions.

KEYWORDS: energy loss - volatile fatty acid- *in vitro* - combustible gas - methane inhibitor.