انجمن علوم دامی ایران
Iranian Society of Animal Science

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 افزایش فشار و مجاورت گازهای تخمیری با میکروب های شکمبه بر تولید و ترکیب گاز و قابلیت هضم در شرایط آزمایشگاهی " به صورت پوستر ارائه نموده است.

دکتر حسین دقیق کیا

دبیر اجرائی ششمین کنگره علوم دامی ایران

دکتر اکبر تقی زاده

دبیر علمی کنگره

ششمین کنگره علوم دامی ایران

دانشگاه تبریز

۵ و ۶ شهریور ۱۳۹۳

Code: T-79 www.tavsanpub.ir

اثر افزایش فشار و مجاورت گازهای تخمیری با میکروب‌های شکمبه بر تولید و ترکیب گاز و قابلیت هضم در شرایط آزمایشگاهی

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

در این آزمایش، تاثیر حبس گاز در محفظه تخمیر بر تولید و ترکیب گاز و قابلیت هضم آزمایشگاهی سوبسترا در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۲ تیمار (آزادسازی گاز بطری‌ها به صورت متناوب و یا در پایان انکوباسیون) و ٤ تکرار مورد بررسی قرار گرفت. انکوباسیون در بطری‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری و به مدت ۲٤ ساعت انجام شد. هر بطری محتوی ٤۰۰ میلی‌گرم سوبسترا (دانه ذرت آسیاب شده) و ٦۰ میلی‌لیتر شیرابه شکمبه بافری شده بود. گاز نیمی از بطری‌ها تا ۲٤ ساعت تخلیه نشد و گاز نیمی دیگر در ساعات مشخص (۲، ٤، ٦، ۸، ۱۰ و ۲٤ ساعت پس از شروع انکوباسیون) تخلیه شد. گاز تولید شده در هر بطری در واحد جمع‌آوری گاز به صورت مجزا برای هر بطری جمع‌آوری شد. حبس ۲٤ ساعته گاز در بطری‌ها تولید گاز را ٤۸ درصد کاهش داد (P <۰/۰۰۱) و تصحیح گاز بر اساس مقدار دی اکسید کربن حل شده در فاز مایع، تنها ۸ درصد از اختلاف مشاهده شده در مقدار تولید گاز دو روش را توجیه کرد. درصد گازهای قابل احتراق با حبس طولانی گاز به طور معنی‌داری افزایش یافت؛ اما مقدار تولید آن تغییر معنی-دار نشان نداد. قابلیت هضم ماده خشک با حبس طولانی گاز ۱۳/۵ درصد کاهش یافت (P <۰/۰۰۱). فاکتور تسهیم (P <۰/۰۱) و تولید توده زنده میکروبی (P <۰/۰۰۱) نیز به طور معنی‌دار افزایش یافت. نتایج این آزمایش نشان داد اگر چه حل شدن گاز در فاز مایع تولید گاز را کاهش داد؛ اما بخش عمده کاهش مشاهده شده در تولید گاز به دلیل اثر منفی تماس طولانی گاز با میکروب‌های شکمبه و در نتیجه تغییرات ناشی از آن بر فرآیند تخمیر بود.

کلمات کلیدی: تکنیک تولید گاز – فشار گاز– قابلیت هضم – گاز قابل احتراق

مقدمه

استفاده از روش‌های برون‌تنی با برخورداری از مزایایی مانند صرف وقت، نیروی کار و هزینه کمتر، در بسیاری از مطالعات تغذیه‌ای نشخوارکنندگان جایگزین آزمایشات درون‌تنی شده است. تکنیک تولید گاز یکی از پرکاربردترین روش‌های برون‌تنی مطالعه فرآیند تخمیر شکمبه‌ای است و تاکنون مطالعات ارزشمند زیادی در زمینه تغذیه دام با استفاده از این تکنیک به انجام رسیده است. با این حال، قابلیت تعمیم نتایج حاصل از تکنیک تولید گاز به شرایط شکمبه به ویژه در زمینه مطالعه ترکیب گازهای تخمیری مطلوب نیست. تفاوت در الگوی خروج گازها از محل تخمیر ممکن است یکی از دلایل این تفاوت باشد. در شکمبه، گازهای تولید شده به دنبال انقباضات ثانویه شکمبه- نگاری و در فواصل زمانی بسیار کوتاه شکمبه را ترک می‌کنند. اما در تکنیک تولید گاز چه با قرائت مستقیم حجم گاز در سرنگ شیشه‌ای مدرج (۳) و چه با اندازه‌گیری فشار گاز تجمع یافته در بطری (٦)، گازها در مخزن تخمیر محبوس شده و در مجاورت دائمی با میکروب‌های مسئول تخمیر قرار می‌گیرند که این شرایط می‌تواند منجر به شکل‌گیری تغییراتی

غیرمنطبق با شرایط طبیعی شکمبه شود. از این رو، این آزمایش با هدف بررسی اثر حبس گاز و مجاورت طولانی آن با فاز مایع بر تولید و ترکیب گاز و همچنین قابلیت هضم آزمایشگاهی سوبسترا انجام شد.

مواد و روش‌ها

محتویات شکمبه ۵ راس گاو تغذیه شده با علوفه مرتعی بلافاصله پس از کشتار با استفاده از پارچه تنظیف ۲ لایه و سپس پارچه نایلونی دو لایه (قطر منافذ ۱۰۰ میکرون) صاف شد. شیرابه شکمبه در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد و تحت جریان گاز دی اکسید کربن با محلول بافر منک و استینگاس (۳) با نسبت حجم ۱ به ۲ مخلوط شد. انکوباسیون با افزودن ٦۰ میلی‌لیتر شیرابه شکمبه بافری شده در بطری‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری محتوی ٤۰۰ میلی‌گرم سوبسترا (دانه ذرت خشک شده در ٦۰ درجه سانتی‌گراد و آسیاب شده با اندازه ذرات یک میلی‌متر) انجام شد. بطری‌ها در حمام بن ماری و در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ ساعت انکوباسیون شدند. در طول آزمایش، گاز نیمی از بطری‌ها (٤ عدد) تا ۲٤ ساعت تخلیه نشد و در بقیه بطری‌ها (٤ عدد) در زمان‌های ۲، ٤، ٦، ۸، ۱۰ و ۲٤ پس از شروع انکوباسیون گاز بطری‌ها تخلیه شد. برای اندازه‌گیری مقدار گاز تولید شده از تکنیک جا به جایی مایع استفاده شد و در زمان مورد نظر گاز از بطری به سمت محفظه مدرج جمع‌آوری گاز انتقال داده شد. برای اندازه‌گیری محتوی گاز قابل احتراق، ٤ میلی‌لیتر از نمونه گاز در دستگاه آنالیز گاز GMAS 1702 (رادپایا، ایران) تزریق شد. تصحیح تولید گاز بر اساس مقدار گاز حل شده در مایع با استفاده از قانون هنری انجام شد (٤). قابلیت هضم آزمایشگاهی ماده خشک با اندازه‌گیری مقدار سوبسترای تجزیه نشده در بطری‌ها تعیین شد. فاکتور تسهیم و تولید توده زنده میکروبی با روش بلومل و همکاران (۱) محاسبه شد. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از رویه GLM نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/ ۲ و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد.

نتایج و بحث

حبس ۲٤ ساعته گاز در بطری‌ها، تولید گاز را ٤۸ درصد کاهش (P <۰/۰۰۱) و درصد گاز قابل احتراق (متان + هیدروژن) را ٤۱ درصد افزایش (P <۰/۰۰۱) داد. با این حال، تولید کل گاز قابل احتراق ۱۳ درصد کاهش نشان داد (P =۰/۰٦٦). بر اساس قانون هنری حلالیت گازها به فشار جزئی و همچنین حلالیت ذاتی آن‌ها در مایع مورد نظر بستگی دارد. گاز حاصل از تخمیر مجموعه‌ای متشکل از دی اکسیدکربن، متان، هیدروژن و سولفید هیدروژن با فشارهای جزئی و نیز حلالیت کاملاً متفاوت در فاز مایع است؛ از این رو، مجاورت دائمی آن‌ها با فاز مایع طی ۲٤ ساعت، تغییر قابل توجهی در تولید و ترکیب مخلوط گازی ایجاد کرده است. با این حال، همان طور که کاتانی و همکاران (۲) نیز گزارش کردند، تصحیح تولید گاز بر اساس مقدار گاز حل شده در مایع برای تعیین مقدار واقعی گاز کافی نبود، به طوری که تنها ۸ درصد از اختلاف میان تولید گاز در دو روش با محاسبه مقدار گاز حل شده بر اساس قانون هنری توجیه شد. کاهش ۱۳/۵ درصدی قابلیت هضم (P <۰/۰۰۱) در این آزمایش نشان داد حل شدن مجدد گازها به ویژه دی اکسید کربن (به دلیل فشار جزئی بالا و حلالیت قابل توجه در فاز مایع) تغییرات معنی‌داری بر روند تخمیر گذاشته و فعالیت میکروبی را تحت تاثیر قرار داده است. به طوری که تغییرات ایجاد شده در تولید گاز و قابلیت هضم منجر به تغییر معنی‌دار در فاکتور تسهیم (P <۰/۰۰۱) و تولید توده زنده میکروبی (P <۰/۰۱) شد. تاگلیاپیترا و همکاران (۵) نیز گزارش کرده‌اند تجمع گاز منجر به شکل-گیری تغییراتی غیرمنطبق با شرایط طبیعی شکمبه از جمله کاهش قابلیت هضم و در نتیجه تغییر در محصولات نهایی تخمیر خواهد شد. اگر چه عامل اصلی اثر منفی گاز حل شده بر تخمیر مشخص نیست؛ اما اثر دی‌اکسیدکربن حل شده بر اسیدیته محیط کشت به عنوان یکی از دلایل کاهش قابلیت هضم عنوان شده است (۵). نتایج به دست آمده در این آزمایش تاثیر شدید حبس گاز بر فراسنجه-های تخمیر و تولید گاز را تایید می‌کند. از این رو، ایجاد شرایط مشابه با شکمبه به ویژه در الگوی خروج گازها از محیط کشت برای دستیابی به نتایج قابل تعمیم به شرایط درون تنی ضروری به نظر می‌رسد.

جدول ۱- اثر حبس گاز در بطری بر فراسنجه‌های تخمیر برون‌تنی دانه ذرت

مورد	تیمار		SEM	احتمال معنی‌داری
	آزادسازی متناوب گاز	آزادسازی کل گاز در پایان انکوباسیون		
تولید گاز				
(میلی‌لیتر/ ٢٤ ساعت)	۱۳۰/۲۵[a]	٦٧/٦٧[b]	۳/۱۹۳	<۰/۰۰۱
(میلی‌لیتر / میلی‌گرم ماده خشک)	۰/۳٤[a]	۰/۱۷[b]	۰/۰۰۸	<۰/۰۰۱
گاز قابل احتراق (هیدروژن + متان)				
(درصد)	۲۳/٦۹[b]	٤۰/۱۵[a]	۲/۰۹۷	<۰/۰۰۱
(میلی‌لیتر / ٢٤ ساعت)	۳۰/۸۰	۲٦/٦٤	۰/۸۷٦	۰/۰٦۵۹
(میلی‌لیتر / میلی‌گرم ماده خشک)	۰/۰۷	۰/۰۸	۰/۰۲۱	۰/۰٦۵۹
قابلیت هضم آزمایشگاهی ماده خشک (درصد)	۹۲/۷۳[a]	۸۰/۱٦[b]	۰/٤۲۳	<۰/۰۰۱
قابلیت هضم حقیقی ماده آلی (درصد)	۹۳/٤۵[a]	۸۲/۸۰[b]	۰/٤۲٦	<۰/۰۰۱
فاکتور تسهیم (میلی‌گرم ماده آلی تجزیه شده / میلی‌لیتر گاز)	۲/۸۷[a]	٤/۹۷[b]	۰/۱۸۹	<۰/۰۱
تولید توده زنده میکروبی (میلی‌گرم)	۸۰/۷۳[b]	۱۷۸/۹۷[a]	٦/۷۷۷	<۰/۰۰۱

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

منابع

Blümmel, M., H.P.S. Makkar and K. Becker. 1997. *In vitro* gas production : A technique revisited. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. 77: 24–34.

Cattani, M., F. Tagliapietra, L. Maccarana, H.H. Hansen, L. Bailoni and S. Schiavon. 2014. Technical note: *In vitro* total gas and methane production measurements from closed or vented rumen batch culture systems. Journal of Dairy Science. 97: 1–6.

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.

Pell, N. and P. Schofield. 1993. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion in vitro. Journal of Dairy Science. 76: 1063–1073.

Tagliapietra, F., M. Cattani, L. Bailoni and S. Schiavon. 2010. *In vitro* rumen fermentation: Effect of headspace pressure on the gas production kinetics of corn meal and meadow hay. Animal Feed Science and Technology. 158: 197–201.

Theodorou, M.K., B.A.Williams, M.S. Dhanoa, A.B. Mcallan and J. France. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. 48: 185–197.

Effects of headspace pressure and exposure of rumen microorganisms to fermentation gases on gas production, headspace gas composition and in vitro digestibility

Marzieh Ghadami Kohestani1*, Reza Valizadeh1, Abbas Ali Naserian1, Seyed Hadi Ebrahimi1, Vahideh Heidarian Miri2

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:

This study investigated the effects of headspace pressure on gas production, headspace gas composition and *in vitro* digestibility. A completely randomized design with two groups (closed or vented bottles) and four replications was used. Samples were incubated into 100 mL glass bottles for 24h. Each bottle was filled with 400 mg of substrate (grounded corm grain) and 60 ml of buffered rumen liquor. Half of the bottles (n=4) were not vented, and the others were vented at fixed times (after 2, 4, 6, 8, 10 and 24 h of incubation). Gas was collected into a gas collection unit connected to each bottle. Closed bottles produced lower (−48%; $P < 0.001$) amounts of GP compared with vented bottles and adjustment for dissolved gas removed only 8% of the differences between two groups. Bottles in the closed group had higher combustible gas (H_2 + CH_4) percentage ($P < 0.001$) but combustible gas production did not differ. *In vitro* dry matter digestibility was reduced by 13.5% in the closed group. Also, partitioning factor ($P < 0.01$) and microbial biomass production ($P < 0.001$) were increased in the closed bottles. The results of this study showed that dissolution of fermentation gases into liquid phase can reduce gas production, but the majority of the depression in gas production was due to exposure of microorganism to fermentation gases and changes in fermentation process.

KEYWORDS: gas production technique – gas pressure – digestibility – combustible gas.