# تاثیر فراوری سیلاژ یونجه با اسید فرمیک بر پروتئین حقیقی جذب شده در روده باریک

پریسا خیر اندیش*،محسن دانش مسگران ، علیرضا وکیلی

۱.دانشجوی دکتری تغذیه نشخوارکنندگان دانشگاه فردوسی ۲.هیئت علمی دانشگاه فردوسی۳. هیئت علمی دانشگاه فردوسی

## چکیده

علف یونجه در مرحله اواسط گلدهی با ماده خشک ۳۲۰ گرم در کیلوگرم به مدت ۳۰ روز سیلو شد. تیمارهای آزمایشی شامل گروه کنترل بدون فراوری و تیمار فراوری شده با ۴ میلی لیتر اسید فرمیک به ازای کیلوگرم ماده خشک بود. سیلوهای آزمایشی برای تعیین پروتئین حقیقی قابل هضم در روده باریک با استفاده از سیستم هلندی (DVE/OEB) و ترکیب شیمیایی مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج نشان داد که استفاده از اسید فرمیک سبب کاهش معنی دار pH. مقدار سیلاژ یونجه شد پروتئین خام در سیلاژ های فراوری شده با اسید فرمیک بیشتر از گروه کنترل بود (۲۰۱ در مقابل ۱۹۸ گرم در کیلوگرم) همچنین فراوری سیلاژ یونجه با اسید فرمیک منجر به کاهش نیتروژن آمونیاکی نسبت به گروه کنترل شد (۰/۲ در مقابل ۱/۴۷). اسید فرمیک سبب افزایش پروتئین وارد شده به روده باریک نسبت به گروه کنترل به میزان ۳۵ درصد شد. داده های بدست آمده نشان داد که افزودن اسید فرمیک به سیلاژ یونجه منجر به کاهش تجزیه پروتئین در شکمبه و در نتیجه بهبود ارزش تغذیه ای با انتقال پروتئین از شکمبه به روده باریک می شود.

**کلید واژه: یونجه- اسید فرمیک- پروتئین- سیلاژ و DVE/OEB**

## مقدمه

فرایند سیلو کردن علوفه ها یکی از روش‌های کاهش اتلاف ماده خشک می باشد و سیلو کردن باعث ایجاد شرایط بی هوازی و کاهش pH می شود. علوفه یونجه معمولا پس از برداشت به دو صورت خشک و سیلو نگهداری می شود. سیلو کردن در مقایسه با خشک کردن منجر به اتلاف کمتر ماده خشک می شود. با این وجود یونجه به دلیل دارا بودن ظرفیت بافری بالا برای سیلو کردن مناسب نمی باشد(۵). در نتیجه محققان اسیدهای آلی مانند اسید فرمیک را که افزودنی مناسبی برای کاهش pH سیلو می باشد، توصیه می کنند. اسید فرمیک در علوفه های دارای ظرفیت بافری بالا و غلظت پایین کربوهیدرات محلول در آب جهت کاهش باکتری‌های مضر مانند کلستریدیا مناسب می باشد که ممکن است سبب افزایش رشد باکتر های تولید کننده اسید لاکتیک شود(۵). در سیلاژ یونجه pH عامل مناسبی برای تجزیه پروتئین می‌باشد، از این رو فراوری سیلاژ یونجه با اسیدهای آلی منجر به کاهش تجزیه پروتئین از طریق ممانعت از عمل آنزیم‌های پروتئازی می‌شود که غلظت نیتروژن غیر پروتئینی، نیتروژن آمونیاکی و اسیدآمینه آزاد کاهش و بازدهی نیتروژن بهبود می‌یابد. بنابراین هدف از این مطالعه ارزیابی اثر اسید فرمیک بر ارزش تغذیه‌ای و پروتئین حقیقی قابل هضم در روده باریک سیلاژ یونجه بود.

## مواد و روش ها

علف یونجه در مرحله اواسط گلدهی با ماده خشک ۳۲۰ گرم در کیلوگرم به مدت ۳۰ روز سیلو شد. تیمار های آزمایشی شامل گروه کنترل بدون فراوری و تیمار فراوری شده با ۴ میلی لیتر اسید فرمیک به ازای کیلوگرم ماده خشک بود. سیلوهای آزمایشی برای تعیین

پروتئین حقیقی قابل هضم در روده باریک با استفاده از سیستم هلندی (DVE/OEB) و ترکیب شیمیایی شامل الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی (براساس روش ون سوست و همکاران۱۹۹۱)، پروتئین خام (روش کجلدال)، خاکستر(AOAC, 2005)، نیتروژن آمونیاکی (ویدربرن ۱۹۶۷)، ماده خشک (AOAC, 2005) و pH (پولان و همکاران، ۱۹۹۸) تعیین شدند. میزان DVE به وسیله معادله DVE+ DVBE+ DVME- DVMFE محاسبه شد که DVE پروتئین حقیقی قابل هضم در روده باریک، DVME پروتئین اندوژنوس از دست رفته در روده باریک، DVBE مقدار جذب حقیقی پروتئین عبوری خوراک در روده باریک، DVME مقدار جذب حقیقی پروتئین میکروبی سنتز شده در شکمبه در روده باریک می باشد.

## نتایج و بحث

نتایج مربوط به ترکیب شیمیایی نمونه های مورد آزمایش در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱- ماده خشک (گرم به ازای کیلوگرم سیلاژ تازه)، ترکیب شیمیایی (گرم در کیلوگرم ماده خشک)، نیتروژن آمونیاکی (درصد نسبت به پروتئین خام) و pH سیلاژ یونجه بدون افزودنی و فرآوری شده با اسید فرمیک (۰/۴ درصد) در مرحله اواسط گلدهی

| | | | | | | مواد مغذی | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | DM | pH | $N\text{-}NH_3$ | CP | NDF | Ash | ADF |
| بدون افزودنی | ۲۴۶/۶۰ | ۵/۱۶[a] | ۰/۴۷[a] | ۱۹۸/۰۰[b] | ۴۲۱/۰۰ | ۹۱/۵۰ | ۲۹۶/۰۰[b] |
| فراوری شده با اسید فرمیک | ۲۴۲/۵۰ | ۳/۵۳[b] | ۰/۲۰[b] | ۲۰۱/۵۳[a] | ۴۳۳/۰۰ | ۸۹/۰۰ | ۳۷۳/۶۷[a] |
| SEM | ۰/۳۲ | ۰/۰۳ | ۰/۰۲ | ۰/۵۰ | ۶/۹۴ | ۱/۹۸ | ۶/۴۱ |
| P-value | ۰/۰۰۰۸ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۰۰۲ | ۰/۰۰۸ | ۰/۲۹ | ۰/۵۵ | ۰/۰۰۱ |

Cp: پروتئین خام، NDF: الیاف نامحلول در شوینده خنثی، Ash: خاکستر، ADF: الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، DM: ماده خشک، $N\text{-}NH_3$: نیتروژن آمونیاکی،

ماده خشک، پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، نیتروژن آمونیاکی و pH سیلاژهای آزمایشی تحت تاثیر فراوری قرا گرفتند. در طی فراوری با اسید های آلی و غیر آلی مقدار ماده خشک افزایش می یابد که به دلیل افزایش پساب می باشد (۶). غلظت بالای پروتئین خام و نیتروژن آمونیاکی در سیلاژ فراوری شده ممکن است به خاطر محدود کردن تخمیر و دکربوکسیلاسیون پروتئین باشد (۸). مقدار پایین الیاف نامحلول در شوینده اسیدی در گروه شاهد در مقایسه با گروه فراوری شده ممکن است به دلیل افزایش هضم دیواره سلولی باشد (۲). نتایج مربوط به فراسنجه‌های مواد مغذی و پروتئین متابولیکی براساس مدل DVE/OEB در جدول ۲ گزارش شده است.

جدول۲- **برآورد فراهمی مواد مغذی، توازن پروتئین قابل تجزیه در شکمبه (OEB) و پروتئین واقعی قابل هضم در روده باریک (DVE) سیلاژ یونجه بدون افزودنی و فراوری شده با اسید فرمیک (۰/۴ درصد) در مرحله اواسط براساس مدل ارزیابی دینامیکی پروتئینی رایج (DVE/OEB)**

| | FOM | $MCP_{RDP}$ | $MCP_{FOM}$ | DVMFE | TPSI | DVBE | DVE | OEB |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | گرم در کیلوگرم ماده خشک | | | | | | | |
| بدون افزودنی | ۶۱۹/۸۴[a] | ۱۶۲/۲۲[a] | ۹۲/۹۷[a] | ۲/۴۰[a] | ۱۰۱/۸۸[b] | ۳۲/۱۵[b] | ۸۹/۰۷[b] | ۶۹/۲۴[a] |
| فراوری شده با اسید فرمیک | ۵۵۹/۰۷[b] | ۱۲۴/۹۵[b] | ۸۳/۸۶[b] | ۲/۳۵[b] | ۱۳۱/۷۶[a] | ۶۸/۸۶[a] | ۱۹۹/۹۷[a] | ۴۱/۰۹[b] |
| SEM | ۱۳/۳۴ | ۲/۱۲ | ۲/۰۰۲ | ۰/۰۰۷ | ۲/۰۸ | ۱/۸۱ | ۱/۹۷ | ۲/۶۷ |
| P-value | ۰/۰۳ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۳ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۰۰۲ |

FOM: ماده آلی قابل تخمیر در شکمبه، $MCP_{RDP}$: پروتئین میکروبی سنتز شده براساس مقدار نیتروژن قابل دسترس ، $MCP_{FOM}$: پروتئین میکروبی سنتز شده براساس انرژی قابل دسترس، DVME: پروتئین اندوژنوس از دست رفته در روده باریک، TPSI: کل پر.تئین حقیقی وارد شده به روده باریک، DVBE: مقدار جذب حقیقی پروتئین عبوری خوراک در روده باریک، DVE: پروتئین حقیقی قابل هضم در روده باریک، OEB: توازن پروتئین سنتز شده در شکمبه، SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها در هر ردیف بین میانگین‌های با حروف متفاوت، اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($P< ۰/۰۵$)

فراواری سیلاژ یونجه با اسید فرمیک به طور معنی داری باعث افزایش میزان DVE شد که به دلیل محدود کردن تخمیر، دکربوکسیلاسیون پروتئین و افزایش میزان پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه (RUP) از طریق کاهش تجزیه پروتئین در شکمبه می‌باشد (۹). توازن پروتئین سنتز شده در شکمبه که توازن پروتئین سنتز شده در شکمبه براساس میزان ماده آلی و نیتروژن در دسترس می‌باشد، مقدار ایده آل آن در جیره های گاوهای شیری صفر یا نزدیک به صفر می‌باشد (۹). فرواروی سیلاژ یونجه با اسید فرمیک منجر به کاهش معنی‌دار توازن پروتئین سنتز شده در شکمبه شد که ممکن است به دلیل تغییر ارزش تغذیه‌ای می‌باشد.

## نتیجه گیری

نتایج آزمایش نشان داد که سیلاژهای فراوری شده با اسید فرمیک ممکن است باعث بهبود ارزش تغذیه ای سیلاژ یونجه از طریق تغییر ترکیب شیمیایی و به ویژه پروتئین حقیقی قابل هضم در روده باریک (DVE) شود.

## منابع


1. Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 2005. Official Methods of Analysis, 18th ed. AOAC international, Gaithersburg, Maryland, USA.
2. Bolsen, K. K., Ashbell, G. and Weinberg, Z. G. 1996. Silage fermentation and silage additives: review. Asian-Australasian J. Anim. Sci., 9: 483-493.

3. Kung, J. R. L. 2010. Understanding the biology of silage preservation to maximise quality and protect the environment. In: Proceedings, 2010 Califoornia Alfalfa and Forage Symposium and corn/cereal Silage Conference. Online at *http://alfalfa.ucdavis.edu/+symposium/proceedings/2010/10-41.pdf.*
4. O'Kiely, P. Flyn, AV and Poole, DBR. 1989. Sulphuric acid as a silage preservative. 2. application rate, silage composition, animal performance and copper status. Irish J. Agric. Res., 28: 11-23.
5. Rooke, JA; Maya, FM; Arnold, JA and Armstrong, DG (1998). The chemical composition and nutritive value of grass silages prepared with no additive or with the application of additives containing either *Lactobacillus plantarum* or formic acid. Grass Forage Sci., 43: 87-95. Weatherburn, M. W. 1967. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. Analytical Chemistry 39:971-974.
6. Tamminga, S., Van Straalen, W. M., Subnel, A. P. J., Meijer, R. G. M., Steg, A., Wever, C. J. G. and Blok, M. C. 1994. The Dutch protein evaluation system: the DVE/OEB-system. *Livestock Production Science. 40: 139-155.*

## Effect of formic acid on intestinal truly absorbed protein of alfalfa silage

**Abstract**

Second-cut of alfalfa hay at half blooming stage with 320 mg/kg DM was ensiled for 28 days as untreated (control) or treated with 4 ml formic acid per kg DM. The silages were evaluated for truly absorbed protein in the small intestine using new Dutch System (DVE/OEB). In addition, all samples were studied for chemical composition. Results showed that the inclusion of formic acid caused a significant decrease in silage extract pH compared with that of control ($P< 0.05$). Crude protein concentration was higher in silage treated with formic acid than those of the control (201 vs. 198 g/kg). pH (3.53 *vs.* 5.16) and N-NH3 (0.2 *vs.* 0.47) concentration was lower in silage treated with formic acid than those of the control. Formic acid caused an increase in intestinal truly absorbed protein by 35 percent compared with those untreated silages (89 vs. 120 g/kg). Data obtained in this study indicate that the addition of formic acid to alfalfa silage prevent ruminal protein degradation and consequently improve nutritional value by altering the digestion site of protein from rumen to small intestine.

**Keywords: Alfalfa - formic acid - protein - silage - DVE/OEB**