مجله علوم دامی ایران
دوره ۴۳، شماره ۲، ۱۳۹۱ (۲۶۰-۲۴۹)

مقایسه اثر فرآوری علوفه خلر، برانرژی قابل متابولیسم برآورد شده با استفاده از روشهای برون تنی

نرگس وحدانی[۱]، حسین مروج[۲]، کامران رضایزدی[۲*] و مهدی دهقان بنادکی[۲]
۱، ۲، دانشجوی دکتری و دانشیاران، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
(تاریخ دریافت : ۹۰/۹/۲۱ – تاریخ تصویب: ۹۱/۴/۲۰)

چکیده

جهت افزایش ارزش غذایی و کاهش ترکیبات ضد تغذیه ای (اگزالیل دی آمینو پروپیونیک اسید (β-ODAP) و تانن متراکم) علوفه خلر، از محلول های قلیایی سدیم هیدروکسید ، سدیم بیکربنات، پتاسیم پرمنگنات و خاکستر چوب ، پلی اتیلن گلیکول با وزن مولکولی ۶۰۰۰ ، و خیساندن با آب استفاده شد. انرژی قابل متابولیسم علوفه خلر فرآوری شده و بدون فرآوری با استفاده از آزمون تولید گاز ، روش دو مرحله ای قابلیت هضم برون تنی و ترکیبات شیمیایی برآورد شد. در روش دو مرحله ای قابلیت هضم تنها فرآوری سدیم هیدروکسید سبب افزایش معنی دار انرژی قابل متابولیسم نسبت به شاهد شد. مقدار انرژی قابل متابولیسم علوفه خلر به وسیله روش تولید گاز، ۸/۵۲ (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک) برآورد شد و بیشترین مقادیر انرژی قابل متابولیسم محاسبه شده بر اساس این روش مربوط به فرآوری های آب و پلی اتیلن گلیکول به ترتیب ۱۱/۴۸و ۱۰/۹۶ (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک) بود. بین غلظت β-ODAP و میزان قابلیت هضم ماده آلی (۰/۴۷-) و ماده آلی قابل هضم در ماده خشک (۰/۴۸-) همبستگی منفی و معنی داری وجود داشت. تانن متراکم موجود در علوفه خلر تأثیر منفی بر میزان قابلیت هضم ماده خشک نداشت (۰/۵۵). بنا بر نتایج این پژوهش و در نظر گرفتن مقادیر انرژی قابل متابولیسم برآورد شده، دو فرآوری سدیم هیدروکسید و آب به عنوان روش مناسب برای فرآوری علوفه خلر توصیه می شوند.

واژه های کلیدی: انرژی قابل متابولیسم علوفه خلر، اگزالیل دی آمینو پروپیونیک اسید، تانن متراکم، روش تولید گاز ، روش دو مرحله ای قابلیت هضم

مقدمه

گیاه علوفه ای خلر[۱] *(Lathyrus sativus)* از خانواده لگومینوز ها بوده و در بسیاری از نواحی دنیا برای مصرف انسان و حیوان کشت می شود. این علوفه دارای مزایای بیولوژیکی و زراعی مانند مقاومت در برابر خشکی، کمبود آب، وجود خاک ضعیف و نیمه خشک، مقاومت در برابر حشرات و آفات، کمک به تثبیت نیتروژن و بالا بودن تولید دانه با پروتئین بالا است (Campbell et al., 1994). این گیاه در ایران به صورت الگویی کشت می شود. علوفه خلر همراه با غلاف دانه حاوی ترکیبات ضد تغذیه ای متعددی از جمله اگزالیل دی آمینو

1. Grass pea

نویسنده مسئول: کامران رضایزدی تلفن: ۰۲۶۳۲۲۴۸۰۸۲ E-mail:rezayazdi@ut.ac.ir

پروپیونیک اسید[1] است که به عنوان یک نوروتوکسین می تواند سبب بروز فلج (نورولاتیریسم) در اندام تحتانی انسان و حیوانات شود (Hanbury et al., 2000). ترکیب ضد تغذیه ای دیگر تانن متراکم است که می تواند با توجه به غلظت و منشاء گیاهی بر میزان جذب پروتئین تأثیر منفی یا مثبت داشته باشد (Makkar, 2003).

روش های آزمایشگاهی متعددی برای اندازه گیری ارزش غذایی علوفه ها جهت به کارگیری آنها در جیره حیوانات، وجود دارد. رایج ترین روش تعیین میزان پروتئین خام و فیبر خام است که برای دسته بندی خوراک ها استفاده می شود. روش تولید گاز نیز یک روش ساده و سریع است که با قابلیت هضم به دست آمده به وسیله روشهای درون تنی همبستگی بالایی دارد (Canbolat et al., 2007).

بنابراین می تواند روش مناسبی برای برآورد تجزیه پذیری ماده خشک، قابلیت هضم ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم علوفه ها باشد.

به منظور برآورد انرژی قابل متابولیسم می توان از روش های درون تنی (تعیین گاز دفعی از طریق تنفس و میزان انرژی دفعی از طریق ادرار) و برون تنی (روش تولید گاز، تعیین قابلیت هضم به روش برون تنی و ترکیبات شیمیایی) استفاده کرد. اطلاعات اندکی در زمینه ارزش غذایی و انرژی قابل متابولیسم گیاه علوفه ای خلر، و به خصوص تأثیر ترکیبات ضد تغذیه ای اصلی آن بر این شاخصه ها وجود دارد.

هدف اصلی این پژوهش بررسی تأثیر فرآوری ترکیبات ضد تغذیه ای علوفه خلر برانرژی قابل متابولیسم با استفاده از روش تولید گاز، تعیین قابلیت هضم به روش برون تنی، ترکیب شیمیایی و تعیین همبستگی بین این عوامل بود. و در نهایت توصیه یک روش مناسب برای محاسبه انرژی قابل متابولیسم علوفه خلر و ارائه یک روش فرآوری عملی جهت بهبود ارزش غذایی و قابلیت استفاده از این گیاه در شرایط مزرعه ای بود.

مواد و روش ها

تهیه علوفه

علوفه خلر مورد آزمایش توسط دفتر محصولات علوفه‌ای وزارت جهاد کشاورزی از شهرستان خرمدره استان زنجان تهیه شد. علوفه خلر در مرحله گل‌دهی کامل و همراه با غلاف دانه و به صورت دستی برداشت شد. پس از نمونه‌برداری از ۲۵ الی ۳۰ بسته، نمونه‌ها با هم مخلوط شده و علوفه با استفاده از علوفه خردکن برقی به قطعات ۵-۳ سانتی متری خرد شده و سپس تحت فراوری قرار گرفت.

ترکیبات شیمیایی

ماده خشک نمونه ها توسط خشک کردن نمونه ها در دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد و به مدت ۲۴ ساعت اندازه گیری شد. میزان نیتروژن نیز توسط روش کجلدال اندازه گیری شد (AOAC, 2000) . مقدار دیواره سلولی به روش Van Soest et al. (1991) اندازه گیری شد. چربی خام و خاکستر نمونه علوفه هم به روش AOAC (2000) تعیین گردید. کل ترکیبات فنلی و تانن متراکم بر اساس روش Makkar (2000) استخراج و اندازه گیری شد. غلظت β-ODAP در نمونه ها نیز بر اساس روش Tarade et al. (2007) و با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی لایه نازک با فشار بالا اندازه گیری گردید. ماده استاندارد β-ODAP از کشور هند و شرکت لاتیروس تکنولوژی واقع در شهر حیدرآباد تهیه و خریداری شد.

نحوه فرآوری علوفه خلر

علوفه خرد شده توسط ترکیبات مختلف شیمیایی وآب فرآوری شد. نسبت حجم به وزن ۴ به ۱ برای فرآوری های خاکستر چوب(۱۸۰ گرم به ازای هر کیلوگرم ماده خشک) (Ben Salem et al., 2005)؛ سدیم هیدروکسید (محلول ۰/۰۵ مولار) ، سدیم بیکربنات (محلول ۰/۱ مولار) و پتاسیم پرمنگنات (محلول ۰/۰۳ مولار) (Makkar & Singh 1992) استفاده شد. پلی اتیلن گلیکول[2] با وزن مولکولی ۶۰۰۰

1. Poly ethylene glycol (PEG)

2. 3-(-N-oxalyl)-L-2,3-diamino propionic acid (β-ODAP)

و به میـزان ۵۰ گـرم PEG بـه ازای هـر کیلـوگرم مـاده خشک و با نسبت حجم به وزن یکسان در آب حل شـده و سپس به خوبی با علوفه مخلـوط شـد (Priolo et al., 2000). در فـرآوری بـا آب نـسبت آب بـه مـاده خـشک علوفه، همانند محلـول هـای شـیمیایی ۴ بـه ۱ در نظـر گرفته شد.

تعیین قابلیت هضم ماده آلی به روش برون تنی

بـر اسـاس روش Tilley & Terry (1963) قابلیـت هضم علوفه خلر فرآوری شده و نشده به روش برون تنی اندازه گیری شد.

در نهایـت بـا اسـتفاده از معـادلات AFRC (1995) مقدار انرژی قابل متابولیسم علوفه خلـر فـرآوری شـده و نشده به کمک قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک بـه روش برون تنی برآورد شد.

اندازه گیری تولید گاز

به منظور اندازه گیـری میـزان گـاز تولیـدی ، مـایع شکمبه از چهار رأس گاو فیستولادار تالـشی کوهـان دار (با جیره مصرفی ۵ کیلو گرم یونجه، ۲ کیلـو گـرم کـاه گندم و۱ کیلو گرم جو خرد شده) و قبل از مصرف وعـده غذایی صبح گرفته شد. نمونه های آسیاب شده با غربـال ۲ میلـی متـری بـه میـزان ۰/۲۱۱ الـی ۰/۲۱۶ گـرم در داخل سرنگ قرار داده شده و بـه منظـور رسـم منحنـی مربوط به تولید گاز ، میزان گاز تولیدی بر اساس روش Menke et al. (1979) درسـاعات ۴، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ در دمای ۳۹ الی ۴۰ درجه سانتی گـراد انـدازه گیری شد.

میزان گاز تولیدی در ساعت ۲۴ برای بـرآورد انـرژی قابل متابولیسم مـورد اسـتفاده قـرار گرفـت. حجـم گـاز تولیـدی در زمـان t بـا اسـتفاده از معادلـه غیـر خطـی $y=a+b\ (1-e^{-ct})$ Ørskov & McDonald (1979) تعیین شد ، که a گـاز تولیـدی حاصـل از بخـش سـریع تجزیه شونده، b گاز تولیدی حاصـل از بخـش نـامحلول (میلی لیتر)، c ثابت نرخ تجزیه برای بخـش نـامحلول b (درصد در ساعت) می باشد. کینتیک تخمیر با اسـتفاده ازبـسته نـرم افـزاری(Fit Institute, Aberdeen, UK‘ curve’ (Rowett Research برآورد شده است.

میزان انرژی قابل متابولیسم به وسیله فرمـول هـای ارائه شده توسط Menke et al. (1979) محاسبه شد.

ME (Mj/Kg DM) =15.33-0.0152mADF(gr/Kg DM)

ME (MJ/Kg DM) = 2.2+0.1357GP24+0.0057CP+0.0002859CP2
ME (MJ/Kg DM) =2.2+ 0.136GP24+0.057CP+ 0.0029CF2
OMD =14.88+0.889 GP_{24} + 0.45 CP +0.0651 ash%
%DOMD = %OMD × %OM
ME(MJ/Kg DM) = 0.0157 DOMD

کـه GP24 مقـدار گـاز تولیـدی در سـاعت ۲۴؛ CP میزان پروتئین خـام ؛OMD قابلیـت هـضم مـاده آلـی؛ DOMD قابلیت هضم مـاده آلـی در مـاده خـشک؛ OM ماده آلی، CF چربی خام، mADF دیواره سـلولی بـدون همـی سـلولز اصـلاح شـده (بـدون اسـتفاده از سـدیم سولفیت) و Ash خاکستر می باشند.

روش های آماری

به منطور مقایسه ترکیبـات شـیمیایی، غلظـت هـای مختلف β-ODAP و ترکیبات فنلی، میزان قابلیت هـضم مواد مغذی وME میزان گـاز تولیـدی در میـان فـرآوری های مختلف از طرح کاملاً تصادفی بـا مـدل آمـاری زیـر استفاده شد. اطلاعات به دست آمده به وسیله بسته نرم-افزاری SAS و با رویه معادل خطی تعمیم یافتـه (proc GLM) مورد تجزیه و تحلیـل قـرار گرفـت. بـه منظـور مقایسه میانگین ها از آزمون چنـد دامنـه ای دانکـن در سطح P <۰/۰۵ استفاده شد.

$$Yij=\mu+Ti+eij$$

در ایـن مـدل Yij معـادل مقـدار هـر مـشاهده، μ میانگین کل، Ti اثر هر فرآوری و eij اثر خطای آزمـایش می باشد. ضرایب همبستگی میان ترکیبـات شـیمیایی و انرژی قابل متابولیسم، قابلیت هضم مـاده خـشک، مـاده آلی و ماده آلی در ماده خشک و همبـستگی میـان روش های مختلف برآورد انـرژی قابـل متابولیـسم بـه وسـیله بسته نرم‌افزاری SAS و با رویه آماری (Proc CORR) به دست آمد.

نتایج و بحث

ترکیبات شیمیایی و ترکیبات ضد تغذیه ای علوفه خلر

جـدول۱ نمایـانگر تـأثیر فـرآوری هـا بـر ترکیبـات شیمیایی علوفه خلر می باشد. بیشترین کاهش در درصد ماده خشک علوفه خلر در فرآوری هـایی بـا pH قلیـایی وجود دارد که می تواند به دلیل وجـود شـرایط مناسـب برای اکسیداسیون و کاهش مـاده خـشک باشـد (Ben Salem et al., 2005; Makkar & Singh 1992). فرآوری

خاکستر چوب دارای کمترین میزان ماده آلی و بیشترین میزان خاکستر بوده و سایر فرآوری ها نیز دارای افـزایش معنی داری (P <۰/۰۵) در میزان ماده آلـی نـسبت بـه شاهد بوده اند.

جدول- غلظت ترکیبات شیمیایی علوفه خلر فرآوری شده و نشده (برحسب درصد ماده خشک)

ترکیب شیمیایی (درصد در ماده خشک)	نوع فرآوری							S.E.M.	سطح معنی داری
	شاهد	آب	پتاسیم پرمنگنات	پلی اتیلن گلیکول	خاکستر چوب	سدیم بیکربنات	سدیم هیدروکسید		
ماده خشک	۹۵/۳۷ b	a۹۶/۶۸	c۹۴/۷۰	d۹۳/۵۹	f۹۱/۸۰	e۹۲/۲۳	d۹۳/۳۳	۰/۰۳۸	***
ماده آلی	d۹۰/۸۳	c۹۱/۱۶	c۹۱/۳۳	a۹۴/۴۹	e۸۸/۶۸	d۹۰/۷۱	b۹۱/۹۸	۰/۰۳۸	***
پروتئین خام	/۲۴ c۲۳	a۲۶/۷۰	b۲۴/۱۰	c۲۳/۲۲	e۲۰/۳۶	e۲۰/۷۶	d۲۲/۴۰	۰/۰۴۶	***
دیواره سلولی	f۳۹/۷۰	۳۳/۳۷ g	d۴۱/۵۳	e۴۰/۴۹	b۴۴/۱۶	c۴۲/۳۲	a۴۵/۵۵	۰/۰۶۰	***
دیواره سلولی بدون همی سلولز	e۳۰/۰۶	d۳۰/۵۳	e۲۹/۸۷	b۳۲/۷۳	c۳۱/۷۸	a۳۳/۲۱	a۳۳/۰۶	۰/۰۳۱	***
خاکستر	bc۸/۷۵	b۸/۵۵	bc۸/۲۱	d۵/۱۵	a۱۰/۴۰	b۸/۵۷	c۷/۴۸	۰/۱۲۱	***
چربی خام	b۴/۳	a۴/۷۶	c۳/۰۴	f۱/۸۲	g۱/۴۷	d۲/۳۸	e۲/۱۴	۰/۰۲۷	***

حروف غیر مشابه در هر سطر نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار می باشند. *** P<۰/۰۰۱ ؛ S.E.M. : میانگین خطای استاندارد

مـصرف خاکـستر چـوب مـی توانـد سـبب انحـلال ترکیبات محلول در آب شده (ماننـد نیتـروژن محلـول و کربوهیدراتها) و میزان پروتئین خام و ماده آلی را کاهش دهد (Ben Salem et al., 2005). میـزان پـروتئین خـام گیاه خلر درحدود ۲۳/۲۴ درصد در ماده خشک بود کـه با نتایج Kaul et al. (1982) تطابق دارد.

بیـشترین میـزان پـروتئین خـام در فـرآوری آب و کمترین میزان در دو فـرآوری خاکـستر چـوب و سـدیم بیکربنات مشاهده شد کـه نـسبت بـه شـاهد نیـز دارای مقدار کمتری بودند. افزایش پروتئین خام فرآوری هایی مـــانند آب و پـــتاســـیم پرمنگنات نسبت به شاهد مـی توانـد بـه دلیـل افـزایش ترکیبات نیتروژن دار قابل اندازه گیری در گیاه باشد، در صورتی که در سایر فرآوری هایی کـه دارای pH قلیـایی تری می باشـند، ممکـن اسـت بـه دلیـل اکـسیداسیون ترکیبات نیتروژن دار قابل اندازه گیری، میـزان پـروتئین خام اندازه گیری شده کاهش یابد. مقادیر دیواره سـلولی و دیواره سلولی بدون همی سـلولز در علوفـه خلـر مـورد آزمایش نسبت به مقادیر گزارش شـده توسـط Poland et al. (2003) کمتر بوده است. با توجه به مقادیر دیـواره سلولی مقدار به دست آمده برای ارزش نسبی علوفه خلر با اسـتفاده از روش (Moore and Undersander, 2002) ۱۵۳/۴۳ می باشد.

بیشترین وکمترین میزان دیواره سـلولی بـه ترتیـب در سدیم هیدروکسید و آب دیده شـد. بـه نظـر مـی رسـد سدیم هیدروکسید با داشتن قلیایی تـرین pH و بهتـرین شرایط برای اکسیداسیون توانسته است بیشترین تأثیر را بر روی ترکیبات قابل اندازه گیری دیواره سـلولی داشـته باشد.

دیواره سلولی بدون همی سلولز تمامی فرآوری ها به غیر از فرآوری پتاسیم پرمنگنات دارای افـزایش معنـی داری نسبت به شاهد بوده است.

همانگونه که در جدول ۲ مشـاهده می شـود، میـــزان β-ODAP موجود در گیاه خلر مـورد آزمـایش در حـدود

۱/۱۸ درصد می باشد که این میزان با مقادیر گزارش شده توسط Kaul et al. (1982) ، (۱/۴- ۰/۴۵ درصد) تطابق دارد.

جدول ۲- مقادیر ترکیبات ضد تغذیه ای و درصد کاهش آنها در هر یک از فرآوری ها (بر حسب درصد در ماده خشک)

فرآوری	شاهد	آب	پتاسیم پرمنگنات	پلی اتیلن گلیکول	خاکستر چوب	سدیم بیکربنات	سدیم هیدروکسید	S.E.M	سطح معنی داری
β-ODAP	^{a}۱/۱۸	^{e}۰/۲۳	^{c}۰/۶۷	^{b}۰/۹۶	^{d}۰/۵۴	^{c}۰/۷۸	^{d}۰/۴۳	۰/۰۱۶	***
pHمحلول	–	–	۷/۲	۵/۹۱	۱۲/۱۳	۸/۴۲	۱۲/۲۸	–	–
تانن متراکم	^{a}۰/۰۲۴	^{e}۰/۰۰۷	^{bc}۰/۰۲	^{c}۰/۰۱۸	^{d}۰/۰۱۱	^{f}۰/۰۰۰۳	^{ab}۰/۰۲۲	۰/۰۰۱	***

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار می باشند. *** $P<۰/۰۰۱$ ؛ S.E.M. : میانگین خطای استاندارد

از آنجایی که نقش این ترکیب ضد تغذیه ای در گیاه، انتقال عنصر روی در داخل گیاه می باشد به نظر می رسد دلیل اصلی بالا بودن این ترکیب در گیاه کمبود روی در اراضی کشاورزی و در نتیجه کمبود روی در گیاه بوده و وجود شرایط نامناسب محیطی و بالا بودن عنصر آهن نیز می تواند دلیل دیگری برای مشاهده این نتایج باشد (Lambein et al., 1994). بیشترین و کمترین میزان کاهش β-ODAP به ترتیب در فرآوری آب و پلی اتیلن گلیکول دیده می شود. سایر فرآوری های قلیایی مانند سدیم هیدروکسید (pH=۱۲/۲۸) و خاکستر چوب (pH=۱۲/۱۳) به ترتیب ۶۳/۸۱ و ۵۴/۲۹ درصد مقدار β-ODAP را کاهش دادند. فرآوری هایی با pH خنثی یا اسیدی به میزان کمتری سبب کاهش غلظت β-ODAP شده اند. Tarade (2007) et al. نیز گزارش کردند که بیشترین میزان کاهش β-ODAP در دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد در pH برابر با ۹/۲ و کمترین کاهش در pH برابر با ۴ مشاهده می شود. این نتایج توسط Akalu et al. (1998) نیز گزارش شده است.

اگزالیل دی آمینو پروپیونیک اسید یک ترکیب ضد تغذیه ای محلول در آب است از این رو به نظر می رسد دلیل کاهش بالای β-ODAP در اثر فرآوری با آب، انحلال بالای β-ODAP در آب و ایزومراسیون آن باشد. کاهش میزان β-ODAP در اثر فرآوری با آب و محلول های قلیایی با نتایج گزارش شده توسط Akalu et al. (1998) و Srivastava et al. (1996) تطابق دارد.

نتایج مندرج در جدول ۲ نشان می دهد که میزان تانن متراکم گیاه خلر مورد آزمایش ۰/۰۲۴ درصد ماده خشک بوده که با نتایج Deshpande &. (1992) Campbell مطابقت دارد. بیشترین میزان کاهش تانن متراکم در اثر فرآوری با سدیم بیکربنات (۹۸/۸درصد) و آب (۷۰/۱۸ درصد) مشاهده شد. از آنجایی که اطلاعات دقیقی در مورد منشاء تانن گیاه خلر وجود ندارد و با توجه به این نکته که تانن متراکم اندازه گیری شده درصد کمی از کل تانن(۱/۹ درصد) را تشکیل می دهد، به نظر می رسد که بخش قابل توجهی از تانن گیاه با پروتئین و دیواره سلولی باند شده و غیر قابل استخراج و اندازه گیری باشد.

بر اساس گزارش Terril et al. (1992) در گیاهان با میزان تانن متراکم کم تنها ۳۵-۳۰ درصد از کل تانن متراکم قابل استخراج و اندازه گیری می باشد. از آنجایی که پلی اتیلن گلیکول از طریق باند شدن با تانن می تواند سبب کاهش ترکیبات فنلی در گیاه شود و با توجه به آنکه احتمال دارد بخش قابل توجهی از تانن متراکم موجود در گیاه خلر با دیواره سلولی و پروتئین ها باند شده باشد، احتمالا پلی اتیلن گلیکول فقط بخش قابل استخراج تانن را باند کرده است. در صورتی که فرآوری های قلیایی به دلیل وجود شرایط مناسب اکسیداسیون توانسته اند بخش بیشتری از این ترکیبات را غیر فعال سازند. البته باید به این نکته توجه داشت که در صورت استفاده از ترکیبات قلیایی برای فرآوری تانن ها، ممکن

است مقادیر اندازه گیری شده کمتر از حد واقعی باشند (Makkar, 2003).

در کل باید به این نکته توجه داشت که ساختار حلقه بنزنی تانن های متراکم که دارای خاصیت اسیدی است بسته به منشاء و نوع آن در انواع گیاهان واکنش های متفاوتی را به ترکیبات قلیایی و سایر ترکیبات باند شونده نشان می دهند (Vermerris & Nicholson, 2006).

قابلیت هضم ماده آلی به روش برون تنی

جدول ۳ بیانگر این مطلب است که هیچ یک از فرآوری ها نتوانسته اند به میزان معنی داری قابلیت هضم ماده خشک را نسبت به شاهد افزایش دهند . با وجود اینکه فرآوری های آب و خاکستر چوب سبب بهبود قابلیت هضم ماده خشک شده اند اما این اختلاف معنی دار نمی باشد.

جدول ۳- مقادیر قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و ماده آلی در ماده خشک به روش تیلی و تری(برحسب درصد)

نوع فرآوری	قابلیت هضم ماده خشک	قابلیت هضم ماده آلی	ماده آلی قابل هضم در ماده خشک
شاهد	a۸۹/۱۴	b۸۴/۳۸	b۷۶/۶۴
آب	a۹۰/۲۲	b۸۵/۷۱	b۷۸/۱۳
پتاسیم پرمنگنات	a۸۷/۷۹	b۸۵/۴۲	b۷۸/۰۱
پلی اتیلن گلیکول	a۸۷/۸۱	d۶۳/۱۸	d۵۹/۸۰
خاکستر چوب	a۹۱/۸۴	ab۸۷/۴۳	b۷۷/۵۳
سدیم بیکربنات	b۷۰/۵۱	c۷۲/۳۳	c۶۵/۶۰
سدیم هیدروکسید	a۸۸/۸۶	a۹۰/۵۶	a۸۳/۲۰
S.E.M.	۰/۷۱۷	۰/۴۶۵	۰/۴۲۲
سطح معنی داری	***	***	***

حروف غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار می باشند. *** $P<۰/۰۰۱$ ؛ S.E.M. : میانگین خطای استاندارد

میزان قابلیت هضم ماده آلی و ماده آلی قابل هضم در ماده خشک تنها توسط فرآوری سدیم هیدروکسید بهبود یافته است. برخی از فرآوری ها مانند خاکستر چوب، آب و پتاسیم پرمنگنات نیز علی رغم افزایش قابلیت هضم ماده آلی سبب ایجاد اختلاف معنی داری با شاهد نشده اند.

Mlambo et al. (2008) نشان دادند که در تعیین قابلیت هضم به روش برون تنی در برخی مواقع به دلیل کم بودن مقدار نمونه در آزمایش و وجود مقادیر اندکی از ترکیبات ضد تغذیه ای مانند تانن در نمونه مورد آزمایش نمی توان تأثیر این نوع ترکیبات را در آزمایش مورد توجه قرار داد. علاوه بر این عدم فیلتراسیون صحیح در هنگام آزمایش می تواند سبب برآورد کمتر قابلیت هضم شود. مجموع این مشکلات می تواند دلایل احتمالی عدم مشاهده اختلافات معنی دار در بین اکثر فرآوری ها و شاهد باشد. با توجه به نتایج مندرج در جدول ۴ بین غلظت β-ODAP و میزان قابلیت هضم ماده آلی و ماده آلی قابل هضم در ماده خشک همبستگی منفی و معنی داری وجود دارد.

اما تانن متراکم به عنوان دیگر ترکیب ضد تغذیه ای تنها با قابلیت هضم ماده خشک همبستگی مثبت (۰/۵۵) داشت.

جدول ۴- همبستگی میان ترکیبات شیمیایی و قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و ماده آلی در ماده خشک به روش تیلی و تری

	تانن متراکم	β-ODAP	پروتئین خام	دیواره سلولی	دیواره سلولی بدون همی سلولز
قابلیت هضم ماده خشک	**۰/۵۵	NS-۰/۲۰	NS۰/۲۹	NS-۰/۰۱	NS-۰/۱۶
قابلیت هضم ماده آلی	NS۰/۲۳	*-۰/۴۷	NS۰/۰۷	NS۰/۱۲	NS-۰/۲۲
ماده آلی قابل هضم در ماده خشک	NS۰/۳۰	*-۰/۴۸	NS۰/۱۲	NS۰/۱۱	NS-۰/۲۲

*: معنی دار در سطح آماری $p<۰/۰۵$ ، **: معنی داری در سطح آماری $p<۰/۰۱$ می باشد. NS: عدم وجوداختلاف معنی دار ($p>۰/۰۵$)

برآورد انرژی قابل متابولیسم با استفاده از روش های مختلف

در جدول ۶ مقادیر انرژی قابل متابولیسم برآورد شده با استفاده از روش های مختلف برون تنی نشان داده شده است. میزان انرژی قابل متابولیسم علوفه خلر مورد آزمایش با استفاده از روش تولید گاز بر اساس غلظت پروتئین خام، ۸/۵۲ (مگا ژول در کیلو گرم ماده خشک) بود.که کمتر از انرژی قابل متابولیسم علوفه یونجه۹/۶ (مگا ژول در کیلو گرم ماده خشک) (Taghizadeh et al., 2008) در تحقیقی که Smulikowska et al. (2008) انجام دادند انرژی قابل متابولیسم ژنوتیپ های مختلف علوفه خلر را براساس روش درون تنی بین ۷/۲ تا ۹/۸ مگا ژول در کیلو گرم ماده خشک برآورد کردند. که از میان روش های مختلف برون تنی مورد استفاده، مقدار انرژی قابل متابولیسم به دست آمده با استفاده از روش تولید گاز بر اساس غلظت پروتئین خام ۸/۵۲ (مگا ژول در کیلو گرم ماده خشک) در این دامنه قرار دارد.

در مطالعه Razm azar et al. (2011) میزان انرژی قابل متابولیسم علوفه خلر (با ۱۴/۹۹ درصد پروتئین خام در ماده خشک) بر اساس روش تولید گاز ۷/۸۶ (مگا ژول در کیلو گرم ماده خشک) برآورد شد که در دامنه انرژی قابل متابولیسم به دست آمده بر اساس روش تولید گاز، در تحقیق حاضر (۶/۸۶ تا ۸/۵۲ مگا ژول در کیلو گرم ماده خشک) قرار دارد.

در روش محاسبه انرژی قابل متابولیسم با استفاده از ترکیب شیمیایی اختلاف معنی داری میان فرآوری ها دیده نشد. در صورتی که در روش تولید گاز، کلیه فرآوری ها توانسته اند سبب افزایش معنی داری در میزان انرژی قابل متابولیسم نسبت به شاهد شوند ($P<۰/۰۵$). در هر سه روش محاسبه انرژی قابل متابولیسم که از مقادیر گاز تولیدی در ساعت ۲۴ استفاده شده بود بیشترین مقادیر انرژی قابل متابولیسم مربوط به فرآوری های آب و پلی اتیلن گلیکول بود که با نتایج به دست آمده از حجم گاز تولیدی انطباق داشت (جدول ۵) . در روش تیلی و تری نیز تنها فرآوری سدیم هیدروکسید توانست سبب افزایش معنی دار انرژی قابل متابولیسم نسبت به شاهد شود ($P<۰/۰۵$).

مقایسه میانگین انرژی قابل متابولیسم بر اساس روش های مختلف برون تنی در هرفرآوری در جدول ۶ ارائه شده است. با مقایسه اعداد مشاهده می شود که مقادیر به دست آمده با استفاده از روش های تیلی و تری و ترکیب شیمیایی نسبت به روش تولید گاز دارای مقادیر بالاتری بوده اند که بر خلاف نتایج مطالعه Razm azar et al.(2011) است.

که دلیل آن می تواند تفاوت در مقدار پروتئین و ترکیبات ضد تغذیه ای (در مطالعه Razm azar et al.(2011) گزارش نشده است) علوفه خلر موررد آزمایش در دو مطالعه باشد. وجود اختلاف میان روش های تیلی وتری (Tilley & Terry , 1963) و تولید گاز می تواند

به دلیل تفاوت در میزان برآورد شده ماده آلی قابل هضم در ماده خشک باشد.

جدول۵- کینتیک تولید گاز در اثر فرآوری های مختلف علوفه خلر در ساعات مختلف (درصد)

زمان تولید گاز (ساعت)	نوع فرآوری									
	شاهد	آب	پتاسیم پرمنگنات	پلی اتیلن گلیکول	خاکستر چوب	سدیم بیکربنات	سدیم هیدروکسید	S.E.M.	سطح معنی داری
۲۴	^{e}۲۵/۱۲	^{b}۴۱/۷۶	^{c}۴۰/۲۹	^{a}۴۳/۱۰	^{d}۳۷/۶۷	^{c}۴۰/۳۵	^{c}۴۰/۹۴	۰/۱۰۳	***
۴۸	^{e}۳۰/۴۴	^{b}۴۶/۵۵	^{c}۴۵/۴۱	^{a}۴۷/۹۶	^{d}۴۱/۴۳	^{c}۴۵/۳۷	^{bc}۴۶/۱۳	۰/۱۰۳	***

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار می باشند. *** P<۰/۰۰۱ ؛ S.E.M. : میانگین خطای استاندارد

جدول۶- مقایسه میانگین انرژی قابل متابولیسم بر اساس روش های مختلف برون تنی (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک) در هرفرآوری

فرآوری	شاهد	آب	پتاسیم پرمنگنات	پلی اتیلن گلیکول	خاکستر چوب	سدیم بیکربنات	سدیم هیدروکسید
ترکیب شیمیایی [1]	^{b}۱۰/۷۶	^{b}۱۰/۶۹	^{b}۱۰/۷۹	^{a}۱۰/۳۶	^{b}۱۰/۵۰	^{a}۱۰/۲۸	^{b}۱۰/۳۱
تولید گاز[2]	^{c}۸/۵۲	^{ab}۱۱/۴۸	^{b}۱۰/۷۵	^{a}۱۰/۹۶	^{c}۹/۶۹	^{a}۱۰/۱۳	^{b}۱۰/۵۱
تولید گاز[3]	^{d}۶/۹۹	^{c}۹/۴۷	^{c}۹/۰۸	^{b}۹/۴۰	^{d}۸/۴۹	^{b}۸/۸۹	^{c}۹/۰۶
تولید گاز[4,5]	^{d}۶/۸۶	^{c}۹/۲۱	^{c}۸/۸۸	^{b}۹/۱۷	^{d}۸/۶۴	^{b}۸/۴۴	^{c}۸/۹۳
تیلی و تری[6]	^{a}۱۲/۰۳	^{a}۱۲/۲۷	^{a}۱۲/۲۵	^{b}۹/۳۹	^{a}۱۲/۱۷	^{a}۱۰/۳۰	^{a}۱۳/۰۶
S.E.M.	۰/۰۹۶	۰/۰۹۷	۰/۰۸۹	۰/۰۹۲	۰/۰۸۸	۰/۰۹۴	۰/۰۷۸

حروف غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح آماری p<۰/۰۵ می باشند. S.E.M. : میانگین خطای استاندارد

1) ME(MJ/Kg DM)= 15.33 - 0.0152 mADF (gr/Kg DM)
2) ME =2.2+0.136 GP_{24} +0.057 CP + 0.0029 CP^2
3)ME =2.2+0.136 GP_{24} +0.057 CP + 0.0029 CF^2
4) OMD =14.88+0.889 GP_{24} + 0.45 CP +0.0651 ash%
5) %DOMD = %OMD × %OM
6) ME= 0.0157 DOMD

با توجه به این که در برخی از فرمول های مورد استفاده برای برآورد انرژی قابل متابولیسم به روش تولید گاز از مقادیر گاز تولیدی در ساعت ۲۴ استفاده می شود و با توجه به اینکه علوفه خلر دارای پروتئین بالایی می باشد، احتمالا تجمع گاز کربنیک تولیدی در محیط،سبب شده تا میزان ماده آلی قابل هضم و در نتیجه میزان انرژی برآورد شده در روش تولید گاز پائین تر از سایر روش ها باشد(Cone et al., 1999) . ولی با توجه به اینکه بین غلظت پروتئین و میزان انرژی قابل متابولیسم محاسبه شده به کمک روش تولید گاز همبستگی منفی وجود ندارد (جدول ۷) این احتمال ضعیف است. با توجه به نتایج جدول ۷ تأثیر ترکیب ضد تغذیه ای β-ODAP بر میزان انرژی قابل متابولیسم محاسبه شده به کمک روش تولید گاز در محیط مورد

آزمایش بیشتر از اثر پروتئین می باشد که در نتیجه تأثیر غلظت ترکیبات ضد تغذیه ای بر انرژی قابل متابولیسم بیشتر مورد بررسی قرار می گیرد.

جدول ۷- همبستگی میان ترکیبات شیمیایی و انرژی قابل متابولیسم بر اساس روش های مختلف و مصرف ماده خشک

روش های برآورد انرژی قابل متابولیسم	ترکیب شیمیایی [1]	تولید گاز [2]	تولید گاز [3]	تولید گاز [4,5,6]	تیلی و تری [6]
تانن متراکم	۰/۱۰ NS	-۰/۲۲ NS	-۰/۳۳ NS	-۰/۲۶ NS	۰/۳۰ NS
β-ODAP	۰/۱۹ NS	-۰/۶۵ **	-۰/۶۵ **	-۰/۷۰ ***	-۰/۴۷ *
پروتئین خام	-۰/۴۱ NS	۰/۶۴ **	۰/۳۵ NS	۰/۳۳ NS	۰/۱۲ NS
دیواره سلولی	-۰/۸۷ ***	۰/۲۴ NS	۰/۲۰ NS	۰/۲۶ NS	۰/۱۱ NS
دیواره سلولی بدون همی سلولز	-۰/۹۹ ***	۰/۴۵ *	۰/۳۷ NS	۰/۳۸ NS	-۰/۲۲ NS

*: معنی دار در سطح آماری $p<۰/۰۵$ ، **: معنی داری در سطح آماری $p<۰/۰۱$ ، ***: معنی داری در سطح آماری $p<۰/۰۰۱$ می باشد. NS: عدم وجوداختلاف معنی دار ($p>۰/۰۵$)

1) ME(MJ/Kg DM)= 15.33 - 0.0152 mADF (gr/Kg DM)
2) ME =2.2+0.136 GP_{24} +0.057 CP + 0.0029 CP^2
3)ME =2.2+0.136 GP_{24} +0.057 CP + 0.0029 CF^2
4) OMD =14.88+0.889 GP_{24} + 0.45 CP +0.0651 ash%
5) %DOMD = %OMD × %OM
6) ME= 0.0157 DOMD

در جدول ۷ مشاهده می شود که میزان تانن متراکم اثر منفی (هرچند غیر معنی دار) بر میزان انرژی قابل متابولیسم محاسبه شده به کمک روش تولید گاز دارد ولی این اثر در روش تیلی و تری دیده نمی شود. در نهایت می توان این گونه نتیجه گرفت که فن تولید گاز نسبت به دو روش دیگر روش مناسبتری برای اندازه گیری انرژی قابل متابولیسم علوفه خلر است.

نتایج جدول ۷ نشان می دهد که از دو ترکیب ضد تغذیه ای تنها β-ODAP دارای همبستگی منفی و معنی دار با مقادیر انرژی قابل متابولیسم بوده است و چنین همبستگی معنی داری میان غلظت تانن متراکم و مقادیر انرژی قابل متابولیسم محاسبه شده با روش های مختلف برون تنی دیده نشد. با توجه به این نتایج می توان این گونه نتیجه گیری کرد که غلظت تانن متراکم موجود در علوفه خلر به حدی زیاد نیست که بتواند بر رو قابلیت هضم ماده آلی و به تبع آن بر مقادیر انرژی قابل متابولیسم تأثیر بگذارد. مقادیر دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی سلولز با انرژی قابل متابولیسم محاسبه شده براساس ترکیب شیمیایی همبستگی منفی و معنی داری داشتند.

عدم مشاهده همبستگی معنی دار بین دیواره سلولی ،دیواره سلولی بدون همی سلولز با انرژی قابل متابولیسم محاسبه شده براساس روش تولید گاز با نتایج Larbi et al. (1998) در تضاد است. با توجه به نتایج جدول ۸ ، میان هر سه روش محاسبه انرژی قابل متابولیسم، که براساس میزان گاز تولیدی در ساعت ۲۴ محاسبه شده اند، همبستگی بالایی وجود دارد. اما چنین همبستگی میان این سه روش و روش های بر اساس ترکیب شیمیایی و تیلی و تری دیده نشد. بین مقادیر برآورد شده به وسیله روش قابلیت هضم برون تنی و سایر روش ها همبستگی معنی داری وجود ندارد. در کل با توجه به نکات ذکر شده در مورد دو روش تولید گاز و قابلیت هضم برون تنی و ضعف روش ترکیبات شیمیایی در نشان دادن اثر ترکیبات ضد تغذیه ای بر انرژی قابل متابولیسم، به نظر می رسد که روش محاسبه انرژی قابل متابولیسم براساس فن تولید گاز مناسب ترین روش

بـــرون تنـــــی بـــرای محـــاسـبـــــه انـــرژی قـــــابل متـــابولیسم علوفـــه خلـــر می باشد.

جدول ۸- مقادیر ضرایب همبستگی میان روش های مختلف برآورد انرژی قابل متابولیسم

	تولید گاز[۲]	تولید گاز[۳]	تولید گاز[۴،۵،۶]	تیلی و تری[۶]
ترکیب شیمیایی[۱]	*-۰/۴۵	NS-۰/۳۷	NS-۰/۳۸	NS۰/۲۲
تولید گاز[۲]	۱	***۰/۹۵	***۰/۹۲	NS-۰/۱۴
تولید گاز[۳]		۱	***۰/۹۸	NS-۰/۲۲
تولید گاز[۴،۵،۶]			۱	NS-۰/۱۳

*: معنی دار در سطح آماری $p<۰/۰۵$ ، ***: معنی داری در سطح آماری $p<۰/۰۰۱$ می باشد. NS: عدم وجوداختلاف معنی دار ($p>۰/۰۵$)

1) ME(MJ/Kg DM)= 15.33 - 0.0152 mADF (gr/Kg DM)
2) ME =2.2+0.136 GP_{24} +0.057 CP + 0.0029 CP^2
3)ME =2.2+0.136 GP_{24} +0.057 CP + 0.0029 CF^2
4) OMD =14.88+0.889 GP_{24} + 0.45 CP + 0.0651 ash%
5) %DOMD = %OMD × %OM
6) ME= 0.0157 DOMD

نتیجه گیری کلی

با توجه به بالا بـودن میـزان پـروتئین خـام، درصـد کاهش ترکیب ضد تغذیه ای β-ODAP و میـزان انـرژی قابل متابولیسم دو فرآوری سدیم هیدروکـسید و آب بـه عنوان بهترین روش فرآوری علوفه خلـر در نظـر گرفتـه شدند.

علاوه بر این با توجه به توانایی روش تولید گاز در نشان دادن تأثیر ترکیبات ضد تغذیه ای بـر هـضم مـواد مغذی و در نهایت انرژی قابل متابولیسم علوفه خلـر، بـه نظر می رسد که استفاده از فن تولید گاز برای محاسبه انرژی قابل متابولیسم علوفه خلر نسبت به دو روش دیگر مناسب تر باشد.

معرفی نمادها

Ash : خاکستر؛ CF :چربـی خـام ؛ CP: میـزان پـروتئین خام؛ DOMD: قابلیت هضم ماده آلی در مـاده خـشک؛ GP24: مقدار گاز تولیدی در ساعت ۲۴؛ mADF :دیواره سلولی بدون همی سـلولز اصـلاح شـده ؛OMD: قابلیـت هضم ماده آلی OM: ماده آلـی ؛ β-ODAP: اگزالیـل دی آمینو پروپیونیک اسید

REFERENCES

1. Agricultural & Food research Council. (AFRC) (1995) Energy and Protein requirements of ruminants. Technical committee on Responses to nutrients. CAB International. Wallingford, U.K.
2. Akalu G., Johansson G., & Nair B. M. (1998) Effect of processing on the content of β-N-oxalyl-α,β-diaminopropionic acid (β-ODAP) in Grass Pea (*Lathyrus sativus*) seeds and flour as determined by flow injection analysis. *Food Chemistry*, 62, 233-237.
3. AOAC (2000) In: Horwotz, W. (Ed.), Official Methods of Analysis of the AOAC International, 17th Edition, Vols.1 and 2. AOAC International, Gaitherburg, MD, USA.
4. Ben Salem H., Abidi S., Makkar H. P. S. & Nefzaoui A. (2005) Wood ash treatment, a cost-effective way to deactivate tannins in *Acacia cyanophylla Lindl*. foliage and to improve digestion by Barbarine sheep. *Animal Feed Science & Technology*, 122, 93-108.
5. Campbell C.G., Mehra R.B., Agrawal S.K., Chen Y.Z., Abd El Moneim A., Khawaja H.I.T., Yadov C.R., Yay J.U. & Araya W.A. (1994) Current status and future reseaech strategy in breeding grass pea (*Lathyrus sativus*). *Euphytica*, 73,167-175.

6. Canbolat O., Tamer E. & Acikgoz E. (2007) Chemical composition, metabolizable energy and digestibility in pea seeds of differing testa and flower colors. *Journal of Biological and Environmental Science*s, 1(2), 59-65.
7. Cone W. J., Anthonie H. & Gelder V. (1999) Influence of protein fermentation on gas production profiles. *Animal Feed Science & Technology*, 76, 251-264.
8. Deshpande S. S. & Campbell C. G. (1992) Genotype variation in BOAA, condensed tannins, phenolics and enzyme inhibitors of grass pea (*Lathyrus sativus*). *Canadian Journal of Plant Science*, 72,1037-1047.
9. Hanbury C. D., White C. L., Mullan B. P. & Siddique K. H. M. (2000) A review of the potential of *Lathyrus sativus L.* and *L. cicera L.* grain for use as animal feed. *Animal Feed Science & Technology*, 87, 1–27.
10. Kaul L. C., Islam M. Q. & Begum K. (1982) Variability for various agronomic characters and neurotoxin content in some cultivars of khesari (*Lathyrus sativus* L.) in Bangladesh. *Bangladesh Journal of Botany*, 11, 158-167.
11. Lambein F., Haque R., Khan J. K., Kebede N. & Kuo Y. H. (1994) Fromsoil to brain:zinc deficiency increases the neurotoxicity of Lathyrus sativus and may affect the susceptibility for the motorneurone disease neurolathyrism. *Toxicon*, 32,461–466.
12. Larbi A., Smith J.W., Kurdi I.O., Adekunle I.O., Raji A.M. & Ladipo D.O. (1998) Chemical compositon, and gas production characteristics of some multipurpose fodder trees and shrubs during wet and dry seasons in humid tropics. *Animal Feed Science & Technology*, 72,81-96.
13. Makkar H. P. S. & Singh B. (1992) Detannification of oak (*Quercus incana*) leaves, treatments and their optimization. *Animal Feed Science & Technology* , 36, 113-127.
14. 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.
15. Makkar, H. P. S. (2000) Quantification of tannins in tree foliage: A laboratory manual for the FAO/IAEA Co-ordinated research project on ‘Use of nuclear and related techniques to develop simple tannin assays for predicting and improving the safety and efficiency of feeding ruminants on tanniniferous tree foliage'. Vienna, Austria: IAEA.
16. Menke K. H., Raab L., Salewski A., Steingass H., Fritz D. & Schneider W. (1979) The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor. *Journal of Agricultural Science*, 93, 217–222.
17. Mlambo V., Mould F. L., Sikosana J. L. N., Smith T., Owen E. & Mueller-Harvey I. (2008) Chemical composition and *in vitro* fermentation of tannin-rich tree fruits. *Animal Feed Science & Technology*, 140, 402-417.
18. Ørskov E. R. & McDonald I. (1979) The estimation of protein degradability in th rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science*, 92, 499–503.
19. Poland C., Faller T. & Tisor L. (2003) Effect of chickling vetch (*Lathyrus sativus L.*) or alfalfa (*Medicago sativa*) hay in gestating ewe diets. North Dakota State University.
20. Priolo A., Waghorn G. C., Lanza M., Biondi L. & Pennisi P. (2000) Polyethylene glycol as a means for reducing the impact of condensed tannins in carob pulp: Effects on lamb growth performance and meat quality. *Journal of Animal Science*, 78, 810–816.
21. Razm azar V., Torbatinejad N. M., Seyfdavati J., & Hassani S. (2011) Nutritive Evaluation of Vicia sativa, Lathyrus sativus and Vicia ervilia Forage through Chemical and Gas Production Techniques. *Iranian Journal of animal Science*, 42(1), 85-93.
22. SAS (2002) Version9.1 SAS/STAT user`s guide. Statistical Analysis Systems Institute, Cary,NC,USA.
23. Smulikowska S., Rybinski W., Czerwinski J., Taciak M. & Mieczkowska A. (2008) Evaluation of selected mutants of grass pea (*Lathyrus sativus L.*) var Krab as an ingredient in broiler chicken diet. *Journal of Animal and feed Science*, 17, 75–87.
24. Srivastava S. & Khokhar S. (1996) Effects of processing on the reduction of β-ODAP (β-N-oxalyl-L-2, 3-diaminopropionic acid) and anti-nutrients of Khesari Dhal, Lathyrus sativus. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 71, 50-58.
25. Taghizadeh A., Safamehr A., Palangi V. & Mehmannavaz Y. (2008) The Detennination of Metabolizable Protein of Some Feedstuffs Used in Ruminant. *Research Journal of Biological Sciences*, 3 (7), 804-806.
26. Tarade K. M., Singhal R. S., Jayram R. V. & Pandit A. B. (2007) Kinetics of degradation of ODAP in *Lathyrus sativus L.* flour during food processing. *Food Chemistry*, 104, 643–649.
27. Terril T. H., Douglas G. B., Foote A. G., Purchas R. W., Wilson G. F. & Barry T. N. (1992) Effect of condenced tannins upon body growth,wool growth and rumen metabolism in sheep grazing

sulla(*Hedysarum coronarium*) and perennial pasture. *Journal of Agriculture Science (Cam)*, 119,265-273.

28. Tilley J. M. A. & Terry R. A. (1963) A two stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *British Journal of nutrition*, 18,104-111.
29. Van Soest P. J., Robinson J. B. & Lewis B. A. (1991) Methods for dietary fibre, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583–3597.
30. Vermerris W. & Nicholson R. (2006) Phenolic Compound Biochemistry. Springer. Dordrecht, Netherland. p.24.