نشریه علمی، ترویجی موسسه تحقیقات علوم دامی‌کشور
فصلنامه تحقیقات کاربردی در علوم دامی
شماره ۱۲، پاییز ۱۳۹۳
ص‌ص: ۸۵~۹۴

اثر اسیدهای پروپیونیک و استیک بر حفظ ارزش غذایی یونجه مرطوب (۳۰ درصد) طی نگهداری

- **حسن فضائلی** (نویسنده مسئول)
  استاد، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور
- **عبدالحسین معیر ، حسین شفیعی ورزنه ، علی فرهپور**
  پژوهشگران مرکز تحقیقات کشاورزی ومنابع طبیعی استان همدان

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۲۲۶۲۱۳۸۵

E-mail:hfazaeli@gmail.com

چکیده:

این آزمایش به منظور بررسی اثرات اسید های آلی بر حفظ ارزش غذایی علف یونجه با رطوبت ۳۰ درصددر قالب طرح کرت های خرد شده در زمان با چهارتیمار شامل ۱) شاهد بدون استفاده از اسید، ۲) اسید پروپیونیک خالص به نسبت ۱ درصد، ۳) اسید استیک خالص به نسبت ۳ درصد، ٤) مخلوط دو اسید با نسبت ۰/۸ درصد پروپیونیک و ۰/٦ درصد استیک (براساس درصد وزنی یونجه حاوی ۳۰ درصد رطوبت) در چهار تکرار انجام شد. از یونجه بسته بندی شده درهر تیمار در روزهای اول، ٤٥ و ۹۰ پس از انبار کردن نمونه برداری به عمل آمد و نمونه ها از نظر کپک زدگی، محتوی پروتئین خام، الیاف خام و قابلیت هضم آزمایشگاهی برای ماده خشک، ماده آلی و برآورد ارزش هضمی مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که غلظت پروتئین خام نمونه ها در تیمار ها ی مختلف بین ۱۳/۳۷ تا ۱٤/۱۳ درصد در روز اول بود که تفاوت بین آنها معنی دار نبود. از نظر الیاف خام نیز تفاوت معنی داری بین تیمارها مشاهده نشد. بررسی ها نشان داد که تیمارهای ۱، ۲، ۳ در زمان ٤٥ روز پس از بسته بندی، به کپک آلوده شده بودند. غلظت پروتئین خام و الیاف خام از زمان بسته بندی تا ٤٥ و یا ۹۰ روزتحت تاثیر تیمار و یا زمان نمونه برداری قرار نگرفت. قابلیت هضم ماده خشک بین ٦۲/٤۹ تا ٦۷/۲۳ درصد و قابلیت هضم ماده آلی بین ٥٦/٥۹ تا ٦٥/۳۷ درصد متغیر بود که تحت تاثیر طول مدت انبار کردن قرار نگرفت. به طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که مصرف اسید پروپیونیک و یا اسید استیک به تنهایی نتوانست سبب حفظ کیفیت یونجه بسته‌بندی شده با رطوبت ۳۰ درصد گردد، اما مخلوط دو اسید مزبور سبب جلوگیری از کپک زدگی و حفظ ارزش غذایی یونجه شد.

واژه‌های کلیدی: یونجه، اسیدهای آلی، زمان انبار داری، ارزش غذایی.

Applied Animal Science Research Journal No 12 pp: 85-94

The Effect of propionic and acetic acid on the nutritive value of alfalfa (30% moisture) during storage

By:, Abdolhossein Moayyer[1] , Hassan Fazaeli[2], Hossein Shafie-varzaneh[1] , Ali Farahpour[1]
1: Research Staff of Agricultural Research enteral Hamedan Province.
2: Animal Science Research Institute, Karaj, Iran (Tel: +989122621385 E-mail: hfazaeli@gmail.com) .

This study was conducted to study the effect of organic acids on the preservation of alfalfa nutritional value after harvesting. A split plot design with 4 treatments and 3 times was conducted in which organic acids were sprayed on the 30 percent moisture content forage before baling. Treatments were: 1) forage without additives as control, 2) pure propionic acid, 1percent, 3) acetic acid percent 3 percent, 4) a mixture of propionic (0.8) and acetic (0.6). The forage was sampled at 1, 45 and 90 days of baling for chemical composition, *in vitro* digestibility and fungal contamination. Results indicated that CP ranged 13.37-14.13 percent at first day of baling that were not significantly varied among the treatments. The treatments 1, 2 and 3 were contaminated with fungi when they were tested at 45 days of baling; therefore they were not sampled thereafter for more studies. There were no significant differences between the remainder treatments or between the times for CP and CF content when they were sampled at 45 or 90 days after baling. The *in vitro* digestibility's of dry matter and organic matter were between 62.49 to 67.23 and 56.59 to 65.37 percent that were not significantly different among the times (1 and 45 days). In addition, no significantly differences were observed for digestibility of organic matter in dry matter. In conclusion, Propionic or Acetic acid could not preserve the forage contained 30 percent moisture when they were used alone but the mixture of two acids kept the forage from contamination.

Key words: alfalfa, organic acids, storage time, nutritive value.

مقدمه

یونجه با نام علمی مدیکاگو ساتیوا (Medicago sativa) در اغلب مناطق جهان گسترش یافته و از آن به عنوان ملکه علوفه نام برده شده که از نظر محتوی پروتئین، کلسیم و خوش خوراکی در زمره گیاهان علوفه ای برتر محسوب می شود (۷). سطح زیر کشت یونجه در جهان حدود ۳۳ میلیون هکتار برآورد می شود (۳۱). در ایران سطح زیر کشت یونجه در حدود ۵۵۰ هزار هکتار و استان همدان به دلیل داشتن شرایط مناسب اقلیمی از جمله مناطق مستعد کشت یونجه در کشور بوده، به طوری که حدود ۳۹۵۵۴ هکتار از زمین‌های این استان به کشت یونجه اختصاص یافته و سالانه بیش از ۴۶۰ هزار تن علوفه خشک از این زراعت به دست می آید (۳).

ارزش غذایی یونجه، تحت تاثیر عوامل مختلفی قرار می گیرد که در بین آنها، عوامل مکانیکی در حین عملیات برداشت، بیشترین تاثیر را دارد به نحوی که موجب کاهش ماده خشک و افت ارزش غذایی آن می شود. اتلاف در میزان ماده خشک وارزش غذ ایی یونجه از زمان برداشت تا مرحله مصرف در حدود۲۴ تا ۵۴ درصد گزارش شده است (۶). بر اساس تحقیقات انجام شده اتلاف مواد مغذی یونجه از زمان درو تا زمان مصرف در سه چین زراعی و در دو قطب یونجه کاری همدان (فامنین و قهاوند) ۲۶ درصد گزارش شد که بیشترین آن (به ویژه پروتئین خام) مربوط به مرحله ردیف کردن علوفه درو شده با استفاده از ماشین ردیف کن می باشد (۴، ۸). هم چنین در تحقیقات دیگر، مشخص شد که بیشترین میزان اتلاف مواد مغذی یونجه عمدتاً در مراحل ردیف کردن و بسته بندی اتفاق می افتد، به طوری که کاهش ماده خشک ۳۳ ، پروتئین خام ۴۴ و مجموع مواد مغذی قابل هضم[1] ممکن است تا۴۰درصد از محصول تولید شده برسد (۱۱، ۱۲). آلودگی به قارچ ها و کپک ها نیز از دیگر عوامل موثر بر کاهش کیفیت و ارزش تغذیه ای یونجه محسوب می شود که مهم ترین آنها شامل

[1]-TOTAL DIGESTIBLE NUTRIENTS

آسپرژیلوس ها، پنیسیلیوم ها و موکور ها می باشند (۱۴).
جهت پیشگیری از اتلاف برگ ها، لازم است، علوفه درو شده با رطوبت نسبتاً بالاتری بسته بندی شود اما بالا بودن رطوبت (بیشتر از ۱۸ درصد) سبب کپک زدگی یونجه بسته بندی شده می گردد (۱۱). به منظور حفظ ارزش غذایی علوفه بسته بندی شده حاوی رطوبت بالا در مقابل آلودگی های مزبور می توان از مواد نگهدارنده استفاده نمود. از جمله مواد نگهدارنده ای که کشاورزان در گذشته به منظور جلوگیری از کپک زدگی در بسته بندی علوفه با رطوبت بالا استفاده می کردند می توان به نمک، نمک های اسیدی و اوره اشاره نمود. درسال های اخیر نیز کاربرد اسیدهای آلی به عنوان مواد نگهدارنده برای علف یونجه مورد بررسی قرار گرفته است (۱۷). استفاده از اسیدهای آلی موجب جلوگیری از رشد قارچ‌ها در بسته های یونجه می شود اما پس از ۴ الی ۶ ماه اثر آن از بین می رود و درصورتیکه رطوبت یونجه همچنان بالا باشد، قارچ ها بعد از مدت مذکور می توانند رشد کنند (۲۳). مقداراستفاده اسید پروپیونیک و مشتقات آمونیم پروپیونات درعلوفه با رطوبت ۳۰ درصد در حدود ۱۲ کیلوگرم در تن پیشنهاد شده است (۲۰).
پژوهش گران جهت کاهش اتلاف مواد مغذی علوفه بسته بندی شده با رطوبت بالا از مخلوط اسید استیک و اسید پروپیونیک وهمچنین اسید پروپیونیک خالص به تنهایی استفاده نموده و گزارش دادند که برای علوفه ای با رطوبت ۲۰ تا ۲۴ درصد به میزان نیم درصد و برای رطوبت۲۵ تا ۲۹درصد به مقدار یک درصد (بر اساس ماده خشک) اسید پروپیونیک مورد نیاز می باشد (۱۷). در آزمایش دیگری نیز با استفاده از اسید پروپیونیک و اسید استیک نتایج مشابهی گزارش شده است (۲۶). هم چنین گزارش شده است که استفاده از مواد نگهدارنده مانند اسید پروپیونیک و مخلوط بافرهای اسیدی در مرحله بسته بندی یونجه، با رطوبت ۲۰ تا ۲۵ درصد، موجب افزایش کیفی وکمی تولید به میزان ۷ درصد می‌گردد (۲۷).
تزریق اسید پروپیونیک بانسبت های صفر، ۰/۵ و ۱ درصددر داخل بسته های یونجه حاوی ۲۰،۲۵و۳۰ درصد رطوبت اثر مطلوبی بر حفظ ارزش تغذیه ای و جلوگیری از کپک زدگی یونجه داشته است (۱۸). به هر صورت، یونجه از مهم ترین اقلام علوفه ای کشور محسوب می شود که در گاوداری ها اغلب به صورت خشک مورد مصرف قرار می گیرد. این علوفه دارای ارزش غذایی نسبتا بالایی می باشد، لیکن طی فرآیند خشک کردن وبسته بندی در مزرعه، به دلیل ریزش برگ ها، بخش زیادی از مواد مغذی آن تلف می شود که خسارت اقتصادی عظیمی را به کشور وارد می سازد. بنا بر این چاره اندیشی جهت به حد اقل رسانیدن ضایعات این محصول امری ضروری محسوب می شود. هدف از انجام پژوهش حاضر، بسته بندی علوفه یونجه قبل از خشک شدن کامل (با ۳۰ درصد رطوبت) جهت جلوگیری از اتلاف برگ ها بود، اما از آن جایی که امکان سالم ماندن علوفه مرطوب وجود ندارد، در این پژوهش اثر افزودن اسید های استیک، پروپیونیک و مخلوطی از این دو اسید بر حفظ ارزش غذایی یونجه مرطوب مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش ها

یک قطعه یک هکتاری از مزارع زیر کشت یونجه در حومه همدان انتخاب شد و عملیات آزمایش در چین دوم مزرعه مزبور صورت گرفت. یک هفته پیش از دروکردن علوفه، از مزرعه مزبور نمونه برداری اولیه انجام گرفت.
بدین منظور با استفاده از کادرهای مربعی شکل (۰/۵ × ۰/۵متر) ۹ نقطه به صورت قطری در قسمت های مختلف مزرعه پلات اندازی شد (۱، ۲، ۱۱). بوته های قسمت وسط کادر شمارش و بر اساس تعداد بوته های دارای گل، مرحله رشد گیاه مشخص، و پس از ثبت مشخصات بر روی کارت های مخصوص، بوته های داخل هر کادر از فاصله پنج سانتی متری سطح خاک با قیچی باغبانی چیده شد. برای به حداقل رسانیدن تبخیر، هر نمونه در داخل دو کیسه نایلونی قرارداده شد و بلافاصله به آزمایشگاه تغذیه دام مرکز تحقیقات کشاورزی استان همدان منتقل گردید (۵، ۹).
پس از تعیین وزن ماده خشک در برگ و ساقه از طریق تقسیم نمودن وزن خشک برگ به وزن خشک ساقه، نسبت برگ به ساقه در مرحله اول (گیاه سبز یونجه) مشخص شد.

برآورد رطوبت یونجه پس از درو: به منظور تعیین تغییرات یونجه پس از درو، دو روز قبل از شروع آزمایش اصلی، قطعه ای به ابعاد ۱۰×۱۰ متر مربع در مزرعه مزبور انتخاب وبراساس عرف محل،علف یونجه چیده شد و به صورت ردیفی در زمین قرار گرفت.آنگاه به فاصله زمانی هر دو ساعت یک بار از علف ردیف شده نمونه گیری به عمل آمد (جمعاً ۶ نوبت).سپس نمونه ها در داخل آون ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. هم چنین به طور هم زمان جهت اندازه گیری یونجه ردیف شده از دستگاه رطوبت سنج (هیگرومترمدل DRAMINSKI HMM ساخت فرانسه) استفاده گردید.

آزمایش اصلی: در این مرحله، کل مزرعه انتخاب شده با استفاده از ماشین درو کن (کششی مدل دو بشقابی پرچین کار ایران مودل ۱۶۵ سانتیمتر) درو شد. سه ردیف از یونجه درو شده (هر ردیف با وزن تقریبی ۱۶۰۰کیلوگرم) انتخاب شد. هر ردیف نیز به چهار قسمت تقسیم گردید و هر قسمت به صورت تصادفی به یکی از تیمار ها ی چهار گانه به شرح زیر اختصاص یافت (۲۳، ۲۶):

۱) شاهد (بدون مواد محافظت کننده)،

۲) اسید پروپیونیک (با خلوص ۹۹ درصد) به میزان ۱ درصد وزنی یونجه.

۳) اسید استیک (با خلوص ۹۹ درصد) به میزان ۳ درصد وزنی یونجه.

۴) مخلوط اسید استیک و پروپیونیک، با نسبت ۴ به ۳ به میزان یک درصد وزنی یونجه استفاده شد.

زمانیکه رطوبت یونجه درو شده در مزرعه به ۳۰ درصد رسید، محلول اسید های مورد نظر که با آب به نسبت مساوی مخلوط شده بود با استفاده از سمپاش(مدل کتابی پشتی سولو ۴۲۵)به طور یکنواخت بر روی یونجه پاشیده و بلافاصله توسط دستگاه بیلر (مکعب مستطیلی مدل کلاس ۵۵ آلمان)بسته بندی شد.

یونجه‌های بسته بندی شده بر اساس عرف محل، به مدت ۴۸ ساعت در مزرعه رها و سپس به انبار مسقف نیمه باز انتقال داده شد که بلا فاصله پس از چیدن بسته ها در انبار از آنها نمونه برداری بعمل آمد. علاوه بر این، عملیات نمونه برداری ۴۵ روز و همچنین ۹۰ روز پس از انتقال به انبار تکرار شد.

بررسی های قارچ شناسی: قارچ های مورد بررسی شامل: موکور (*Mucor*) ، اسپرژیلوس (*Aspergillus*) و پنی سیلیوم (*Penicilium*) بود که برای شناسایی آن ها از هر نمونه مقدار ۵۰ گرم تهیه شد ودر ۵۰۰ میلی لیترآب مقطرسترون (که قبلا به آن تولئین ۲۰ به مقدار یک در هزار اضافه شده بود) به مدت ۳۰ دقیقه روی دستگاه شیکر مخلوط گردید. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسون حاصل روی بشقابک های حاوی محیط کشت های پی دی آ ، (PDA) سی ام آ (CMA) و سیزاپکس آگار(Czapeks agar) در چهار تکرارکشت داده شدند و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد آنکوباتور نگهداری شدند. پس از رشد کلنی قارچ های مختلف به خالص سازی و شناسایی آن ها بر اساس مشخصات ماکروسکوپی (شکل، رنگ پرگنه ونحوه رشد) و میکروسکوپی (وجود دیواره عرضی، ساختار اندام جنسی قارچ، اندازه اسپورها و آرایش آن ها) با استفاده از کلیدهای شناسایی شامل: گونه های پنی سیلوم (۲۲)، گونه های قارچ آسپرژیلوس (۲۴) و گونه های قارچ موکور (۱۳) اقدام گردید.

تعیین ترکیبات شیمیایی: نمونه های تهیه شده ابتدا، در شرایط اتاق خشک و سپس با آسیاب به قطعات یک میلی متری خردشدند. ماده خشک در دستگاه خشک کن با دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد تعیین گردید.

تجزیه تقریبی نمونه ها بر اساس روش های AOAC (۱۹۷۵) انجام گرفت (۱۰). پروتئین خام به روش کجلدال تعیین گردید. خاکستر خام با استفاده از کوره الکتریکی در دمای ۶۰۰-۵۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۶ ساعت اندازه گیری شد. الیاف خام نیز با جوشانیدن نمونه ها در اسید ۱/۲۵ درصد و سپس در باز ۱/۲۵ درصد و سپس صاف کردن و خاکستر گیری تعیین گردید (۱۰).

تعیین قابلیت هضم:

تعیین قابلیت هضم به صورت آزمایشگاهی و با استفاده از روش دو مرحله ای تیلی و تری (۳۰) انجام شد. مقدار هر نمونه مورد استفاده ۰/۵گرم بود که در ارلن مایر ۱۰۰ میلی لیتری مورد آزمایش قرار گرفت. محلول بافر مصنوعی نیز بر اساس روش مکدو گل (۱۹) تهیه و مورد استفاده قرار گرفت. مایع شکمبه نیز از گوسفندان دارای فیستولا ی شکمبه تهیه شد. مرحله اول به

مدت ۴۸ ساعت درحرارت ۳۹ درجه سانتی گراد (آب گرم) انجام شد.

در مرحله دوم، به هر یک از نمونه ها مقدار ۵۰ میلی لیتر محلول اسید کلریدریک و پپسین اضافه گردید و مجدداً به مدت ۴۸ ساعت در ۳۹ درجه سانتیگراد قرار داده شد تا فرایند هضم تکمیل گردد. آنگاه بخش محلول نمونه با استفاده از کاغذ صافی جدا شد و کاغذ صافی ها برای مدت ۲۴ ساعت در داخل خشک کن قرار گرفته و پس از خشک شدن توزین گردید تا وزن ماده باقی مانده بر روی کاغذ صافی به عنوان بخش هضم نشده مشخص گردد.

پس از آن کاغذ صافی حاوی نمونه در کوره الکتریکی با د مای ۶۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴ ساعت قرار گرفته تامحتوی خاکستر آن تعیین و سپس محتوی ماده آلی هضم نشده محاسبه گردد.

طرح و محاسبات آماری

مدل آماری این آزمایش طرح کرت های خرد شده در زمان بود. عامل اصلی تیمار تصادفی در چهار سطح و عامل فرعی زمان در سه سطح تعیین گردید. داده های به دست آمده با استفاده از نرم افزار آماری SAS (1996) و بر اساس مدل آماری زیر مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت (۲۸)

$$x_{ijk}=\mu+ \delta_i+ \delta_j +\varepsilon_{ij}+\delta_k+\delta_{jk}+\varepsilon_{ijk}.$$

که در این مدل : x_{ijk} = مقدار هر مشاهده

δ_i = اثر بلوک‌ها (اثرشیب زمین)

μ = میانگین جمعیت اصلی

δ_k = A اثر تیمار (اثر اسید)

δ_j = B اثر عامل فرعی(زمان)

δ_{jk}= AB اثر متقابل تیمار با زمان

ε_{ij} =(a) اثر خطای

ε_{ijk} =(b) اثر خطای

A : اثر مواد نگهدارنده شامل: اسید پروپیونیک، اسید استیک، مخلوط دو اسید مزبور B : اثر زمان شامل: صفر، ۴۵ و ۹۰ روزگی

نتایج و بحث

اطلاعات این بررسی نشان داد که رطوبت یونجه درو شده در این مزرعه (در مرداد ماه) پس از ۲۴ ساعت به حدود ۳۰ و پس از ۴۸ ساعت به حدود ۲۰ درصدرسید.

صفات زراعی : نتایج صفات زراعی و ترکیبات شیمیایی یونجه مورد بررسی در جدول شماره یک ارائه شده است. میانگین نسبت برگ به ساقه، درصد گل دهی و میانگین ارتفاع بوته (سانتیمتر) به ترتیب ۰/۵۸، ۳۶ و ۹۱به دست آمد.

همچنین میانگین پروتئین خام و الیاف خام نیز در زمان برداشت به ترتیب ۱۵/۵۲ و ۲۹/۲۶ درصد بود. بر اساس پژوهش انجام شده در منطقه قهاوند همدان، ویژگی های بوته یونجه در چین دوم شامل: ارتفاع بوته، درصد گل دهی، نسبت برگ به ساقه، پروتئین،الیاف و فیبر خام به ترتیب، ۸۹/۶۴ سانتی متر، ۴۰درصد، ۰/۵۷ و ۱۵/۸۳ و ۲۹/۹۱ درصد گزارش شده است (۸). همچنین در پژوهش دیگری میانگین درصد الیاف خام یونجه چین دوم همدان ۲۹ درصد گزارش شده (۵) که با نتایج که با نتایج تحقیق مطابقت دارد.

جدول ۱: صفات زراعی و ترکیبات شیمیایی یونجه در زمان برداشت

بلوک	درصد گل دهی	ارتفاع گیاه (سانتیمتر)	نسبت برگ به ساقه	پروتیئن خام (٪)	الیاف خام (٪)
۱	۳۳±۱/۵	۸۶±۱۰/۵	۰/۶۱±۰/۰۴	۱۵/۶۶±۰/۴	۲۹/۰±۲/۰
۲	۳۹±۳/۶	۹۴±۱۶/۶	۰/۵۸±۰/۰۳	۱۵/۵۳±۰/۳	۲۹/۷±۳/۲
۳	۳۳±۲/۸	۹۲±۲۴/۲	۰/۵۶±۰/۰۱	۱۵/۳۹±۰/۱	۲۹/۱±۰/۷
میانگین	۳۶±۲/۶	۹۰/۷±۱۷	۰/۵۸±۰/۰۳	۱۵/۵۳±۰/۳	۲۹/۳±۲/۰

وضعیت کپک زدگی در تیمارهای آزمایشی :

اطلاعات مربوط به قارچ شناسی تیمارهای مختلف در جدول ۲ ارائه شده است. بسته بندی یونجه با رطوبت ۳۰ درصد در تیمارهای شاهد و تیمار حاوی اسید پروپیونیک حاکی از رشد قارچ های موکور، پنیسیلیوم و آسپرژیلوس بر روی علوفه یونجه شده است. در تیماری که از اسید استیک به عنوان محافظت کننده استفاده شد نیز دو دسته از قارچ ها یعنی موکورها و آسپرژیلوس ها رشد نمودند اما تیماری که در آن از مخلوط دو اسید پروپیونیک و استیک استفاده شد عاری از قارچ های مزبور بود.

قدرت اسیدی یک اسید به توان تولید یون هیدروژن (H^+) و تفکیک بیشتر آن بستگی دارد، بنابراین برای تفکیک یک اسید به یون های آن باید حلالی وجود داشته باشد که قدرت اسیدی آن کمتر از خود اسید مربوط بوده و بتواند به عنوان یک باز، پروتون از اسید دریافت کند (۲۱).

میزان اسید استیک خالص به عنوان ماده نگهدارنده سه برابر اسیدپروپیونیک توصیه شده است (۲۱، ۲۵). اما کاربرد هر یک از این دو اسید به تنهایی با نسبت توصیه شده، در یونجه بسته بندی شده با رطوبت ۳۰ درصد بر جلوگیری از رشد قارچ و کپک زدگی تاثیرکافی را نداشت، در صورتی که مصرف مخلوط دو اسید، مانع از رشد قارچ ها و کپک ها شد. فعالیت ضد قارچی این ترکیبات رابطه مستقیمی با درجه pH محیط دارد، بدین صورت که در pH پایین تر، اثر بازدارندگی بیشتری بر روی ارگانیزم ها نشان می دهند (۱۵). فعالیت اسیدهای آلی مربوط به مولکول تفکیک شده آن است. اثرات ضد باکتریایی و ضد قارچی اسیدهای آلی مانند اسید استیک و اسید پروپیونیک وابسته به دو عامل یعنی کاهش pH به زیر دامنه رشد میکروارگانیزم ها و از طرف دیگر ممانعت از فعالیت متابولیکی آنها به وسیله مولکول های اسید تفکیک شده می باشد (۱۵).

از آنجایی که رشد قارچها در pH کمتر از ۵/۵ امکان پذیر نمی باشد، به نظر می رسد به علت بالا بودن دمای محیط و پایین بودن رطوبت هوا در زمان اسید پاشی، فراربودن یا تبخیر اسید در تیمارهایی که در آنها اسیدهای آلی به تنهایی به کار رفته است نسبت به مخلوط دو اسید بیشتر بوده است.

لذا تیمار مخلوط دو اسید توانسته با ایجاد pH مناسب در یونجه بسته بندی شده با رطوبت ۳۰ درصد، امکان رشد قارچ ها را محدود کند. این یافته ها با گزارش خلیلیان و همکاران (۱۸) همخوانی ندارد که دلیل آن را می توان به روش کار مربوط دانست چرا که پژوهشگران مورد اشاره اسید پروپیونیک را در داخل کیسه های حاوی یونجه با ۳۰ درصد ر طوبت تزریق نموده و نتیجه گرفتند که یونجه ذخیره شده سالم باقی ماند.

گزارش دیگری حاکی از این است که استفاده از مخلوط استیک و پروپیونیک به منظور جلوگیری از کپک زدگی در رطوبت بالای ۲۰ درصد نتیجه مطلوبی در پی داشته است (۱۷)، که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد.

نتیجه پژوهش دیگری نشان دادکه اضافه نمودن اسید پروپیونیک به میزان ۰/۵ درصد ماده خشک یونجه با رطوبت ۲۰ تا ۲۵ درصد باعث جلوگیری از کپک زدگی می گردد (۱۶).

اضافه کردن همین مقدار از اسید پروپیونیک و هم چنین مخلوطی از اسید پروپیونیک و اسید استیک بر روی یونجه ای با رطوبت ۲۰ تا ۲۴ درصد نیزنتایج مشابهی را در بر داشته است (۱۷).

جدول ۲: نتایج بررسی رشد قارچ ها در تیمارهای آزمایش (۴۵ روز پس از انبار نمودن)

تیمار	نوع قارچ		
	Mucor spp.	*Penicilllum spp.*	*Aspergillus*
شاهد	+	+	+

ادامه جدول ۲

تیمار	نوع قارچ		
	Mucor spp.	*Penicilllum spp.*	*Aspergillus*
اسید پروپیونیک	+	+	+
اسید استیک	+	-	+
استیک+اسیدپروپیونیک	-	-	-

ترکیب شیمیایی: نتایج مربوط به محتوی پروتئین خام در تیمارهای آزمایشی ۱ تا ۴ در مرحله بسته بندی اولیه و بلافاصله پس از انتقال به انبار به ترتیب ۱۳/۳۷، ۱۴/۳۷، ۱۳/۸۱ و ۱۳/۶۶ درصد و محتوی الیاف خام به ترتیب ۳۲/۶۷، ۳۰/۷۸، ۳۱/۷۶ و ۳۳/۷۶ درصد (جدول۴) به دست آمد که از نظر آماری اختلاف معنی داری بین آنها مشاهده نشد.

به منظور بررسی تاثیر اسیدهای مذکور بر حفظ پروتئین یونجه مورد آزمایش، پس از انتقال بسته ها به انبار، اندازه گیری پروتئین خام در زمان های ۴۵ و ۹۰ روزگی برنامه ریزی شد اما به دلیل مشاهده علائم کپک زدگی، این کار فقط بر روی نمونه های تیمار مخلوط دو اسید انجام و سایر تیمار ها حذف شدند.

جدول ۳ : مقایسه محتوی پروتئین خام در تیمار های آزمایشی طی زمان های مختلف

تیمار	روز ها			SEM	P-Value
	روز اول	پس از ۴۵ روز	پس از ۹۰ روز	-	-
شاهد	۱۳/۳۷	حذف شد *	حذف شد	-	-
اسید پروپیونیک	۱۴/۳۷	حذف شد	حذف شد	-	-
اسید استیک	۱۳/۸۱	حذف شد	حذف شد	-	-
اسیدپروپیونیک + استیک	۱۳/۶۶	۱۳/۱۴	۱۳/۱۲	۰/۶۳	۰/۳۸

SEM : خطای معیار از میانگین ؛ * به دلیل قارچ زدگی حذف گردید.

میزان پروتئین خام در زمان ۴۵ و ۹۰ روزگی در تیمار مزبور به ترتیب ۱۳/۱۴و ۱۳/۱۲ و میزان الیاف خام در زمان های مذکور به ترتیب ۳۴/۶۲ و ۳۵/۲۱ درصد بود، که از نظر آماری تفاوت معنی دار ی بین زمان ها مشاهده نشد. بنابراین مخلوط دو اسید مذکور توانسته است تا حدود زیادی ارزش تغذیه ای یونجه را حفظ نماید. در خصوص استفاده از اسیدهای آلی (مخلوطی از اسید استیک و اسید پروپیونیک) درعلوفه بسته بندی شده با رطوبت بالا، چنین گزارش شده است که کاربرد مخلوط دو اسید مذکور اثرمطلوبی برحفظ ارزش غذایی یونجه دارد (۱۷) که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد.

جدول ٤ : مقایسه محتوی الیاف خام در تیمار های آزمایشی طی زمان های مختلف

تیمار	روز ها			SEM	P-Value
	روز اول	پس از ۴۵ روز	پس از ۹۰ روز	–	–
شاهد	۳۲/۶۷	حذف شد *	حذف شد	–	–
اسید پروپیونیک	۳۰/۷۸	حذف شد	حذف شد	–	–
اسید استیک	۳۱/۷۶	حذف شد	حذف شد	–	–
اسیدپروپیونیک + استیک	۳۳/۷۶۶	۳۴/۶۲	۳۵/۳۲	۲/۷۴	۰/۳۲

SEM : خطای معیار از میانگین ؛ * به دلیل قارچ زدگی حذف گردید .

ضرایب هضمی:

با توجه به این که تیمار های ۱، ۲ و ۳ در روز ۴۵ نمونه برداری به کپک زدگی آلوده شده بودند، بنا بر این از ادامه آزمایش حذف شدند، اما تیمار چهارم که برای حفظ آن از مخلوط دو اسید استفاده شده بود سالم باقی مانده بود. بنا بر این قابلیت هضم بر روی نمونه های این تیمار انجام گرفت.

جدول ٥ : قابلیت هضم (درصد) در زمان های ۱ و ٤٥ روز پس از انبار نمودن

متغیر ها	روز ها		SEM	P-Value
	روز اول	پس از ۴۵ روز		
قابلت هضم ماده خشک	۶۵/۷۲	۶۲/۲۱	۳/۱۷	۰/۵۴
قابلت هضم ماده آلی	۶۲/۰۸	۶۰/۰۱	۳/۰۴	۰/۲۶
ارزش هضمی*	۵۴/۶۴	۵۳/۵۸	۱/۸۷	۰/۳۷

SEM: خطای معیار از میانگین ، * از حاصل ضرب قابلیت هضم ماده آلی در نسبت درصد ماده آلی برآورد گردید.

همان طوری که در جدول ۵ ملاحظه می شود قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در روز اول به ترتیب ۶۵/۷۲ و ۶۲/۰۸ درصد و در روز ۴۵ به ترتیب ۶۵/۲۱ و۶۰/۰۱ درصد به دست آمد که نشان داد طی انبار کردن، تغییر معنی داری در ارزش هضمی آن ایجاد نشد. قابلیت هضم بسته های یونجه انبار شده پس از گذشت سی روز ۶۵/۶ درصد گزارش شده است (۲۷). در یک گزارش نیز، قابلیت هضم یونجه بسته بندی شده، در زمان صفر وپس از ۳۰ و ۶۰ روز انبار نمودن به ترتیب ۶۵/۸ ، ۶۴/۴ و۶۴ ذکر شد. اثر زمان انبارکردن یونجه تفاوت معنی داری بر قابلیت هضم آن نداشت (۱۱) که این یافته ها با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. به طور کلی در تیماری که از کپک زدگی حفظ شد از نظر قابلیت هضم آزمایشگاهی در هیچ کدام از زمان های نمونه برداری تفاوت معنی داری مشاهده نشد (جدول ۵).

نتیجه گیری:

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش می توان نتیجه گرفت که پاشیدن مخلوط دو اسید (اسید پروپیونیک و اسید استیک با نسبت ۰/۸ به ۰/۶ مخلوط شده با نسبت مساوی با آب) بر روی یونجه آماده بسته بندی با رطوبت ۳۰ درصد، می تواند علوفه بسته بندی شده را طی ۹۰ روز نگهداری در انبار از کپک زدگی حفظ نماید. اما با اطلاعات به دست آمده نمی توان توصیه کاربردی ارائه نمود و در این زمینه نیاز به پژوهش های بیشتری می باشد.

منابع استفاده شده:

۱- اکبر زاده، م.، ۱۳۷۵. بررسی اثر محدود یت چرا در مراتع مناطق مختلف اکولوژیکی. گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی. موسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع کشور.

۲- اسدیان، ج.، ۱۳۷۳. روش های اندازه گیری توده زیست در اکوسیستم مرتع. دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

۳- سازمان جهاد کشاورزی استان همدان.، ۱۳۷۹. آمار نامه کشاورزی استان همدان.

۴- شفیعی ورزنه، ح.، ۱۳۸۲. تغییرات ارزش غذایی یونجه (منطقه فامنین همدان) از مرحله برداشت تا مصرف در تغذیه دام. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه ابوعلی سینا، همدان.

۵- طباطبایی، م. م.، معیر، الف.ح.، و شفیعی ورزنه، ح.، ۱۳۷۵. ارزش غذایی یونجه در مراحل مختلف رشد. گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی. مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان.

۶- ضمیری، م. ج، ۱۳۸۶. پرورش گاو شیری. انتشارات دانشگاه شیراز.

۷- کریمی، ه.، ۱۳۷۰. زراعت و اصلاح گیاهان علوفه ای. انتشارات دانشگاه تهران.

۸- معیر، ا.ح.، ۱۳۸۲. تغییرات ارزش غذایی یونجه (منطقه قهاوند همدان) از مرحله برداشت تا مصرف در تغذیه دام. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه ابوعلی سینا، همدان.

۹- موسوی، م. ع.، ۱۳۷۵. روش های نمونه برداری از خوراک های دام. نشریه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه.

10-AOAC. 1975. Official Methods of Analysis, 12th Ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington DC

11-Buckmaster, D. R. and A. J. Heinrichs. 1993. Losses of nutrients during harvest and storage of preservative-treated Alfalfa hay at varying content. Transaction of the American Society of Agricultural Engendering. 36(2):349-353.

12-Collins, M., W.H. Paulson, M.F. Finner, N. A. Jorgensen and C.R. Keuler.1987. Moisture and storage effects on dry matter and quality losses of Alfalfa in round bales. Transaction of the American Society of Agricultural Engendering. 30 (4): 913-917.

13-Domsch, K.H., W. Gams and T.H. Anderson. 2007. Compendium of soil fungi. IHW-Vertag, Eching, Germany, 2nd ed. 1027 pp.

14-Harding, F. 1995. *Milk Quality*. Aspen Publishers Inc. London.

15-Jay, J.M., Loessner, M.J. and Golden, A.G. 2005. Modern Food Microbiology (7th ed.). Springer. Berkeley, USA.

16-Gaebe R., G. Lardy, and K. l. Hoope. 2000. Minimizing hay losses and waste. North Dakota State University, Retrieved March, 2000. Available in:
http://www.ext.nodak.edu/extpubs/ansci/range/as1190w.htm

17-Jimmy, C. H. and N. W. Howell. 1993. Making and storing quality hay. Department of Agronomy, University of Missouri,Columbia.Agricultural Publication G.O. 4575. Retrieved October, 2000.Availablein:
http://muextension.missouri.edu/xplor/agguides/crops/g04575.htm.

18-Khalilian, A. M., A. Worrell, and D. L. Cross. 1990. Advice to inject propionic acid into baled forages. American Society of Agricultural Engineers. 33(1): 36-40.

19-MacDogall E.I. 1948. The composition and output of sheep in saliva. Journal of Biochemistry. 43:99-109.

20-MacDonald, P., Edwards, R.A., Greenhalgh, G.F.D., Morgan, C.A., Sinclair, L.A. and Wilkinson, R.G. 2002. Animal Nutrition (6th ed.). Prentice Hall. Harlow, UK. 543pp.

21-Morrison, R. and Boyd, R.N. 1992. Organic Chemistry, (6th Ed). Prentice Hall International (UK) limited, London.

22-Pitt, J.I. 1998. A laboratory guide to common *Penicillium* species.2nd ed. North Ryde, N. S.W. CSIRO Division of Food Processing. 185.

23-Rankin, M. 2000. Preserving baled hay with organic acid. Forage Resources, University of Wisconsin, Extension 2(5): p.2.

24-Raper, K.B. 1991. The genus *Aspergillus*. William Wilkins Co. Plenum Press, New York, pp. 293-357.

25-Rotz, C. A. and S. M. Abrams. 1988. Losses and quality changes during Alfalfa hay harvest and storage .Presented as ASAE paper No. 87: p.1077.

26-Rotz, C. A., R. J. Davis, D. R. Buckmaster and M.S. Allen.1991. Preservation of Alfalfa hay with propionic acid. Applied Engineering in Agriculture 7(1):33-40.

27-Rotz, C. A. 2004. Harvesting and storage systems for hay and haylage. American Forage and Grassland Conference Proceeding, 13. CDROM.

28-SAS. 1996. Statistical Analysis Systems, Version 6.11. Cary, NC: SAS Institute Inc

29-Shanahan, J. F. and D. H. Smith. 2001. Hay preservation systems. Colorado State University Cooperative.

30-Tilley, J. M. A. and R. A. Terry. 1963. Two stage method for the *in vitro* digestion of forage crops, Journal of the British Grassland Society. 18:104-110.

31-Walton, P.D., 1982. Production and management of cultivated forages, Reston Pub.Co